



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

CÂMPUS DE BOTUCATU - INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**MARIANE CRISTINA DE SOUZA MELO**

**DETECÇÃO DA PROCEDÊNCIA DE PLANTAS PSICOATIVAS PELOS ISÓTOPOS  
ESTÁVEIS DO NITROGÊNIO ( $^{15}\text{N}$ ) E OXIGÊNIO ( $^{18}\text{O}$ )**

**Orientadora: Dra. Maria Márcia Pereira Sartori**

**Supervisor: Prof. Dr. Carlos Ducatti**

**Botucatu**

**2013**

**MARIANE CRISTINA DE SOUZA MELO**

**DETECÇÃO DA PROCEDÊNCIA DE PLANTAS PSICOATIVAS PELOS ISÓTOPOS  
ESTÁVEIS DO NITROGÊNIO ( $^{15}\text{N}$ ) E OXIGÊNIO ( $^{18}\text{O}$ )**

Monografia apresentada ao Instituto de  
Biociências da Universidade Estadual  
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,  
Câmpus de Botucatu, para obtenção do  
título de Bacharel em Física Médica.

**Orientadora: Dra. Maria Márcia Pereira Sartori**

**Supervisor: Prof. Dr. Carlos Ducatti**

**Botucatu**

**2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Melo, Mariane Cristina de Souza.

Detecção da procedência de plantas psicoativas pelos isótopos estáveis do nitrogênio ( $^{15}\text{N}$ ) e oxigênio ( $^{18}\text{O}$ ) / Mariane Cristina de Souza Melo. - Botucatu, 2013

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Física Médica) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Maria Márcia Pereira Sartori

Coorientador: Carlos Ducatti

Capes: 10505067

1. Plantas alucinógenas - Identificação. 2. Nitrogênio - Isótopos. 3. Oxigênio - Isótopos. 4. Ensaio de procedência.

Palavras-chave: Isótopos estáveis; Nitrogênio-15; Oxigênio- 18; Rastreabilidade.

*Dedico este trabalho a minha família.*

*Meus pais Marco e Cleonice e meu irmão André  
que estiveram presentes em todos os momentos  
de minha vida, e sem os quais nada disso seria  
possível.*

*Pelo amor, ensino e apoio dispensados.*

*“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse  
feito. Não somos o que deveríamos ser, não somos o que iremos ser, mas Graças a Deus,  
não somos o que éramos.”*

*Marthin Luther King*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força que me deu para não desanimar e persistir até o fim, amparando-me em todos os momentos.

A todos os meus familiares, em especial minha avó Cleuza, pelos sábios conselhos e por sempre ter uma palavra de ânimo em fases conturbadas de minha vida.

À equipe do Centro de Isótopos Estáveis (CIE), que gentilmente esteve disposta a auxiliar-me no andamento dessa pesquisa, em particular Evandro Tadeu da Silva e Cibele Regina de Souza.

Aos meus colegas Renata Buschini e Lucas Moreira pela ajuda na execução desse trabalho.

Um agradecimento especial também, a minha orientadora Profa. Dra. Maria Márcia Pereira Sartori que amavelmente abriu-me as portas para esse projeto, transmitindo-me conselhos e conhecimento, os quais contribuíram com minha formação profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa, pela indicação ao departamento, sem a qual eu não teria ciência da possibilidade de execução desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti, pela bagagem de experiência compartilhada e ideias sugeridas, as quais enriqueceram o estudo desenvolvido.

À Dise de Botucatu, por ceder as amostras para a execução desse estudo.

Aos meus amigos pela amizade e momentos de descontração dispensados, os quais foram essenciais durante esse processo, em especial, Isabela Soares, Lucas Angelocci, Carlos Basseto Jr., Carlos Biagi Jr., Luiza Leite, Rodrigo Abreu e Guilherme Matsuno.

Ao projeto de extensão Médicos da Alegria, pela oportunidade única de poder aprender de maneira peculiar o sentido de apoio e solidariedade ao próximo, dando-me forças para continuar essa jornada e fazendo-me enxergar a vida sob um novo prisma.

À equipe Gempree, que amavelmente tem me apoiado e incentivado a extrapolar meus limites cada vez mais.

À Nucleon Jr., por ter permitido tornar realidade um sonho outrora muito distante para nós, alunos do curso de Física Médica, que era criar algo o qual possibilitasse aos discentes o contato com as práticas da profissão ainda na graduação, tornando-os melhor preparados para ingressarem no mercado de trabalho e motivados a dar continuidade a esse curso tão promissor.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	VI
LISTA DE TABELAS .....	VII
ABSTRACT .....	9
1. INTRODUÇÃO .....	10
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1 ISÓTOPOS ESTÁVEIS E ANÁLISE ISOTÓPICA .....	12
2.2 ESPECTRÔMETRO DE MASSA .....	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	18
3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	18
3.2 ANÁLISE DOS DADOS .....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1 ANÁLISE DOS DADOS DA <i>Ipomoea violacea</i> .....	21
4.2 ANÁLISE DOS DADOS DA MACONHA ( <i>Cannabis sativa L.</i> ) .....	24
5. CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
ANEXO 1 – Aval do Juiz do Fórum de Botucatu para coleta das amostras de maconha. ....	30

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama esquemático dos principais componentes do espectrômetro de massa... 14
- Figura 2.** Condições de focalizações para a separação das massas dos feixes de íons dos isótopos pesados (traços) e leves (pontos). Campos elétricos são designados pelas placas dos metais carregados (linhas com cargas positivas, negativas e paralelas à página). Campos magnéticos designados pela letra x são orientados perpendicularmente à página (penetrando) ..... 16
- Figura 3.** Diagrama básico de um espectrômetro de massas de isótopos estáveis de fluxo contínuo (CF-IRMS). Analisador elementar constituído por (a) amostrador, (b) coluna de combustão, (c) coluna de redução, (d) *trap* (remoção H<sub>2</sub>O); GC (coluna cromatográfica) onde ocorre a separação de N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>; espectrômetro de massas sendo (e) fonte de ionização, (f) *flight tube*, (g) setor magnético e (h) detectores - coletores de Faraday..... 17
- Figura 4.** Moinho criogênico Spex 6700-230 freezer/mill – Spex Industries, Edison, Estados Unidos..... 19
- Figura 5.** Balança de alta precisão Excellence Plus Balance XP6 – Metler Toledo International Inc..... 19
- Figura 6.** Espectrômetro de massa de razões isotópica Delta S – Finnigan MAT, Bremen, Alemanha do CIE..... 20
- Figura 7.** Espectrômetro de massa de razões isotópica Thermo Finnigan TC/EA-IRMS, Bremen, Alemanha do CIE..... 20
- Figura 8.** Análise de componentes principais das amostras de *Ipomoea violacea*. As partes da planta e regiões encontram-se identificadas pelas siglas FLBT (flor de Botucatu), FLMS (flor do Mato Grosso do Sul), FOBT (folha de Botucatu), FOMS (folha do Mato Grosso do Sul), SMBT (semente de Botucatu) e SMMS (semente do Mato Grosso do Sul). ..... 22
- Figura 9.** Representação no plano cartesiano dos grupos da planta *Ipomoea violacea* analisados..... 23

- Figura 10.** Análise de componentes principais das amostras de maconha. Cada amostra é identificada pela legenda AM..... 25
- Figura 11.** Representação no plano cartesiano dos diferentes grupos de maconha analisados. Cada amostra é identificada pela legenda AM..... 26

### LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Indicação da proporção das componentes principais através da análise dos isótopos de oxigênio e nitrogênio presentes na *Ipomoea violacea*. ..... 22
- Tabela 2.** Dados isotópicos de  $^{18}\text{O}$  e  $^{15}\text{N}$  referentes às regiões de Três Lagoas e Botucatu.... 24
- Tabela 3.** Indicação da proporção das componentes principais através da análise dos isótopos de oxigênio e nitrogênio presentes nas amostras de maconha. .... 25
- Tabela 4.** Dados isotópicos de  $^{18}\text{O}$  e  $^{15}\text{N}$  referentes às amostras de maconha coletadas. .... 27



## RESUMO

Esse trabalho analisa a procedência de plantas consideradas alucinógenas e/ou psicoativas, tais como *Cannabis sativa L.* e *Ipomoea violacea*, utilizando a razão isotópica do isótopo estável de oxigênio ( $^{18}\text{O}$ ) e de nitrogênio ( $^{15}\text{N}$ ), dando continuidade a projetos já desenvolvidos pelo grupo de pesquisadores do Centro de Isótopos Estáveis (CIE), os quais avaliaram os isótopos de carbono-13. Esta pesquisa auxilia na criação de um banco de dados, com o qual se pretende avaliar a procedência de cada planta.

Através da técnica de IRMS (Isotope-Ratio Mass Spectrometry), demonstrou-se que algumas das 24 amostras de maconha (*Cannabis sativa L.*) avaliadas apresentaram semelhança com aquelas cultivadas nas regiões de Fairbanks e Tanacross no Alaska, EUA. Por sua vez, as 50 amostras de *Ipomoea violacea*, oriundas de Botucatu (SP) e Três Lagoas (MS), obtiveram suas diferenças detectadas, de maneira a identificar com clareza as discrepâncias entre suas regiões de cultivo.

Assim, foi possível não só detectar diferenças geográficas entre as amostras de maconha, como também avaliar a variação isotópica da folha, flor e semente da *Ipomoea violacea*. Com esse banco de dados, foi possível determinar a origem da droga e/ou a detecção do local em que foi realizado o cultivo, auxiliando na busca dos órgãos de controle do tráfico, como a Polícia Federal no Brasil.

**Palavras chave:** rastreabilidade, isótopos estáveis, oxigênio- 18, nitrogênio-15.

## ABSTRACT

This research examines the merits of hallucinogenic plants considered and/or psychoactive substances, such as *Cannabis sativa* and *Ipomoea violacea*, using the isotope rates of stable isotope of oxygen ( $^{18}\text{O}$ ) and nitrogen ( $^{15}\text{N}$ ), continuing projects already developed by the research group at the Center for Stable Isotope (CIE), which evaluated the isotopes carbon-13. This paper helps in creating a database that we intent to use in evaluation of each plant merit.

Through the IRMS (Isotope-Ratio Mass Spectrometry) technique, it has shown that some of the 24 samples of marijuana (*Cannabis sativa* L.) evaluated were similar to those grown in the regions of Fairbanks and Tanacross Alaska, USA. In turn, the 50 samples of *Ipomoea violacea*, coming from Botucatu (SP) and Três Lagoas (MS), got their differences detected, in order to clearly identify the discrepancies between their growing regions.

Thus, it was possible not only to track the geographical differences between marijuana samples collected from different regions, but also evaluate the isotopic variation of leaf, flower and seed of *Ipomoea violacea*. With this database, it was possible to determine the origin region of the drug and/or detect where the cultivation was carried out, aiding in the search of the traffic control agencies, such as the Federal Police in Brazil.

**Key Words:** tracking, stable isotopes, oxygen-18, nitrogen-15.

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o tráfico de drogas ilícitas afeta a maior parte dos países, ainda que haja diferenças na extensão territorial e nas características econômicas, sociais e culturais. A globalização aumenta as rotas comerciais legais, tornando assim, todos os países vulneráveis a essas atividades criminais. Por esse motivo, o Brasil se tornou uma importante passagem para o tráfico de cocaína e maconha (*Cannabis sativa L.*) produzidas na Colômbia, Bolívia e Paraguai em direção aos EUA e países europeus. Apesar da relevância do consumo de cocaína, a maconha é a droga mais popular no país, isso indica que o comércio dessa droga representa um sério problema à sociedade. (SHIBUYA, E.K.,2005)

Além desse fato, inúmeras plantas com características psicoativas podem ser facilmente encontradas na natureza por serem, geralmente, de fácil identificação e possuem uma distribuição geográfica muito bem definida, pode-se citar como exemplo as plantas alucinógenas *Phalaris ssp.*, *Salvia divinorum*, *Lophophora williamsii* e *Ipomoea ssp.* Esses vegetais não partilham do mesmo princípio ativo e as substâncias neurotóxicas presentes em cada uma diferem entre si. Na planta *Ipomoea violacea*, encontra-se amido de ácido lisérgico (LSA), que é semelhante ao alucinógeno sintético LSD, sendo considerado psicoativo apenas com quantidades acima de dois miligramas (da ordem de microgramas para o LSD). (HAPERIN et al., 2004)

Sabe-se que no Brasil, segundo a Resolução RDC nº 39 de Julho de 2012 da ANVISA, a ergina (ou LSA) passou a ser considerada uma substância psicotrópica sob controle especial, tornando a *Ipomoea violacea* uma planta ilegal, o que contrasta da legislação em outros países, onde o tráfico desse alucinógeno não sofre proibições. (ANCUCEANU et al., 2010).

Desse modo, para a contenção de tal atividade ilícita, é feita a localização das práticas de cultivo e rotas de distribuição de tais plantas com o intuito de contribuir com a inteligência forense. Assim, isótopos estáveis e abordagens das composições química e genética são aplicados na identificação das regiões geográficas de plantio, diferentes linhagens genéticas e métodos de cultivo. Como as razões isotópicas revelam aspectos do ambiente de crescimento do vegetal, elas apresentam um potencial único para promover informação crítica de sua origem geográfica.

De acordo com estudos realizados anteriormente, fatores como o clima e a disponibilidade de água têm impacto sobre o fracionamento de isótopos dos elementos carbono e nitrogênio nas plantas de maconha. A partir de amostras dos três locais brasileiros: Pernambuco e Bahia (Nordeste do país conhecida como Polígono da Maconha), Pará (região

Norte ) e Mato Grosso do Sul (Centro-Oeste) pôde-se diferenciar as amostras das regiões secas (Polígono da Maconha) daquelas de Mato Grosso do Sul e Pará, que apresentam chuvas mais pesadas, demonstrando a potencialidade da técnica IRMS (Isotope-Ratio Mass Spectrometry) como uma ferramenta importante no rastreamento da origem de amostras de maconha apreendidas em diferentes regiões brasileiras. Devido à proximidade geográfica, observou-se uma grande sobreposição entre as amostras de Pernambuco e Bahia. A sobreposição de algumas amostras do Pará e Mato Grosso do Sul pode estar relacionada com a semelhança climática destas regiões. O resultado demonstrou que as amostras apreendidas apresentam a possibilidade de serem usadas para identificar assinaturas isotópicas de maconha das principais regiões produtoras no Brasil. (SHIBUYA, et al.,2006)

Existem dados na literatura com base nas razões isotópicas dos isótopos estáveis C, N, H e O na maconha confiscada no Alaska, EUA, cujo objetivo é identificar a região geográfica de onde a planta se originou. Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  para essa planta nesse território sugerem que há condições internas que facilitam o crescimento das amostras de origem conhecida e desconhecida, e a proximidade dos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  e  $\delta\text{D}$  sugerem que existe um lugar o qual conecta a produção e o consumo da maconha nessa região. (BOOTH, et al., 2010)

Dessa forma, esse trabalho visa a analisar a procedência de plantas consideradas alucinógenas e/ou psicoativas, tais como maconha e *Ipomoea violacea*, dando continuidade a projetos já desenvolvidos pelo grupo de pesquisadores do Centro de Isótopos Estáveis (CIE), os quais avaliaram os isótopos de carbono-13 e nitrogênio-15. Utilizando a razão isotópica do isótopo estável de oxigênio ( $^{18}\text{O}$ ) determinado por IRMS, pretende-se criar um banco de dados, o qual possibilitará avaliar a procedência de cada planta. E dessa forma, evidencia-se o caráter extrauniversidade desse estudo, visto que auxiliará a investigação de drogas ilícitas pela Polícia Federal e a determinação da sentença a ser aplicada.

O capítulo 2 apresenta os aspectos e conceitos básicos de isótopos estáveis, como também sua aplicação na análise isotópica de plantas e o mecanismo de funcionamento do equipamento de espectrometria. O capítulo 3 aborda a metodologia empregada no preparo das amostras a serem analisadas. O capítulo 4 demonstra os resultados obtidos e suas possíveis correlações com dados da literatura. O capítulo 5 indica as conclusões extraídas desse trabalho mediante as discussões realizadas no capítulo anterior.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 ISÓTOPOS ESTÁVEIS E ANÁLISE ISOTÓPICA

Isótopos são átomos que contêm o mesmo número de prótons e diferentes números de nêutrons. Muitos elementos químicos representam uma mistura de isótopos estáveis que não se desintegram radioativamente.

Os isótopos estáveis de um elemento diferem ligeiramente entre si em suas características físicas, químicas e bioquímicas por possuírem diferentes massas. A relação entre os isótopos em um determinado composto pode ser alterada por efeitos cinéticos e termodinâmicos, os quais promovem o fracionamento isotópico, produzindo compostos com distintas relações entre os isótopos dos elementos que o compõe.

A técnica utilizada estuda as composições isotópicas de elementos naturais abundantes na natureza ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ;  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ;  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ;  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ). Os isótopos mais leves são geralmente mais abundantes, enquanto que os mais pesados são encontrados em uma quantidade muito menor. Como as variações na composição isotópica de substâncias naturais são muito pequenas, elas são expressas em partes por mil (‰) e são representadas pelo símbolo  $\delta$ .

A análise isotópica é dada pela seguinte relação expressa na Equação 1:

$$\delta X(\text{amostra, padrão}) = \left[ \frac{R_{\text{amostra}}}{R_{\text{padrão}}} - 1 \right] \quad , \text{ em que} \quad (1)$$

$\delta X$  = enriquecimento do isótopo pesado do elemento químico X ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ , entre outros isótopos) da amostra, em relação ao respectivo padrão internacional;

R = razão entre o isótopo pesado e o leve. Exemplo:  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ .  
(SHIBUYA, E.K., 2005)

O valor e o sinal de  $\delta$  dependem de um padrão selecionado. Quando se trata de outras substâncias diferentes do padrão, o sinal negativo indica que a amostra estudada está empobrecida em isótopos em comparação à referência. Por sua vez, o sinal positivo indica o aumento na amostra de isótopos pesados de menor abundância em comparação à amostra padrão.

Normalmente, os valores dos deltas são correlacionados aos padrões isotópicos internacionais, os quais foram escolhidos arbitrariamente como padrões isotópicos primários ( $\delta\text{‰} = 0 \text{‰}$ ).

Para os isótopos estáveis do hidrogênio, o padrão internacional é o Vienna Standard Mean Ocean Water, abreviadamente V-SMOW. Para os isótopos estáveis do nitrogênio o

padrão aceito é o ar atmosférico, o qual é considerado uma mistura isotópica homogênea na superfície terrestre. Para os isótopos estáveis do carbono o padrão é o Cretaceous carbonate fossil Bellemnitella americana, da formação Peedee do Sul da Carolina/USA, abreviadamente V-PDB. Para os isótopos estáveis do enxofre, o padrão considerado é o mineral troilita do meteorito Cañon Diable, abreviadamente CDT. Os padrões isotópicos do oxigênio podem ser o V-PDB ou V-SMOW, dependendo da sua aplicação. (DUCATTI, C., 2012)

As plantas se diferem quanto ao seu ciclo fotossintético, o qual pode ser C<sub>3</sub> (Calvin), C<sub>4</sub> (Hatch- Slack) ou CAM (Crassulacean Acid Metabolism). A análise da composição isotópica de plantas com diferentes caminhos de fotossíntese permite sua diferenciação. Assim, plantas com mecanismo C<sub>4</sub> e CAM apresentam melhor adaptação a climas quentes, enquanto que plantas C<sub>3</sub> respondem de forma mais eficaz ao crescimento em climas amenos. O intervalo isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  para plantas C<sub>3</sub> é entre -22% e -30%, já para plantas C<sub>4</sub> é entre -10% e -18%, geralmente plantas com mecanismo C<sub>4</sub> e CAM são mais enriquecidas em  $^{13}\text{C}$  que aquelas com mecanismo C<sub>3</sub>. (MARCHESE, et al., 2006; BENSON, et al., 2006)

Pesquisadores empregaram a análise isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  na pesquisa da origem geográfica das amostras de maconha apreendidas pelo Departamento de Polícia do Estado de São Paulo nas ruas da cidade de São Paulo. Desse modo, concluiu-se que a maior parte das amostras analisadas apresentou a mesma origem que aquelas localizadas no Mato Grosso do Sul, provavelmente oriundas da rota Paraguai-MS. (SHIBUYA, et al. 2007)

A análise do  $\delta^{18}\text{O}$  de drogas ilícitas pode ajudar a determinar a região de origem de plantas narcóticas, como cocaína e heroína. A interpretação da variação na composição de isótopos de oxigênio no material orgânico tem várias aplicações que predizem a alteração de  $\delta^{18}\text{O}$  como resultado de uma alteração na fonte de água, no ambiente de evaporação da folha, e na troca isotópica entre a água das plantas e moléculas orgânicas. (BARBOUR, et al., 2007)

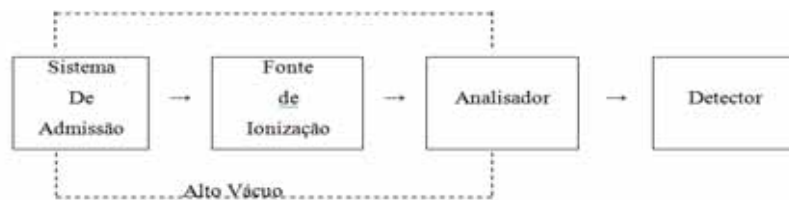
Inúmeras plantas com características psicoativas podem ser facilmente encontradas na natureza por serem, geralmente, de fácil identificação e possuírem uma distribuição geográfica muito bem definida, por exemplo, as plantas alucinógenas *Phalaris ssp.*, *Salvia divinorum*, *Lophophora williamsii* e *Ipomoea SSP.*, as quais não partilham do mesmo princípio ativo e as substâncias neurotóxicas presentes em cada uma são diferentes. Na planta *Ipomoea violacea*, encontra-se amido de ácido lisérgico (LSA), que é semelhante ao alucinógeno sintético LSD, sendo considerado psicoativo apenas com quantidades acima de dois miligramas (da ordem de microgramas para o LSD). (HAPER E ROTH, 2004)

A *Ipomoea violacea* é uma espécie de convolvulácea cujas folhas se unem em forma de sino. Essa planta possui em suas sementes alcaloides da família do LSD, como a ergina e a

isoergina, que se comportam como agonista serotoninérgico parcial. (CAROD-ARTAL, 2011)

## 2.2 ESPECTRÔMETRO DE MASSA

No espectrômetro de massas de baixa resolução, também conhecido como espectrômetro de massas de razões isotópicas, Isotope-Ratio Mass Spectrometry (IRMS) ou espectrômetro de massas de razões isotópicas com dupla entrada (DI-IRMS), a amostra é analisada contra o padrão. Os componentes básicos do instrumento são: sistema de admissão, fonte de ionização, analisador de massas, detector do feixe iônico e sistema computacional, conforme é ilustrado na Figura 1. Estes instrumentos utilizam ultra alto vácuo ( $< 10^{-8}$  mbar) e são equipados com bombas turbo- moleculares ou bombas difusoras.



**Figura 1.** Diagrama esquemático dos principais componentes do espectrômetro de massas (DUCATTI, C., 2012)

No sistema de admissão os isótopos dos elementos a serem analisados (C, H, O, N, S) são introduzidos na forma gasosa ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ). O preparo destes gases pode ser on-line ou off-line. Na fonte de ionização, as amostras gasosas são transformadas em íons através de uma fonte por impacto de elétrons. A ionização retira um elétron das moléculas produzindo, por exemplo:  $\text{H}_2^+$ ;  $\text{CO}_2^+$ ;  $\text{N}_2^+$ ;  $\text{SO}_2^+$ . A eficiência da ionização, normalmente é muito baixa ( $\approx 0,01\%$ ) e a maioria das moléculas que entram na fonte de íons é removida pelo alto vácuo. Tipicamente uma molécula em 10.000 é convertida em um íon positivo.

Na fonte de ionização a energia cinética atingida ocorre em virtude da diferença de potencial entre as placas e o resultado pode ser obtido através da Equação 2, em que  $q$  é a carga do íon,  $V$  a diferença de potencial,  $m$  a massa e  $v$  a velocidade da molécula. (HALLIDAY, 1986; DUCATTI, C., 2012)

$$qV = \frac{1}{2} (mv^2) \quad (2)$$

O movimento dos íons isotópicos é alterado pelo campo magnético  $B$  ou campo elétrico  $E$ , de acordo com a Lei de Lorentz apresentada na Equação 3.

$$|F| = qE + qv \times B \quad (3)$$

De acordo com a configuração, o instrumento pode apresentar focalização pela velocidade, pela energia e pelo momento.

Na focalização pela velocidade (Figura 2, parte a), o campo elétrico  $E$  e o campo magnético  $B$  podem ser ajustados de modo que não ocorra a deflexão do feixe do íon quando passa na região dos campos. Assim, a força resultante é zero e a Equação 3 pode ser escrita conforme a Equação 4, ou seja, somente íons com a velocidade dada por esta equação passam pelo sistema sem sofrer deflexão, caso contrário a focalização pela velocidade pode ser utilizada para a remoção de íons indesejáveis.

$$v = \frac{E}{B} \quad (4)$$

Quando a focalização é feita pela energia, o analisador apresenta configuração encurvada (Figura 2, parte b), na qual as placas elétricas carregadas separam os íons de acordo com sua energia. O movimento circular dos íons pode ser obtido com base na Equação 5, consequentemente o raio é proporcional a energia cinética clássica.

$$r = \frac{m v^2}{qE} \quad (5)$$

A maioria dos instrumentos emprega um simples analisador magnético  $B$  para separar os diversos feixes iônicos, correspondente aos diferentes feixes isotópicos. As partículas isotópicas ao se movimentarem através do campo magnético sofrem a ação da força magnética, a qual é responsável pela força centrípeta. Em virtude da ortogonalidade do campo magnético  $B$ , os íons executam trajetória de raio  $r$ , conforme Equação 6.

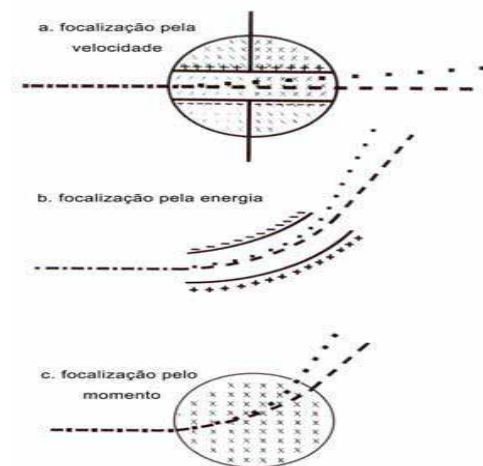
$$r = \frac{m v}{qB} \quad (6)$$

A condição de focalização pelo momento (Figura 2, parte c), em que partículas com mesma carga e mesmo momento movem-se com o mesmo raio de curvatura, enquanto os demais com diferentes valores definem trajetórias distintas, pode ser expressa através da Equação 2, a qual demonstra a diferença de potencial  $V$  aplicada e o campo magnético  $B$  para obter a relação  $\frac{\text{massa}}{\text{carga}}$ , através da Equação 7.

$$r = \sqrt{\frac{2Vm}{B^2 q}} \quad (7)$$

Dessa forma, o íon isotópico de maior massa apresenta maior raio de deflexão.





**Figura 2.** Condições de focalizações para a separação das massas dos feixes de íons dos isótopos pesados (traços) e leves (pontos). Campos elétricos são designados pelas placas dos metais carregados (linhas com cargas positivas, negativas e paralelas à página). Campos magnéticos designados pela letra x são orientados perpendicularmente à página (penetrando). (BERTI, V., 2009)

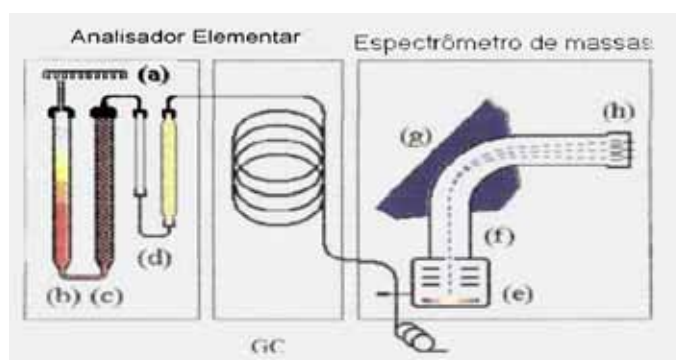
No sistema analisador, os íons oriundos da fonte de ionização são separados em um campo magnético de acordo com a relação massa/carga, ou seja, o feixe iônico principal é aberto em feixes dos íons isotópicos característicos, por exemplo, o feixe de  $N_2^+$  é aberto em  $^{14}N$   $^{14}N^+$  ( $m/q = 28/q$ );  $^{14}N$   $^{15}N^+$  ( $m/q = 29/q$ ) e  $^{15}N$   $^{15}N^+$  ( $m/q = 30/q$ ). Assim, como o feixe de  $CO_2^+$  é aberto em  $^{12}C$   $^{16}O$   $^{16}O^+$  ( $m/q = 44/q$ );  $^{13}C$   $^{16}O$   $^{16}O^+$  ( $m/q = 45/q$ ) e  $^{13}C$   $^{16}O$   $^{17}O^+$  ( $m/q = 46/q$ ), como um segundo exemplo.

No sistema de detecção os feixes iônicos característicos de cada feixe isotópico são coletados nos copos de Faraday, os quais podem ser duplos, triplos e múltiplos coletores. A neutralização destes íons resulta em correntes elétricas da ordem de  $10^{-9}$  a  $10^{-12}$  A, as quais são amplificadas e registradas. Estes amplificadores apresentam alto ganho com resistências da ordem de  $10^{10}$  a  $10^{11}$   $\Omega$  dependentes da temperatura. Para maior estabilidade, os equipamentos são mantidos em ambientes com controle de temperatura e umidade.

As duas principais metodologias de introdução de amostras no IRMS são o *dualiniet* (entrada dupla) e o *continous flow* ou CF (fluxo contínuo). No primeiro caso, as amostras são pesadas em tubos de quartzo selados, misturados a compostos que facilitem sua combustão/redução e aquecidos em mufla a uma temperatura conhecida. O gás de interesse deve ser purificado e coletado para então ser introduzido no IRMS.

Nos sistemas de fluxo contínuo (CF-IRMS) a amostra é queimada em um forno

constituído por um analisador elementar e seu gás arrastado por um fluxo contínuo de hélio (He) até o espectrômetro de massas. Estes sistemas permitem a análise de um grande número de amostras de matrizes diferentes, de forma rápida e com alta exatidão. Uma das principais vantagens deste método é a automação do procedimento de introdução de amostras, sendo que a maioria das interfaces utiliza métodos bem estabelecidos de separação, como a cromatografia gasosa. A Figura 3 indica um diagrama básico de um espectrômetro de massas de isótopos estáveis de fluxo contínuo.



**Figura 3.** Diagrama básico de um espectrômetro de massas de isótopos estáveis de fluxo contínuo (CF-IRMS). Analisador elementar constituído por (a) amostrador, (b) coluna de combustão, (c) coluna de redução, (d) *trap* (remoção H<sub>2</sub>O); GC (coluna cromatográfica) onde ocorre a separação de N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>; espectrômetro de massas sendo (e) fonte de ionização, (f) *flight tube*, (g) setor magnético e (h) detectores - coletores de Faraday. (SHIBUYA, E.K., 2005)

Contudo, em virtude do fato de materiais contendo hidrogênio para análise apresentarem reação deste elemento com o quartzo presente na parede do tubo, formando moléculas de água, e desse mesmo material apresentar oxigênio em sua composição, havia comprometimento nas medidas realizadas. Dessa forma, passou-se a utilizar uma nova técnica com base na decomposição térmica à alta temperatura.

Componentes contendo oxigênio e hidrogênio estão presentes tanto em sistemas orgânicos (plantas e animais) quanto inorgânicos (solos). As razões  $\delta^{18}\text{O}$  e  $\delta^2\text{H}$  desses materiais podem ser determinadas pelas análises de CO e H<sub>2</sub> oriundas da pirólise sofrida pelo material. A técnica utilizada para a geração desses gases é denominada decomposição térmica à alta temperatura (TC/EA).

Nesse método as amostras são colocadas em cápsulas de prata, o que aumenta a temperatura a fim de facilitar a reação de pirólise, e são colocadas no interior de um tubo de

grafite com temperatura maior que 1400°C, cujos átomos de carbono se ligam aos átomos de oxigênio da amostra formando moléculas gasosas de CO e H<sub>2</sub>. Com o auxílio do fluxo do gás He, elas são direcionadas a um filamento submetido a uma alta diferença de potencial que promove o bombardeamento de elétrons às moléculas gasosas produzidas, as quais se tornam ionizadas. Em seguida, esses íons sofrem uma deflexão em sua trajetória em virtude de um campo eletromagnético aplicado, e assim, são direcionados aos canais que os detectam por suas massas <sup>12</sup>C<sup>16</sup>O (m/q=28/q), <sup>12</sup>C<sup>17</sup>O (m/q=29/q) e <sup>12</sup>C<sup>18</sup>O (m/q=30/q). Os resultados são expressos em notação δ‰<sup>18</sup>O, em relação ao padrão Standard Mean Ocean Water (SMOW) com erro de análise da ordem de 0,2‰. (Thermo Finnigan Manual, 2003)

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de maconha foram cedidas pela Dise (Delegacia de Entorpecentes de Botucatu) mediante a aprovação do juiz responsável pelo setor (Anexo 1). Após a autorização judicial, foram coletados dois gramas do material apreendido no segundo semestre de 2012, o que resultou em 24 amostras, as quais foram encaminhadas para o Centro de Isótopos Estáveis (CIE) da UNESP de Botucatu.

Já as amostras de *Ipomoea violacea* foram coletadas nas regiões de Três Lagoas no Mato Grosso do Sul e de Botucatu em São Paulo. A coleta foi feita através da remoção de ramos das plantas com auxílio de uma tesoura de poda. Os ramos coletados foram separados em folha, flor e semente, ao todo foram contabilizadas 50 amostras dessa planta.

Em seguida, submeteram-se as amostras de maconha e de *Ipomoea violacea* a um processo de secagem a uma temperatura de aproximadamente 60°C durante 48 horas na estufa de ventilação forçada (Marconi, MA 035 – Piracicaba, Brasil).

Depois desse processo, elas foram submetidas ao procedimento de moagem, o qual se baseou em 3 etapas:

- A. Deposição das amostras em potes plásticos e em seguida tampados, os quais continham pequenas esferas de aço, com o intuito de garantir a granulometria adequada da amostra.
- B. Resfriamento das amostras inseridas nos potes, os quais foram parcialmente imersos no nitrogênio líquido a uma temperatura média de - 196 °C.

C. Moagem das amostras no moinho criogênico Spex 6700-230 freezer/mill – Spex Industries, Edison, Estados Unidos (Figura 4) através de seu impacto com as bolinhas de aço submetidas a uma frequência de 870 rpm durante 6 minutos, passando por esse processo até atingir a granulometria ideal para as análises isotópicas.



**Figura 4.** Moinho criogênico Spex 6700-230 freezer/mill – Spex Industries, Edison, Estados Unidos.

Após a execução desses procedimentos com o auxílio da balança de alta precisão Excellence Plus Balance XP6 – Metler Toledo International Inc (Figura 5) foram pesadas todas as amostras, porém cada material analisado apresentou pesos diferentes:

- Maconha: foram analisadas 24 amostras em duplicata com peso médio de 1100 $\mu$ g para análise isotópica de nitrogênio – 15 e oxigênio –18;
- *Ipomoea violacea*: foram analisadas 50 amostras com peso médio e 1100 $\mu$ g para nitrogênio – 15;
- *Ipomoea violacea*: foram analisadas 50 amostras com peso entre 165 $\mu$ g e 170 $\mu$ g para oxigênio – 18;



**Figura 5.** Balança de alta precisão Excellence Plus Balance XP6 – Metler Toledo International Inc.

Em seguida, para a análise de nitrogênio – 15 nas amostras, elas foram introduzidas em pequenas cápsulas de estanho e com o auxílio do analisador elementar EA 1108 – CHN – Fisons Instruments, Rodano, Itália, onde cada amostra foi queimada, na presença de oxigênio ( $O_2$ ) e óxido de Cobre ( $CuO$ ) para a obtenção de  $CO_2$  e  $NO_x$ , sendo este último reduzido a  $N_2$  pela presença de cobre. Posteriormente, os gases obtidos foram separados através da coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massa de razões isotópicas (Delta S – Finnigan MAT, Bremen, Alemanha) representado pela Figura 6.



**Figura 6.** Espectrômetro de massa de razões isotópicas Delta S – Finnigan MAT, Bremen, Alemanha do CIE.

Os resultados de  $\delta^{15}N$  foram expressos em relação ao nitrogênio atmosférico, para  $^{15}N$ , com erro de análise da ordem de 0,2‰.

Por sua vez, na análise de oxigênio – 18 utilizaram-se cápsulas de prata as quais foram introduzidas no analisador por decomposição térmica à alta temperatura Thermo Finnigan TC/EA-IRMS, representado pela Figura 7, em série com o analisador elementar e sistema IRMS. Os resultados, como já explicado, foram expressos com relação ao padrão V-SMOW.



**Figura 7.** Espectrômetro de massa de razões isotópicas Thermo Finnigan TC/EA-IRMS, Bremen, Alemanha do CIE.

### 3.2 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos pelo espectrômetro para os isótopos  $^{15}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}$  das amostras foram plotados no plano cartesiano de modo a verificar a formação de grupos de resposta, esses foram comparados a resultados outrora obtidos na literatura a fim de predizer possíveis regiões de cultivo.

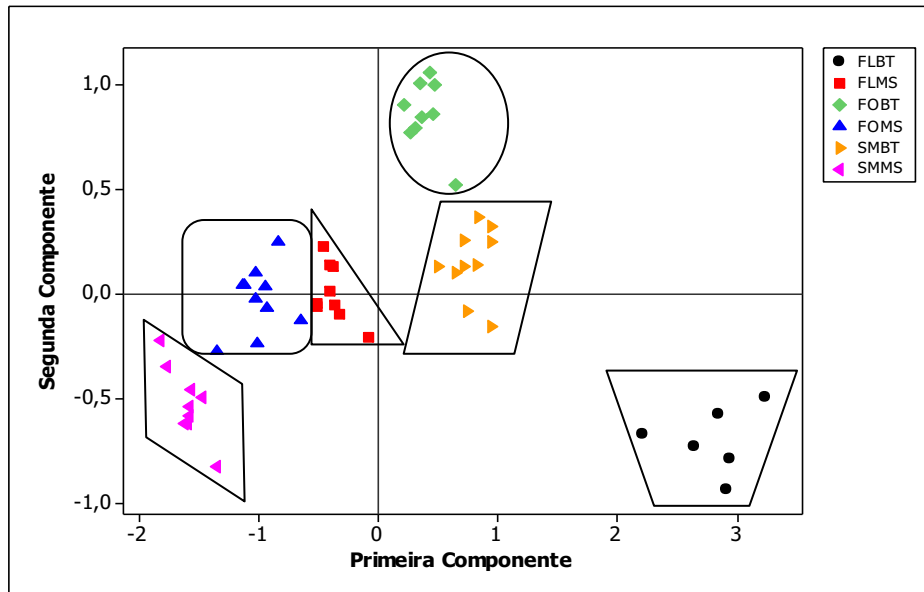
A análise dos dados foi feita com base na análise multivariada de componentes principais MANOVA, na qual a variável estatística combina as múltiplas dependências num único valor que maximiza as diferenças entre os grupos distintos (SARTORI, et al., 2012). Os dados foram analisados no software Minitab<sup>®</sup> 16 Statistical Software, 2010.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ANÁLISE DOS DADOS DA *Ipomoea violacea*

Pode-se observar a distinção entre os grupos analisados referentes às partes da planta *Ipomea violacea* através da análise de componentes principais, verificando também que nos quadrantes 1 e 4 encontram-se os dados da cidade de Botucatu, sendo que os dados da cidade de Três Lagoas encontram-se nos outros dois quadrantes, mostrando uma grande distinção entre os dados das duas regiões (Figura 8).

A primeira componente corresponde a 92,4% da variação, sendo o oxigênio-18 seu maior responsável, enquanto que a segunda componente corresponde a 7,6% dessa variação, sendo que o nitrogênio-15 apresenta maior escore dessa componente (Tabela 1).

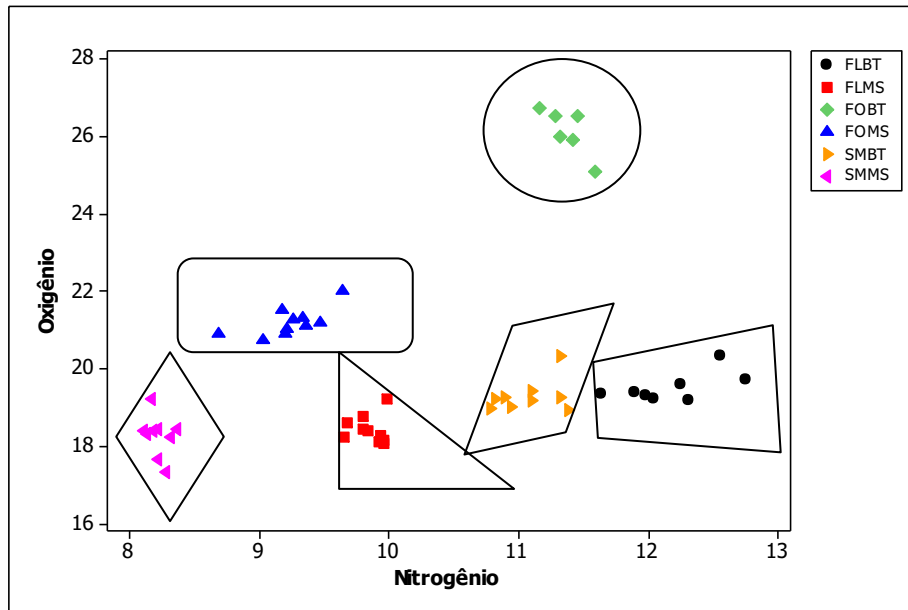


**Figura 8.** Análise de componentes principais das amostras de *Ipomoea violacea*. As partes da planta e regiões encontram-se identificadas pelas siglas FLBT (flor de Botucatu), FLMS (flor do Mato Grosso do Sul), FOBT (folha de Botucatu), FOMS (folha do Mato Grosso do Sul), SMBT (semente de Botucatu) e SMMS (semente do Mato Grosso do Sul).

**Tabela 1.** Indicação da proporção das componentes principais através da análise dos isótopos de oxigênio e nitrogênio presentes na *Ipomoea violacea*.

Variável	PC1	PC2
$\delta^{18}\text{O}$	0,931	-0,366
$\delta^{15}\text{N}$	0,366	0,931
Variância (%)	92,4	7,60

A Figura 9 corresponde aos dados da análise por componentes principais das amostras de *Ipomoea violacea*.



**Figura 9.** Representação no plano cartesiano dos grupos da planta *Ipomoea violacea* analisados. As partes da planta e regiões encontram-se identificadas pelas siglas FLBT (flor de Botucatu), FLMS (flor do Mato Grosso do Sul), FOBT (folha de Botucatu), FOMS (folha do Mato Grosso do Sul), SMBT (semente de Botucatu) e SMMS (semente do Mato Grosso do Sul).

Com base nos dados apresentados na Figura 9, pode-se perceber uma clara distinção entre os grupos da planta analisados. Assim, tem-se que os sinais isotópicos para as folhas e as sementes da mesma região apresentam maior semelhança, enquanto das flores demonstram-se mais isolados.

O sinal isotópico de  $\delta^{18}\text{O}$  está diretamente relacionado à fonte de água e umidade da matéria orgânica do solo em que se dá o cultivo do vegetal (RODEN, et al. 1999), além disso, solos ricos em matéria orgânica também apresentam valores de  $\delta^{15}\text{N}$  maiores em relação àqueles com menos recursos hídricos (SHIBUYA, et al., 2007). Dessa forma, constatam-se na Tabela 2 que os dados apresentados pela região de Botucatu são maiores que aqueles demonstrados pela região de Três Lagoas, uma vez que essa região possui um solo com maior escassez de material orgânico em comparação àquele da região Sudeste.



**Tabela 2.** Dados isotópicos de  $^{18}\text{O}$  e  $^{15}\text{N}$  referentes às regiões de Três Lagoas e Botucatu.

Amostra	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Botucatu	Três Lagoas	Botucatu	Três Lagoas
Flor	26,11 ± 0,60	19,43 ± 0,40	12,18 ± 0,34	9,85 ± 0,12
Folha	19,29 ± 0,42	18,42 ± 0,35	11,34 ± 0,15	9,23 ± 0,26
Semente	21,19 ± 0,36	18,26 ± 0,35	11,06 ± 0,22	8,22 ± 0,08

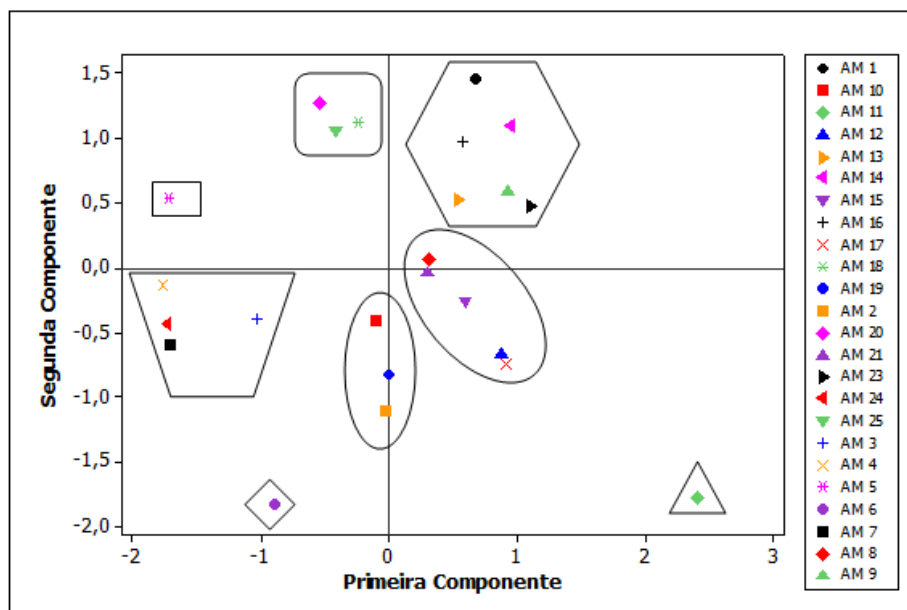
A diferença no sinal isotópico entre as duas regiões, portanto, é explícita. As amostras coletadas em Botucatu, quando analisadas em função apenas de  $\delta^{18}\text{O}$  apresentam uma diferença de aproximadamente 6,82‰ entre flor e folha; 4,92‰ entre flor e semente; e 1,90‰ entre folha e semente. Quando analisadas em função apenas de  $\delta^{15}\text{N}$  a diferença entre flor e folha é de 0,74‰; entre flor e semente, 1,12‰; e entre folha e semente, 0,28‰.

Com relação às amostras coletadas em Três Lagoas, a diferença entre os sinais isotópicos de  $\delta^{18}\text{O}$  entre flor e folha é 1,01‰; entre flor e semente, 1,17‰; e entre folha e semente, 0,16‰. Já a discrepância em função de  $\delta^{15}\text{N}$  entre flor e folha é 0,62‰; entre flor e semente, 1,63‰; e entre folha e semente, 1,01‰.

Assim, é possível estimar a região de cultivo da planta alucinógena fundamentando-se nos resultados encontrados.

#### 4.2 ANÁLISE DOS DADOS DA MACONHA (*Cannabis sativa L.*)

Observando-se a Figura 10, é possível perceber 8 grupos distintos através da análise por componentes principais. O primeiro componente corresponde a 69,7%, sendo o oxigênio seu maior responsável, já o segundo componente, por sua vez, corresponde a 30,3%, sendo o nitrogênio seu representante majoritário. Isso também é exemplificado na Tabela 3.

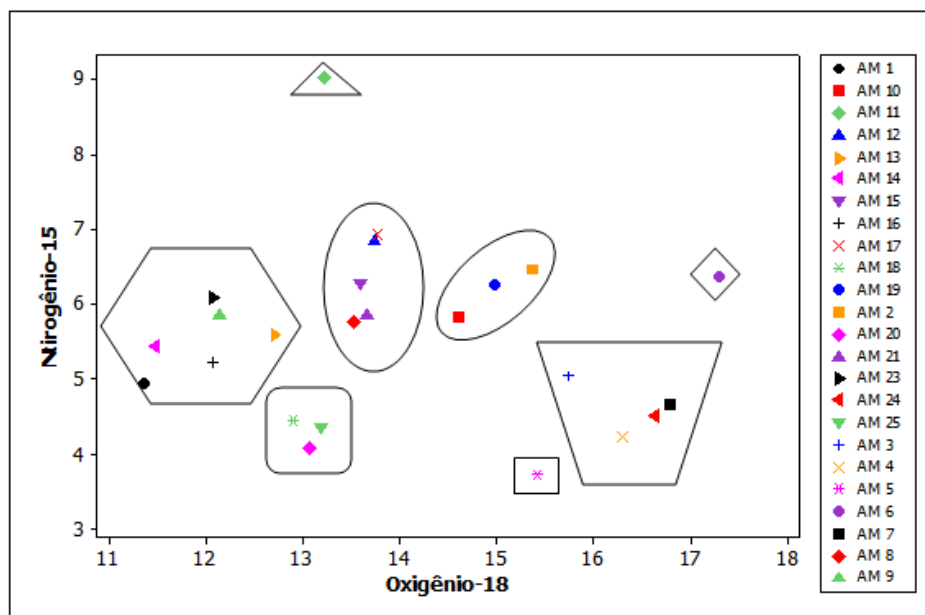


**Figura 10.** Análise de componentes principais das amostras de maconha. Cada amostra é identificada pela legenda AM.

**Tabela 3.** Indicação da proporção das componentes principais através da análise dos isótopos de oxigênio e nitrogênio presentes nas amostras de maconha.

Variável	PC1	PC2
$\delta^{18}\text{O}$	- 0,986	- 0,165
$\delta^{15}\text{N}$	0,165	- 0,986
Variância (%)	69,7	30,3

Na Figura 11, a qual retrata os dados isotópicos da análise por componentes principais, pode-se verificar a disposição dos grupos pelos sinais isotópicos avaliados.



**Figura 11.** Representação no plano cartesiano dos diferentes grupos de maconha analisados. Cada amostra é identificada pela legenda AM.

Os dados demonstrados na Figura 12 estão de acordo com aqueles apresentados na análise da maconha para a região do Alaska, EUA (BOOTH, et al., 2010). Assim, observou-se que para a região de Fairbanks o intervalo para o sinal isotópico de  $\delta^{18}\text{O}$  é 13,63 a 22,03 ‰ e de  $\delta^{15}\text{N}$  8,89 a 8,99 ‰, desse modo, coincide com as amostras AM 11 e AM 15 das amostras coletadas para esse estudo. Além disso, para a mesma região pode-se ter a amostra AM 19, já que nessa literatura existem dados para o sinal isotópico de  $\delta^{18}\text{O}$  no intervalo entre 13,40 a 14,82 ‰, e para o sinal de  $\delta^{15}\text{N}$ , entre 6,29 e 6,31‰.

A amostra AM 23, por sua vez, é semelhante àquelas plantadas na região de Tanacross, onde o intervalo do sinal para  $\delta^{18}\text{O}$  é  $12,69 \pm 1,60$  ‰ e para  $\delta^{15}\text{N}$   $6,64 \pm 0,43$  ‰.

Diante desses valores, tem-se que as amostras AM 11 e AM 15 certamente foram cultivadas em regiões com maior disponibilidade de recursos hídricos com solos mais ricos em matéria orgânica que as amostras AM 19 e AM 23.

Em decorrência do pequeno número de artigos publicados com base no estudo de  $\delta^{18}\text{O}$  em maconha, não foi possível a comparação das demais amostras com outra literatura.

Os dados isotópicos encontrados nas medidas realizadas pela técnica IRMS são demonstrados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Dados isotópicos de  $^{18}\text{O}$  e  $^{15}\text{N}$  referentes às amostras de maconha coletadas.

$\delta^{18}\text{O}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
11,37 ± 0,49	4,94 ± 0,98
15,37 ± 0,76	6,47 ± 0,11
15,73 ± 1,88	5,05 ± 0,07
16,30 ± 0,08	4,24 ± 0,15
15,41 ± 0,59	3,72 ± 0,39
17,29 ± 0,00	6,36 ± 0,01
16,78 ± 0,31	4,67 ± 0,17
13,52 ± 0,06	5,77 ± 0,13
12,15 ± 1,58	5,86 ± 0,01
14,60 ± 1,42	5,83 ± 0,03
13,22 ± 0,66	9,03 ± 0,16
13,73 ± 0,11	6,86 ± 0,16
12,70 ± 0,11	5,59 ± 0,54
11,48 ± 0,86	5,45 ± 0,06
13,58 ± 0,02	6,29 ± 0,28
12,08 ± 0,73	5,24 ± 0,12
13,77 ± 0,74	6,94 ± 0,06
12,91 ± 0,25	4,45 ± 0,14
14,98 ± 2,00	6,26 ± 0,18
13,08 ± 1,46	4,08 ± 0,07
13,66 ± 1,55	5,86 ± 0,30
12,07 ± 1,95	6,09 ± 0,03
16,62 ± 0,18	4,52 ± 0,11
13,19 ± 2,07	4,36 ± 0,11

## 5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados nesse trabalho, evidenciou-se a eficiência da técnica IRMS na detecção da diferença entre as regiões de cultivo das plantas psicoativas *Ipomoea violacea* e *Cannabis sativa L.* através da análise isotópica dos isótopos de oxigênio ( $^{18}\text{O}$ ) e nitrogênio ( $^{15}\text{N}$ ).

A análise do sinal isotópico desses elementos na planta *Ipomoea violacea* permitiu a identificação das amostras oriundas de Três Lagoas – MS e Botucatu – SP, como também determinar as propriedades de seu solo e associá-la às condições de cultivo da planta estudada.

Os dados da *Cannabis sativa L.* analisados possibilitaram sua comparação àqueles apresentados na literatura e associá-los as regiões de Fairbanks e Tanacross no Alaska, EUA. Contudo, em virtude de poucas pesquisas publicadas que se fundamentem no cruzamento dos resultados de  $\delta^{18}\text{O}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  não foi possível correlacionar todas as amostras coletadas nesse trabalho a outras regiões.

Dessa forma, os dados encontrados permitiram não só confirmar a confiabilidade da técnica com a utilização dos isótopos de oxigênio e nitrogênio, como também criar um banco de dados o qual permitirá avaliar a procedência de cada planta ilícita.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANCUCEANU, R. V.; DINU, M.; ANGHEL, A. I.; REBEGEA, O. C.; OLARU, O. T.; POPESCU, D.; POPESCU, G. Recent Prohibition of Certain Psychoactive “Ethnobotanicals” in Romania. **Farmacía**, v. 58, n. 2, p. 121-127, 2010.

BARBOUR, M.M. Stable oxygen isotope composition of plant tissue: a review. **Functional Plant Biology**, v. 34, p.83–94. 2007.

BENSON, S.; LENNARD, C.; MAYNARD, P.; ROUX, C. Forensic applications of isotope ratio mass spectrometry—A review. **Forensic Science International**, v.157, pp.1-22. 2006.

BERTI, V. Aplicações de isótopos estáveis na área da saúde no Brasil. Monografia ( Bacharel em Física Médica)- **Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP**, Botucatu. 2009.

BOOTH, A.L., WOOLLER, M.J., HOWEA, T., HAUBENSTOCK, N. Tracing geographic and temporal trafficking patterns for marijuana in Alaska using stable isotopes (C, N, O and H). **Forensic Science International** , v.202, p.45–53. 2010.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 39 de 9 de Julho de 2012. Atualização na Lista de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial, da portaria SVS/MS nº 344, de 12 de Maio de 1998. 2012.

CAROD-ARTAL, F. J. Alucinógenos en las culturas precolombinas mesoamericanas. *Neurología*, p. 1-8. 2011.

DUCATTI, C. **Isótopos Estáveis Ambientais**. Curso de pós graduação. IB/UNESP. 2012. [Apostila]

HALLIDAY. Fundamentos de Física- Eletromagnetismo 3.6 ed. S.1.: s.n.1986.

HAPER, J. H.; ROTH, B. L. Hallucinogens and dissociative agents naturally growing in the United States. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 102, n. 1, p. 131-138. 2004.

MARCHESE, J.A., MING, L.C., DUCATTI, C., BROETTO, F., DA SILVA, E.T., LEONARDO, M. Carbon isotope composition as a tool to control the quality of herbs and medicinal plants. *Photosynthetica*, v.44(1), p.155-159. 2006.

RODEN, J.S., EHLERINGER, J.R. Observations of Hydrogen and Oxygen Isotopes in Leaf Water Confirm the Craig-Gordon Model under Wide-Ranging Environmental Conditions. *Plant Physiology*, v.120, PP. 1165-1173. Ago. 1999.

SARTORI, M. M. P., DENADAI, J. C., GRACIA, A. M. L., CARRIJO, A. S., DUCATTI, C. Multivariate Analysis of Stable Isotope Data in the Traceability Process for Birds. *Acta Scientiarum*, v. 34, n. 4, p. 437-442, 2012.

SHIBUYA, E.K. Rastreamento da origem geográfica de amostras de maconha apreendidas nas ruas de São Paulo, por meio de assinaturas químicas. 2005. 221f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais) - **Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo**, São Paulo. 2005.

SHIBUYA, E.K., SARKIS, J.E.S., NETO, O.N., MARTINELLI, L.A. Carbon and nitrogen stable isotopes as indicative of geographical origin of marijuana samples seized in the city of São Paulo (Brazil). *Forensic Science International*, v.167, p.8–15. 2007.

SHIBUYA, E.K., SARKIS, J.E.S., NETO, O.N., MOREIRA, M.Z., VICTORIA, R.L. Sourcing Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. *Forensic Science International*, v.160, p. 35–43. 2006.

Thermo Finnigan. **Operating Manual, Issue 9/2003**, Ident.No. 112 76 01.

**ANEXO 1 – Aval do Juiz do Fórum de Botucatu para coleta das amostras de maconha.**

**PODER JUDICIÁRIO**  
SÃO PAULO

FÓRUM DE BOTUCATU  
Juiz de Direito de 2ª Vara Criminal  
Comarca de Botucatu  
R GENERAL TELLES, 1144, -  
CENTRO - Botucatu/SP - CEP 19000-030  
Fone: (14) 3892-5970

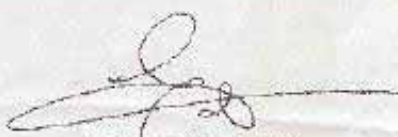
Comarca de Botucatu/SP  
2ª Vara Criminal  
Cartório do 2º Ofício Criminal  
Ofício nº 349/2ºCR/2011

Em 28 de outubro de 2011

Senhor Delegado,

Pelo presente, expedido nos autos do Pedido de Fornecimento de Amostras de Entorpecentes nº 19/11 - Corregedoria, e em atendimento ao solicitação através do ofício 044/2011, informo Vossa Senhoria que ante aos esclarecimentos feitos pelo Supervisor do Centro de Isótopos Estáveis da Unesp, Dr Carlos Ducett, e do parecer favorável do Ministério Público, AUTORIZO o envio de 2 mg de amostras de cada droga, através dessa Delegacia de Investigações Sobre Entorpecentes, ao ponto de estudos, devendo ser apresentadas as conclusões a este Juízo, bem como destruídas ou devolvidas as substâncias que não tenham sido utilizadas.

Aproveito a oportunidade para renovar a Vossa Senhoria protestos de elevada estima e consideração.

  
EDSON LOPES FILHO  
Juiz Substituto

*Paulo*  
*delegado*

11mº Sr. D:  
PAULO FÁBIO BUCHIGNANI  
Delegado de Polícia da DISE  
NESTA