

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO

Lucas Moreira de Campos Pinto

Análise Isotópica de Carbono-13 e Nitrogênio-15 da *Ipomoea violacea* para
Determinação de sua Origem Geográfica

Botucatu

2012

Lucas Moreira de Campos Pinto

Análise Isotópica de Carbono-13 e Nitrogênio-15 da *Ipomoea violacea* para
Determinação de sua Origem Geográfica

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Instituto de Biociências, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *campus* de
Botucatu, para obtenção do título de bacharel em
Física Médica

Orientadora: Prof. Dra. Maria Márcia Pereira Sartori

Botucatu
2012

Aos meus parentes e amigos,
principalmente Maurício, Elma, Leandro,
Caroline, Paulo Henrique, Bruno e Rafael.

Agradecimento

À Dra. Silvia de Oliveira S. Cazenave, agradeço as sugestões que possibilitaram a realização do trabalho.

Aos funcionários do Centro de Isótopos Estáveis, em especial: Evandro Tadeu da Silva e Cibele Regina de Souza, pelo auxílio no preparo do material e processamento das amostras.

Aos alunos de graduação em Ciências Biológicas, Simara de Freitas Garcia e Pedro Garcia, pelo auxílio na localização das plantas.

ANÁLISE ISOTÓPICA DE CARBONO-13 E NITROGÊNIO-15 DA *IPOMOEA VIOLACEA* PARA DETERMINAÇÃO DE SUA ORIGEM GEOGRÁFICA

PINTO¹, L. M. C.; DUCATTI², C. e SARTORI², M.M.P.

¹ Aluno do curso de Física Médica, UNESP/Botucatu.

² Professor Dep. de Física e Biofísica, UNESP/Botucatu

Resumo

Existem, espalhadas pelo globo terrestre, inúmeras plantas com características psicoativas. Entre elas está a *Ipomoea violacea*, conhecida popularmente pelo nome de Morning Glory, que possui em suas folhas e sementes um fungo produtor de alcalóides. Entre os alcalóides produzidos pela associação entre planta e fungo, está a ergina (ou LSA), um homólogo natural da conhecida substância de abuso, LSD. Em muitos países a inclusão de tal substância na lista de controle está em pauta; no Brasil, essa foi recentemente proibida. Um dos pontos importantes no estudo da composição isotópica de carbono-13 e nitrogênio-15 desta planta, além de agregar conhecimento sobre tal, é o fato de que, conforme comprovado na década de 60, existe uma variação da quantidade total de alcalóides em função da origem geográfica da mesma. Portanto, buscou-se com este trabalho verificar a capacidade da utilização das razões isotópicas como ferramenta no mapeamento, e consequente rastreabilidade da mais nova planta ilícita do território brasileiro. Pode-se concluir que essa planta apresenta um ciclo fotossintético do tipo C₃, que suas partes: flores, folhas e sementes, apresentam diferença isotópica do carbono-13 e nitrogênio-15 e essa ferramenta possibilita detectar a origem geográfica dessa.

Palavras-chave: Isótopos estáveis, morning glory, LSA, alcalóides, toxicologia forense.

Abstract

Along the Earth globe we can find many types of psychoactive plants. Among them is the *Ipomoea violacea*, popularly known as Morning Glory. There are ergot-alkaloids producer associated-fungus in its leaves and seeds. One of these alkaloids that can be found is the ergine (or LSA), a homologous substance of the lysergic acid diethylamide (LSD). There are many discussions around the world about the inclusion

of LSA in the list of controlled substances. In Brazil, this was recently prohibited. One of the most important point of view in the study of isotopic composition of ^{13}C and ^{15}N of this plant is the fact that there is a total alkaloid variation in function of its geographic origin like was verified in 1960's, besides to aggregate knowledge about it. This work was made to verify if the isotopic ratio can be used as a tool in tracing this illegal Brazilian plant. We could conclude that this plant presents a C_3 photosynthetic pathway, its parts has different isotopic carbon and nitrogen composition and that stable isotope analysis can be successfully used as a tool to detect its geographic origin.

Key words: Stable isotopes, morning glory, ergine, ergot-alkaloids, forensic toxicology.

Introdução

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. Podemos citar como exemplo dessas plantas as *Phalaris ssp.*, a *Salvia divinorum*, *Lophophora williamsii* e as *Ipomoea ssp.* Essas não partilham do mesmo princípio ativo e as substâncias neurotóxicas presentes em cada uma são diferentes. Deve-se ressaltar que tais plantas, em geral, são amplamente utilizadas em práticas cerimoniais religiosas (Hapern & Roth, 2004).

Segundo Carod-Artal (2001), algumas civilizações pré-colombianas fizeram uso da *Ipomoea Violacea*, planta da família das convolvuláceas cujas folhas se unem em forma de sino, devido às suas propriedades psicotrópicas sobre a percepção e as emoções. Tal planta possui, principalmente, em suas sementes alcalóides da família do LSD, como a ergina (LSA) e a isoergina (iso-LSA), que se comportam como agonistas serotoninérgicos parciais.

Segundo Weber & Ma (1976), não apenas as sementes de *Ipomoea violacea* possuem níveis detectáveis de alcalóides. Apesar de não serem comparáveis, observou-se a presença deles também nas folhas da planta. Steiner et al. (2006); Markert et al. (2008); Kucht et al. (2004) constataram que um determinado fungo da família *Clavicipitaceae*, produtor de alcalóides, forma colônias sobre a folha da planta e são, então, transmitidos na semente.

O LSA, amido de ácido lisérgico, e seu isômero são potencialmente mais fracos que o LSD, um décimo da potência, segundo Richardson et al. (2007), sendo psicoativos apenas com doses maiores que dois miligramas (Hapern & Roth, 2004).

O LSA representa aproximadamente 0.02% da matéria seca de *Ipomoea violacea* (Richardson et al., 2007). Além dos isômeros de LSA, Ahimsa-Müller et al. (2007) constataram que também estão presentes na planta os alcalóides ergonovina, agroclavina, chanoclavina e elymoclavina.

Cordell et al. (2011) classificaram todos os alcalóides encontrados na *Ipomoea violacea* como ergotamínicos, que são produtos naturais de alta atividade fisiológica derivados do triptofano (Ahimsa-Müller et al., 2007) e possuem, segundo Ivanova & Spiteller (2012), afinidade com os receptores de serotonina e dopamina, presentes no SNC humano.

Genest, K. (1965) analisou, por método de cromatografia em camada delgada, a presença de alcalóides em amostras de variedades hortícolas de *Ipomoea violacea* provenientes de diferentes regiões e constatou que havia diferença significativa na composição total de alcalóides das plantas, ou seja, dependendo da região de plantio, há variação na quantidade de substâncias psicoativas.

Meira et al. (2012) descreveu as atividades exercidas por cada alcalóide presente nas *Ipomoea violacea*, e constatou que a grande maioria possui, exclusivamente, ação psicotrópica, apenas a ergonovina possui capacidade vasoconstritora e hemostática.

Porém, segundo Kremer et al. (2012), os principais efeitos da ingestão das sementes de *Ipomoea violacea* são causados pelos alcalóides LSA e iso-LSA, fato comprovado através da comparação entre pacientes saudáveis submetidos à administração de doses da semente da planta e os efeitos da ingestão de uma mistura contendo apenas os isômeros lisérgicos.

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, diferente de muitos países, onde tal planta não foi posta sob controle (Ancuceanu et al., 2010).

A análise isotópica de carbono e de nitrogênio de uma determinada planta são testes simples para a determinação do mecanismo fotossintético da mesma e da riqueza de nutrientes do solo onde foi cultivada, respectivamente (Marchese et al., 2006; Goecker et al., 2009).

Isótopos são átomos de um mesmo elemento químico que apresentam o mesmo número de prótons e diferentes números de nêutrons em seu núcleo, ou seja, apresentam propriedades químicas iguais e físicas diferentes (Boutton, 1991). Segundo Sleiman (2006), isótopos estáveis são aqueles que não emitem radiação, sendo que os elementos hidrogênio, carbono, nitrogênio, oxigênio e enxofre apresentam interesse biológico e ocorrem naturalmente. Os mais leves (^1H , ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O , ^{32}S), em geral, são mais abundantes que os mais pesados (^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{33}S , ^{34}S , ^{36}S).

A determinação da composição isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) ou nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) pode ser feita utilizando um espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS) para determinar a razão $R_{amostra} = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, permitindo o cálculo do valor de δX pela seguinte equação:

$$\delta X (\text{‰}) = \left[\frac{R_{amostra}}{R_{padrão}} - 1 \right] \times 1000$$

Onde X é ^{13}C ou ^{15}N e o $R_{padrão}$ utilizado para carbono e nitrogênio são, respectivamente, os valores de *PeeDee belemnite* (PDB) e do ar. As mensurações possuem erro analítico de 0,2‰ (Marchese et al., 2006; Goecker et al., 2009).

A composição isotópica de carbono é regulada pelo mecanismo fotossintético da planta (Marchese et al., 2006; Shibuya et al., 2007). Existem três tipos de mecanismos, chamados Hatch-Slack-Kortschak (C_4), Benson-Calvin (C_3) e “Crassulacean Acid Metabolism” (CAM). A maioria das plantas do tipo C_3 possui um valor de $\delta^{13}\text{C}$ entre -24 e -35 ‰. Tal composição é regulada pela relação entre as concentrações de CO_2 dentro do estômato (c_i) e no ar atmosférico (c_a), conforme a equação a seguir:

$$\delta^{13}C_{C_3} = \delta^{13}C_{atm} - a - (b - a) \frac{c_i}{c_a}$$

Onde $\delta^{13}C_{atm}$ é a composição isotópica do ar atmosférico, a é o fracionamento físico do CO_2 do ar para o estômato e b é o fracionamento envolvido no mecanismo fotossintético (Shibuya et al., 2007).

Para o nitrogênio, os fatores que podem interferir na composição isotópica podem ser: a deposição, a fixação de nitrogênio do ar através de bactérias fixadoras de

nitrogênio, o tipo de solo e, no caso de culturas, o fertilizante utilizado. Todos esses fatores devem possuir diferentes composições isotópicas, que são transmitidas para a planta que os utiliza. Quanto maior a quantidade de matéria orgânica no solo, maior será a disponibilidade de nitrogênio (Shibuya et al., 2007).

Locais ricos em nitrogênio devem possuir um $\delta^{13}\text{C}$ maior em relação aos pobres (Martinelli et al., 1999).

Experimentos foram realizados utilizando a análise de sinal isotópico, principalmente, para carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) com o objetivo de identificar padrões de rastreabilidade para substâncias psicoativas ou plantas contendo tais substâncias. Tal prática é importante para verificar a origem, nacional ou internacional, de tais drogas. (Booth et al., 2010; Ehleringer et al., 1999; Ehleringer et al., 2000; Casale et al., 2006; West et al. 2009; Shibuya et al., 2007).

Goecker et al. (2009) mapearam amostras de folhas de *Ipomoea violacea* coletadas ao norte e ao sul do delta Mobile-Tensaw, nos EUA, mediante estudos da composição de isótopos de carbono e nitrogênio. Os resultados para o norte foram $\delta^{13}\text{C} = -29,13 \pm 0,09 \text{ ‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 1,81 \pm 0,16 \text{ ‰}$ e para o sul, $\delta^{13}\text{C} = -28,32 \pm 0,10 \text{ ‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 7,30 \pm 0,14 \text{ ‰}$. Tais diferenças nos valores foram esperadas, devido às modificações hidrológicas realizadas ao longo do delta para facilitar o transporte e reduzir o risco de enchentes.

O objetivo deste trabalho foi de verificar a diferença na composição isotópica de carbono-13 e nitrogênio-15 das diferentes partes da planta (folha, flor e semente), além de empregar a análise como ferramenta para mapear a *Ipomoea violacea* em diferentes regiões de plantio.

Materiais e Métodos

As amostras de *Ipomoea violacea* foram identificadas e coletadas em dois municípios brasileiros: na cidade de Três Lagoas no Mato Grosso do Sul e em Botucatu no estado de São Paulo. A coleta foi feita através da remoção de ramos das plantas com auxílio de uma tesoura de poda. Os ramos retirados foram separados em folhas, flores e, para a região de Botucatu, sementes, totalizando cinco amostras, divididas por região.

Após a coleta, as cinco amostras obtidas foram submetidas ao processo de secagem a uma temperatura aproximada de 60°C durante 48 horas na estufa de ventilação forçada (Marconi – MA 035, Piracicaba, Brasil).

As amostras secas foram colocadas em potes plásticos individuais tampados contendo pequenas esferas de chumbo para o processo de moagem, submetendo-as a uma temperatura de aproximadamente -196°C utilizando um criostato a base de nitrogênio líquido para então serem colocadas em moinho criogênico (Spex 6700-230 freezer/mill – Spex Industries, Edison, Estados Unidos) a uma frequência de 870 rpm durante 6 minutos. A qualidade da moagem foi analisada para aferir se o material estava homogêneo e de finíssima granulometria, exigência esta da análise isotópica.

As amostras de flores e folhas, por serem mais frágeis, passaram por tal processo apenas uma vez. Porém, para que a amostra de sementes atingisse as condições necessárias a análise, todo o processo de moagem, para tal, foi repetido seis vezes.

A próxima etapa foi realizada utilizando uma balança de alta precisão (Excellence Plus Balance XP6 – Metler Toledo International Inc.). Cada amostra foi pesada e separada dentro de cápsulas de estanho, totalizando 100 amostras processadas, da seguinte maneira:

- 10 repetições com peso médio de $60\mu\text{g}$ para análise do sinal isotópico de carbono;
- 10 repetições com peso médio de $1100\mu\text{g}$ para análise isotópica de nitrogênio;

Estas amostras foram introduzidas por meio de um amostrador automático no analisador elemental (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 por meio de coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massa de razões isotópicas (Delta S – Finnigan MAT, Bremen, Alemanha).

O preparo e processamento das amostras foram realizados no Centro de Isótopos Estáveis da Universidade Estadual Paulista – *campus* de Botucatu.

Análise Estatística

O cálculo de média e desvio-padrão foi realizado para verificar a variabilidade dos resultados isotópicos para cada amostra, avaliando assim a confiabilidade desses.

Utilizou-se a análise de componentes principais, para os dados de carbono-13 e nitrogênio-15, para avaliar a diferença entre os grupos de resposta de flores, folhas e

sementes, nas diferentes regiões. Segundo Sartori et al (2012), a análise adequada para dados isotópicos para fins de rastreabilidade é a multivariada, ou seja, análise que considera as duas variáveis (nesse caso) como um par de resposta.

Resultados e discussão

Na Tabela 1, estão representados os valores de média e desvio padrão das amostras de flor, folha e semente de *Ipomoea violacea*. Amostras de sementes da região de Três Lagoas não foram obtidas devido ao período específico em que a planta produz suas sementes, impossibilitando a coleta das mesmas dentro do período experimental.

Para as amostras coletadas em Botucatu pode-se observar uma diferença do $\delta^{13}\text{C}$, em média, de 1,62‰ entre flor e semente, de 2,56‰ entre flor e folha e de 0,94‰ entre folha e semente. Para o $\delta^{15}\text{N}$, de 1,12‰ entre flor e semente, de 0,84‰ entre flor e folha e de 0,28‰ entre folha e semente.

Para as coletadas na cidade de Três Lagoas observa-se uma diferença média de 0,54 ‰ no $\delta^{13}\text{C}$ e de 0,62 ‰ para o $\delta^{15}\text{N}$ entre flor e folha.

A análise dos dados de composição isotópica de carbono permite aferir que a *Ipomoea violacea* é uma planta de ciclo fotossintético C_3 (Shibuya et al., 2007). Conforme comprovado por Martinelli et al. (1999), a variação do valor de $\delta^{13}\text{C}$ entre as regiões é observada devido à diferença na quantidade de nutrientes no solo de cada região.

Sabe-se que o solo de Botucatu é mais rico em matéria orgânica em relação ao solo de Três Lagoas, fator que possivelmente determina, conforme Shibuya et al. (2007), o maior valor de $\delta^{15}\text{N}$ para esta cidade.

Pela análise comparativa com os resultados apresentados por Goecker et al. (2009) para as folhas, observa-se pequena variação nos valores de $\delta^{13}\text{C}$, possivelmente oriunda da diferença de concentração do CO_2 atmosférico das diferentes regiões. Porém, a comparação exibiu uma grande variação entre os valores de $\delta^{15}\text{N}$, fator que comprova a diferença no sinal isotópico em função da região.

A Figura 1 apresenta um gráfico resultante da análise de componentes principais realizada pelo software de análise estatística (Minitab® 16 Statistical Software, 2010) considerando os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ como variáveis de duas equações multivariadas otimizadas (Primeira e Segunda Componentes), para flor, folha e semente de *Ipomoea violacea* (Sartori et al., 2012). Pode-se observar (Figura 1) diferença no sinal isotópico

de carbono-13 e nitrogênio-15 entre as partes distintas da planta, além de uma visível distinção entre as amostras coletadas em cada região, fato que atesta a possibilidade de mapeamento de amostras da planta. Esse resultado permite estimar os alcalóides em função da região de plantio (K. Genest, 1965).

Tabela 1: Valores de média \pm desvio padrão para as amostras processadas de *Ipomoea violacea*.

Amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Botucatu	Três Lagoas	Botucatu	Três Lagoas
Flor	$-29,85 \pm 0,14$	$-29,89 \pm 0,08$	$12,18 \pm 0,34$	$9,85 \pm 0,12$
Folha	$-27,29 \pm 0,12$	$-30,43 \pm 0,12$	$11,34 \pm 0,15$	$9,23 \pm 0,26$
Semente	$-28,23 \pm 0,11$	-	$11,06 \pm 0,22$	-

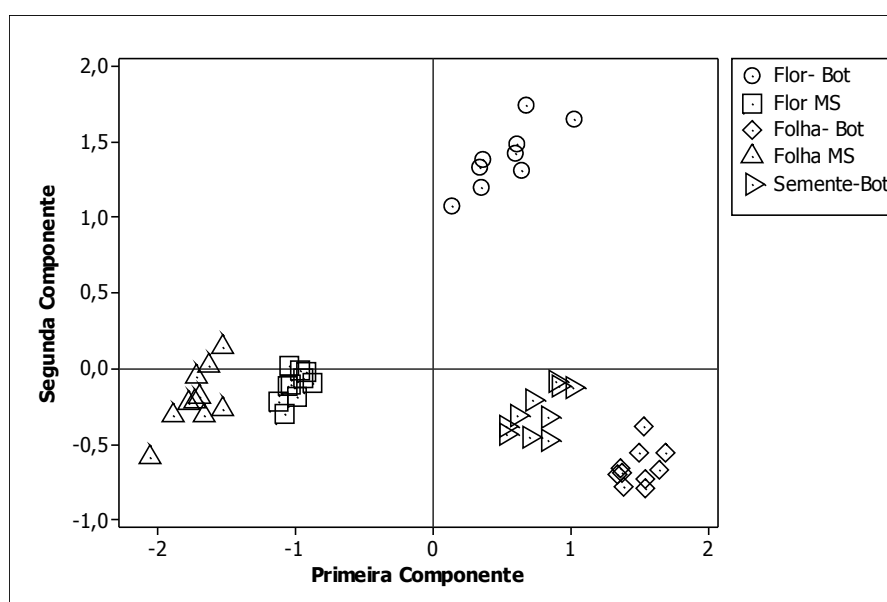


Figura 1: Gráfico da análise multivariada para flor, folha e semente, considerando duas funções multivariadas diferentes.

Conclusão

Pode-se concluir que o ciclo fotossintético observado na *Ipomoea violacea* é do tipo C_3 , que existe diferença na composição isotópica de carbono-13 e nitrogênio-15 entre partes distintas da mesma (flores, folhas e sementes) e a análise de componentes principais da razão isotópica permitiu a detecção da origem geográfica da planta.

Referências bibliográficas

AHIMSA-MÜLLER, M. A.; MARKERT, A.; HELLWIG, S.; KNOOP, V.; STEINER, U.; DREWKE, C.; LEISTNER, E. Claviceptaceous Fungi Associated with Ergoline Alkaloid-Containing Convolvulaceae. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 12, p. 1955-1960, 2007.

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.

BOOTH, A. L.; WOODLER, M. J.; HOWE, 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, n. 1, p. 45-53, 2010.

BOUTTON, T. W. Stable carbon isotope ratios of natural materials: I. sample preparation and mass spectrometric analysis. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. **Carbon isotope techniques**. San Diego: Academic Press, 1991. cap. 10, p. 155-171.

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.

CASALE, J.; CASALE, E.; COLLINS, M.; MORELLO, D.; CATHAPERMAL, S.; PANICKER, S. Stable Isotope Analyses of Heroin Seized from the Merchant Vessel Pong Su. **Journal of Forensic Sciences**, v. 51, n. 3, p. 603-606, 2006.

CORDELL, G. A.; CHOI, T. Alkaloids and Their Biosynthesis. **Photochemistry and Pharmacognosy**, 2011.

EHLERINGER, J. R.; CASALE, J. F.; LOTT, M. J.; FORD, V. L. Tracing the Geographical Origin of Cocaine. **Nature**, v. 408, n. 1, p. 311-312, 2000.

EHLERINGER, J. R.; COOPER, D. A.; LOTT, M. J.; COOK, C. S. Geo-location of Heroin and Cocaine by Stable Isotope Ratios. **Forensic Science International**, v. 106, n. 1, p. 27-35, 1999.

GENEST, K. A Direct Densitometric Method on Thin-layer plates for the Determination of Lysergic Acid Amide, Isolysergic Acid Amide and Clavine Alkaloids in Morning Glory Seeds. **Journal of Chromatography**, v. 19, n. 1, p. 531-539, 1965.

GOECKER, M. E.; VALENTINE, J. F.; SKLENAR, S. A.; CHAPLIN, G. I. Influence from Hydrological Modification on Energy and Nutrient Transference in a Deltaic Food Web. **Estuaries and Coasts**, v. 32, n. 1, p. 173-187, 2009.

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.

IVANOVA, B. B.; SPITELLER, M. Derivatives of Ergot-alkaloids: Molecular structure, physical properties and structure-activity relationships. **Journal of Molecular Structure**, v. 1024, n. 1, p. 18-31, 2012.

KREMER, C.; PAULKE, A.; WUNDER, C.; TOENNES, S. W. Variable adverse effects in subjects after ingestion of equal doses of *Argyreia nervosa* seeds. **Forensic Science International**, v. 214, n. 1, p. e6-e8, 2012.

KUCHT, S.; GROß, J.; HUSSEIN, Y.; GROTHE, T.; KELLER, U.; BASAR, S.; KÖNIG, W. A.; STEINER, U.; LEISTNER, E. Elimination of ergoline alkaloids following treatment of *Ipomoea asarifolia* (*Convolvulaceae*) with fungicides. **Planta**, v. 219, n. 1, p. 619-625, 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, n. 1, p. 155-159, 2006.

MARKERT, A.; STEFFAN, N.; PLOSS, K.; HELLWIG, S.; STEINER, U.; DREWKE, C.; LI, S.-M.; BOLAND, W.; LEISTNER, E. Biosynthesis and Accumulation of Ergoline Alkaloids in a Mutualistic Association between *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) and a Clavicipitalean Fungus. **Plant Physiology**, v. 147, n. 1, p. 296-305, 2008.

MARTINELLI, L. A.; PICCOLO, M. C.; TOWNSEND, A. R.; VITOUSEK, P. M.; CUEVAS, E.; MCDOWELL, W.; ROBERTSON, G. P.; SANTOS, O. C.; TRESEDER, K. Nitrogen Stable Isotopic Composition of Leaves and Soil: Tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry**, v. 46, n. 1, p. 45-65, 1999.

MEIRA, M.; DA SILVA, E. P.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Review of the Genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 3, p. 682-713, 2012.

RICHARDSON, W. H.; SLONE, C. M.; MICHELS, J. E. Herbal Drugs of Abuse: an emerging problem. **Emergency Medicine Clinics of North America**, v. 25, n. 1, p. 435-457, 2007.

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.; SARKIS, J. E. S.; NEGRINI-NETO, O.; 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, n. 1, p. 8-15, 2007.

SLEIMAN, M. **Determinação do percentual de malte de cevada em cervejas tipo Pilsen utilizando os isótopos estáveis do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e no nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$)**. Botucatu, 2006. 87 f. Tese - (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

STEINER, U.; AHIMSA-MÜLLER, M. A.; MARKERT, A.; KUCHT, S.; GROß, J.; KAUF, N.; KUZMA, M.; ZYEH, M.; LAMSHÖFT, M.; FURMANOWA, M.; KNOOP, V.; DREWKE, C.; LEISTNER, E. Molecular characterization of a seed transmitted clavicipitaceous fungus occurring on dicotyledoneous plants (Convolvulaceae). **Planta**, v. 224, n. 1, p. 533-544, 2006.

WEBER, J. M.; MA, T. S. Microchemical Investigations of Medicinal Plants XIII. **Mikrochimica Acta**, v. 1, n. 1, p. 217-225, 1976.

WEBER, J. M.; MA, T. S. Microchemical Investigations of Medicinal Plants XIV. **Mikrochimica Acta**, v. 1, n. 1, p. 227-242, 1976.

WEBER, J. M.; MA, T. S. Microchemical Investigations of Medicinal Plants XV. **Mikrochimica Acta**, v. 1, n. 1, p. 581-588, 1976.

WEST, J. B.; HURLEY, J. M.; EHLERINGER, J. R. Stable Isotope Ratios of Marijuana. I. Carbon and Nitrogen Stable Isotopes Describe Growth Conditions. **Journal of Forensic Sciences**, v. 54, n. 1, p. 84-89, 2009.