

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS, CROMATOGRÁFICAS E  
TERMOGRAVIMÉTRICAS COM USO POTENCIAL NO PROCESSO DE  
RASTREABILIDADE DE *CANNABIS SATIVA* L.**

**Mariana Fernandes Ramos  
(Tese de doutorado)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS, CROMATOGRÁFICAS E  
TERMOGRAVIMÉTRICAS COM USO POTENCIAL NO PROCESSO DE  
RASTREABILIDADE DE *CANNABIS SATIVA* L.**

MARIANA FERNANDES RAMOS

Tecnóloga em Gestão Ambiental (IFSul-Rio-Grandense Campus Pelotas)

Mestre em Recursos Hídricos (UFPEl)

Tese apresentada como  
um dos requisitos à obtenção do  
Grau de Doutora em Ciência do Solo

Porto Alegre (RS) Brasil  
Abril de 2020

### CIP - Catalogação na Publicação

Ramos, Mariana Fernandes  
TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS, CROMATOGRÁFICAS E  
TERMOGRAVIMÉTRICAS COM USO POTENCIAL NO PROCESSO DE  
RASTREABILIDADE DE CANNABIS SATIVA L. / Mariana  
Fernandes Ramos. -- 2020.  
104 f.  
Orientador: Flávio Anastácio de Oliveira Camargo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência do Solo, Porto Alegre, BR-RS,  
2020.

1. Biologia e Bioquímica Forense. I. Camargo,  
Flávio Anastácio de Oliveira, orient. II. Título.

MARIANA FERNANDES RAMOS

Tecnóloga em Gestão Ambiental (IFSul-Rio-Grandense)  
Mestre em Recursos Hídricos (UFPel)

## TESE

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

## **DOCTORA EM CIÊNCIA DO SOLO**

Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo

Faculdade de Agronomia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em:  
Pela Banca Examinadora



FLÁVIO ANASTÁCIO DE OLIVEIRA CAMARGO  
Orientador-PPG Ciência do Solo

Homologado em: 05/08/2020  
Por



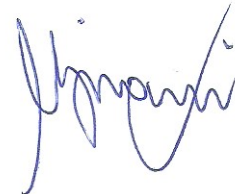
ALBERTO VASCONCELLOS INDA JUNIOR  
Coordenador do  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciência do Solo

ALBERTO VASCONCELLOS INDA JUNIOR  
PPG Ciência do Solo  
UFRGS  
(através de videoconferência)

ENILSON LUIZ SACCOL DE SÁ  
PPG Ciência do Solo  
UFRGS  
(através de videoconferência)

MAURO SANDER FETT  
Departamento de Polícia Federal  
(através de videoconferência)

RAFAEL SCORSATTO ORTIZ  
Departamento de Polícia Federal  
(através de videoconferência)



CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade  
de Agronomia

Ofereço esta tese à Deus em  
agradecimento pelas incontáveis e  
imerecidas bênçãos, por ter me  
acolhido e guiado, especialmente  
nos momentos difíceis.

*Christo nihil præponere.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Flávio A. de Oliveira Camargo, pela orientação e ajuda nesses quatro anos,

Ao Prof. Dr. Marco Ferrão, por toda a ajuda com as análises espectroscópicas,

Ao Prof. Dr. Tales Tiecher, pela ideia de trabalhar com análises espectroscópicas,

Ao Prof. Dr. Luis Eduardo Akiyoshi Sanches Suzuki, meu orientador de mestrado, Professor exemplar e amigo querido, por toda a ajuda que me dá,

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Deborah Pinheiro Dick, pelas atribuições dos grupos funcionais encontrados nos espectros de ATR das amostras do Colorado e pela amabilidade com que sempre me tratou durante todo meu doutorado,

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Pereira Limberger por ceder o LC-MS para a análise das amostras de *Cannabis* do Brasil,

Ao colega João A. Coblinski pela inestimável ajuda com a análise estatística,

Ao Laboratório Multiusuário de Análise Térmica (LAMAT) da UFRGS, onde fiz as análises de ATR e DRIFT das amostras do Brasil,

À Dr<sup>a</sup>. Fernanda Rodrigues Salazar e à Sabrina Laíz Büttenbender da faculdade de Farmácia da UFRGS pela análise das amostras de *Cannabis* em LC-MS,

Ao Dustin Gordon Seifried, por compartilhar tanto conhecimento comigo, ser meu professor de química por um ano e me ajudar com a análise no HPLC-DAD,

Ao Prof. Dr. Chad A. Kinney, pela oportunidade única de trabalhar no seu laboratório e pela boa vontade que sempre teve e tem em ajudar,

Ao Dr. Nebojsa Jaksic pela gentileza em me ceder seu analisador termogravimétrico,

À Colorado State University-Pueblo, por ter me recebido tão bem durante o doutorado sanduíche,

À CAPES e ao Edital CAPES PRÓ-FORENSES 25/2014 pela concessão da bolsa de doutorado e de doutorado sanduíche,

À minha família pelo apoio e carinho, meu muito obrigada!

# TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS, CROMATOGRÁFICAS E TERMOGRAVIMÉTRICAS COM USO POTENCIAL NO PROCESSO DE RASTREABILIDADE DE *CANNABIS SATIVA* L.<sup>1</sup>

**Autor:** Mariana Fernandes Ramos

**Orientador:** Prof. Flávio Anastácio de Oliveira Camargo

## RESUMO

A maconha, *Cannabis* seca e moída, é a droga ilícita mais consumida no mundo. Diversos efeitos indesejáveis e riscos à saúde humana são causados pelo uso dessa droga, cuja composição química ainda é pouco conhecida, assim como são os possíveis efeitos sinérgicos que os mais diversos elementos que a compõem podem apresentar. Apesar disso, diversos países vêm flexibilizando suas leis a respeito da compra, venda, posse e consumo de maconha, o que não impede o tráfico dessa droga, que apresenta uma tendência de crescimento no Brasil, Estados Unidos da América e União Europeia, por exemplo. Com isso, se faz necessária a avaliação de metodologias capazes de rastrear a origem geográfica de amostras apreendidas, a fim de identificar locais de cultivos ilícitos e redes de tráfico, e erradicá-los. Deste modo, foram testadas técnicas espectroscópicas (Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflexão Total Atenuada - ATR-FTIR e Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa - DRIFT), cromatográficas (Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrômetro de Massas - LC-MS e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Detector de Arranjo de Diodos - HPLC-DAD), e termogravimétrica (TGA), com o objetivo de avaliar sua capacidade para rastrear a origem geográfica de *Cannabis* e do solo em que foram cultivadas no Brasil e nos Estados Unidos da América, e indicar a técnica mais eficiente, ou seja, aquela com alta acurácia, rapidez no preparo de amostras, baixo (ou nulo) consumo de insumos para a análise das amostras, baixa (ou nula) geração de resíduos e baixo custo de análise. Considerando-se os resultados obtidos, assim como o tempo de preparação de amostra e de tempo de análise, insumos necessários para realizar as análises, rejeitos gerados (quando aplicável), e as técnicas avaliadas, a ATR-FTIR é a indicada para o rastreamento de *Cannabis* pois apresentou acurácias acima de 90% (de forma geral), requer pouca preparação de amostra, não é destrutiva, não exige insumos, não gera resíduos, e o custo por análise é muito baixo. A mesma análise é recomendada para o rastreamento de solo, podendo ser empregado na área forense.

Palavras-chave: origem geográfica, rastreamento, *Cannabis*.

---

<sup>1</sup> Tese de doutorado em Ciência do Solo. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (104p). Abril, 2020. A presente tese teve apoio financeiro da CAPES.

# SPECTROSCOPIC, CHROMATOGRAPHIC AND THERMOGRAVIMETRIC TECHNIQUES WITH POTENTIAL USEFULNESS TO *CANNABIS SATIVA* L. TRACEABILITY PROCESS<sup>2</sup>

**Author:** Mariana Fernandes Ramos

**Advisor:** Prof. Flávio Anastácio de Oliveira Camargo

## ABSTRACT

Marijuana, dried and ground *Cannabis*, is the most consumed illicit drug in the world. Many undesirable and risky effects to human health are caused by its use. Also, its chemical composition is not very well known, and the same goes for the possible synergic effects that the various elements in its composition could present. In spite of that, many countries have been rendering their laws more flexible as to marijuana purchase, sale, possession and consumption. This fact does not prevent this drug's trafficking, which has had an increasing tendency in Brazil, in the United States of America and in the European Union, for instance. Therefore, the evaluation of methodologies capable of tracing the geographical origin of seized samples, in order to point out drug trafficking networks and eradicate them is incrementally necessary. Consequently, the objective of this study was to test spectroscopic (Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy - ATR-FTIR and Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy - DRIFT), chromatographic (Liquid Chromatography–Mass Spectrometry - LC-MS and High Performance Liquid Chromatography–Diode Array Detector - HPLC-DAD) and thermogravimetric (TGA) techniques in order to assess their capability to trace the geographical origin of *Cannabis* and of the soil where it was cultivated in Brazil and in the United States of America, as well as indicate the most efficient technique, i.e., the one with high accuracy, sample preparation promptness, low (or zero) basic material consumption for the analyses of samples, low (or zero) residue generation, low cost of analysis. Considering the obtained results, the sample preparation time and the analysis time, the required basic materials to perform the analyses and the generated residues (when applicable), ATR-FTIR was the best technique for *Cannabis* tracing since it presented over 90% accuracy (overall) and it requires very little sample preparation. It is also not a destructive technique, it does not require basic materials nor does it generate residues, and the cost per analysis is low. The same analysis is recommended for soil tracing, which could even be employed in the forensic field.

Keywords: geographical origin, traceability, *Cannabis*.

---

<sup>2</sup> Doctoral dissertation in Soil Science. Graduate Program in Soil Science, College of Agronomy, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (104p). April, 2020. The present dissertation was carried out with financial support from CAPES.



## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....  | 1  |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....   | 3  |
| <b>2.1 Legislação acerca do uso de <i>Cannabis</i></b> .....                        | 6  |
| 2.1.1 O antes e o depois da flexibilização do uso de <i>Cannabis</i> no mundo ..... | 8  |
| <b>2.2 Componentes químicos e aspectos medicinais da <i>Cannabis</i></b> .....      | 11 |
| 2.2.1 Canabinoides .....  | 12 |
| 2.2.2 Terpenos.....   | 14 |
| <b>2.3. Biossíntese de canabinoides e terpenos</b> .....                            | 17 |
| <b>2.4 Diferenciação entre os tipos ‘droga’ e ‘fibra’</b> .....                     | 19 |
| <b>2.5 Rastreamento: definição, objetivos e aplicações</b> .....                    | 21 |
| <b>2.6. Determinação da rastreabilidade de <i>Cannabis</i></b> .....                | 22 |
| 2.6.1 Técnicas cromatográficas .....  | 23 |
| 2.6.2 Espectroscopia no infravermelho médio .....                                   | 24 |
| 2.6.3 Análise termogravimétrica.....  | 27 |
| <b>2.7. Análise estatística para a rastreabilidade de <i>Cannabis</i></b> .....     | 27 |
| <b>3. OBJETIVOS</b> .....   | 29 |
| <b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....  | 30 |
| <b>4.1 Amostras provenientes do Brasil</b> .....                                    | 30 |
| 4.1.1 Análises espectroscópicas.....  | 32 |
| 4.1.2 Análise cromatográfica .....  | 33 |
| 4.1.3 Análises estatísticas .....   | 34 |
| <b>4.2 Amostras provenientes dos Estados Unidos da América</b> .....                | 35 |
| 4.2.1 Análise espectroscópica .....   | 38 |
| 4.2.2 Análise cromatográfica .....  | 39 |
| 4.2.3 Análise termogravimétrica.....  | 39 |
| 4.2.4 Análises estatísticas .....   | 40 |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....  | 42 |
| <b>5.1 Amostras provenientes do Brasil</b> .....                                    | 42 |
| 5.1.1 Análises espectroscópicas.....  | 42 |
| 5.1.2 Análise cromatográfica (LC-MS).....   | 48 |
| <b>5.2 Amostras provenientes dos Estados Unidos da América</b> .....                | 58 |

|  |           |
|--|-----------|
| 5.2.1 Análise espectroscópica (ATR).....     | 58        |
| 5.2.2 Análise cromatográfica (HPLC-DAD)..... | 65        |
| 5.2.3 Análise termogravimétrica (TGA).....   | 68        |
| <b>6. CONCLUSÕES.....</b>                    | <b>75</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>   | <b>76</b> |
| <b>8. APÊNDICES .....</b>                    | <b>99</b> |

## RELAÇÃO DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Códigos, tipos e grupos das amostras de <i>Cannabis</i> e de solo do Brasil para a realização da LDA. P=planta, SR=solo rizosférico, SNR=solo não-rizosférico, G=grupo.....            | 34 |
| <b>Tabela 2.</b> Código das amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado, seus pontos amostrais, origem geográfica e variedades. ....  | 36 |
| <b>Tabela 3.</b> Informações de análise utilizadas na ATR para as análises das amostras de <i>Cannabis</i> e de solo do Colorado. ....  | 39 |
| <b>Tabela 4.</b> Códigos, tipos e grupos das amostras de planta e de solo do Colorado para a LDA.....   | 41 |
| <b>Tabela 5.</b> Atribuição dos principais grupos funcionais encontrados nas amostras de planta do Brasil por ATR.....  | 43 |
| <b>Tabela 6.</b> Distribuição das amostras de <i>Cannabis</i> do Brasil nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos pela ATR.....                   | 45 |
| <b>Tabela 7.</b> Distribuição das amostras de 2014 e de 2017 de <i>Cannabis</i> do Brasil nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos pela ATR..... | 45 |
| <b>Tabela 8.</b> Distribuição das amostras de <i>Cannabis</i> do Brasil nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos por DRIFT. ....                 | 49 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Tabela 9.</b> Distribuição das amostras de solo do Brasil nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos por DRIFT .....              | 51  |
| <b>Tabela 10.</b> Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) dos canabinoides detectados em amostras de apreensão de <i>Cannabis</i> do Brasil. ....   | 54  |
| <b>Tabela 11.</b> Teste-t das concentrações de canabinoides quantificados por LC-MS a partir de amostras de <i>Cannabis</i> do Brasil. ....   | 56  |
| <b>Tabela 12.</b> Distribuição das amostras de <i>Cannabis</i> do Brasil nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos pela LC-MS. .... | 56  |
| <b>Tabela 13.</b> Atribuição dos principais grupos funcionais encontrados nas amostras de planta do Colorado por ATR.....   | 60  |
| <b>Tabela 14.</b> Distribuição das amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos por ATR. ....  | 61  |
| <b>Tabela 15.</b> Atribuição dos principais grupos funcionais encontrados nas amostras de solo do Colorado por ATR.....   | 64  |
| <b>Tabela 16.</b> Distribuição das amostras de solo do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos por ATR.....              | 64  |
| <b>Tabela 17.</b> Concentração de canabinoides nas amostras do Colorado... ..   | 671 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Tabela 18.</b> Teste-t das concentrações de canabinoides quantificados por HPLC-DAD a partir de amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado.....   | 67  |
| <b>Tabela 19.</b> Distribuição das amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos pela HPLC-DAD. ....  | 68  |
| <b>Tabela 20.</b> Percentagem de perdas de componentes das amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado entre as faixas de 90 a 200 °C e de 200 a 700 °C. ....   | 70  |
| <b>Tabela 21.</b> Distribuição das amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA. ....  | 71  |
| <b>Tabela 22.</b> Distribuição das amostras de solo do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA. ....   | 74  |
| <b>Tabela 23.</b> Códigos das amostras, tipo de amostra e coordenadas geográficas dos pontos de coletas das amostras provenientes do Brasil. C= código do grupo de amostras de mesma origem geográfica; CA=código da amostra; PA=parte aérea; SR=solo rizosférico; SNR=solo não-rizosférico. .... | 99  |
| <b>Tabela 24.</b> Códigos das amostras, tipo de amostra e coordenadas geográficas dos pontos de coletas das amostras provenientes dos Estados Unidos da América. C= código do grupo de amostras de mesma origem geográfica; CA=código da amostra; PA=parte aérea; SNR=solo não-rizosférico.....   | 101 |
| <b>Tabela 25.</b> Distância aproximada entre os pontos amostrais do Brasil e dos Estados Unidos da América. PA=pontos amostrais; DA=distância aproximada. ....  | 102 |

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Quantidade de maconha apreendida no Brasil, Estados Unidos e União Europeia (kg/ano). Dados obtidos do website da Polícia Federal do Brasil, da United States Drug Enforcement Administration e do Statistical Bulletin 2019 elaborado pelo European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Disponível em: <<http://www.pf.gov.br/imprensa/estatistica/drogas>>; <<https://www.dea.gov/cannabis-eradication>> e <<http://www.emcdda.europa.eu/data/stats2019/szr>>. .....5
- Figura 2.** Frequência de consumo de maconha por uruguaios entre 2001 e 2014. Adaptado de Uruguai (2016). .....8
- Figura 3.** Rotas biossintéticas de canabinoides, terpenos, lignanas e flavonoides em *Cannabis*. Adaptado de Andre, Hausman & Guerriero (2016). ..... 17
- Figura 4.** Biossíntese e degradação de 10 subclasses de canabinoides. Adaptado de Berman et al. (2018). ..... 18
- Figura 5.** Quimiotipos de *Cannabis*. Adaptado de Cascini & Boschi (2017). .....20
- Figura 6.** Pontos de coleta das amostras de 2014 (em amarelo) e 2017 (em vermelho). .....31
- Figura 7.** Pontos de coleta das amostras do Colorado. ....36
- Figura 8.** Espectro de ATR de amostras de *Cannabis* provenientes da apreensão de 2014 (a) e 2017 (b) no Brasil, com 32 scans, resolução 4 cm<sup>-1</sup> e número de onda entre 4000 a 500 cm<sup>-1</sup>. .....43

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 9.</b> Espectros das amostras de <i>Cannabis</i> de 2014 (a) e 2017 (b) do Brasil analisadas por DRIFT, 64 scans, resolução 4 cm <sup>-1</sup> , número de onda entre 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> .                         | 47 |
| <b>Figura 10.</b> Espectros das amostras de solo de 2014 (a) e 2017 (b) do Brasil analisadas por DRIFT, 64 scans, resolução 4 cm <sup>-1</sup> , número de onda entre 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> .                                   | 51 |
| <b>Figura 11.</b> Espectros das amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado analisadas por ATR com 32 scans, resolução 4 cm <sup>-1</sup> , número de onda 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> .  | 58 |
| <b>Figura 12.</b> Espectros das amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado analisadas por ATR com 100 scans, resolução 2 cm <sup>-1</sup> (a) e 100 scans, resolução 4cm <sup>-1</sup> (b), número de onda 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . | 59 |
| <b>Figura 13.</b> Espectro das amostras de solo do Colorado analisadas por ATR com 32 scans, resolução 4 cm <sup>-1</sup> , número de onda 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> .  | 62 |
| <b>Figura 14.</b> Espectro das amostras de solo do Colorado analisadas por ATR com 100 scans, resolução 2 cm <sup>-1</sup> (a) e 100 scans, resolução 4 cm <sup>-1</sup> (b), número de onda 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> .            | 63 |
| <b>Figura 15.</b> Resultado da TGA: amostras de <i>Cannabis</i> do Colorado agrupadas.  | 69 |
| <b>Figura 16.</b> Resultado da TGA: amostras de solo do Colorado agrupadas.   | 73 |
| <b>Figura 17.</b> Percentagem de perdas de componentes das amostras de solo do Colorado entre 40 e 700 °C.  | 74 |

## 1. INTRODUÇÃO

*Cannabis sativa* L. é a fonte da droga recreacional conhecida por maconha, a droga mais consumida no mundo, sendo proibida na maioria dos países. Apesar disso, os dados atuais revelam que no Brasil a Polícia Federal apreendeu mais de 250 toneladas de maconha somente no ano de 2018 e aproximadamente 50 toneladas em 2019. A estimativa mundial de usuários da droga era de aproximadamente 188 milhões em 2017. Esse panorama está se agravando e é denunciado pela publicação de diversos estudos comprovando que, mundialmente, a potência da droga vem aumentando ao longo dos anos por meio de seleção e melhoramentos genéticos da planta, e com isso degradando a saúde física e mental do usuário devido a possíveis modificações morfológicas no cérebro, paranoia, acidente cerebral isquêmico, e aumentando os casos de crimes associados à droga.

Até o momento já foram identificados aproximadamente 500 compostos na *Cannabis*. Seus principais constituintes são os canabinoides e os terpenos, sendo que o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) é geralmente o principal alvo de análise dos pesquisadores devido à sua ação psicoativa em humanos. Dependendo da concentração de THC na planta e/ou da sua proporção com os canabinoides cannabidiol (CBD) e cannabinol (CBN), a *Cannabis* pode ser classificada como droga ou fibra. Conforme a sua composição e a legislação de cada país, a *Cannabis* pode ser utilizada na fabricação de medicamentos para aliviar dores neuropáticas crônicas, para tratar epilepsia, para estimular o apetite de pacientes com AIDS ou câncer, etc. A legislação brasileira vigente permite, com ressalvas, a prescrição de medicamentos registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) à base de derivados de *C. sativa*, exclusivamente por médicos, para uso humano.



A repressão ao tráfico de drogas se intensifica em países como o Brasil, onde o tráfico nacional e internacional é favorecido pelo seu extenso território e numerosas fronteiras, sendo vizinho de alguns países produtores de *Cannabis*. A fim de controlar e erradicar o cultivo de *Cannabis* e o tráfico das drogas provenientes desta planta, vários países buscam formas de realizar seu rastreamento e tornar mais eficaz o seu controle. As hipóteses da presente tese são que bordagens biogeoquímicas empregando análises cromatográficas, espectroscópicas, termogravimetria e análise discriminante linear dos dados são capazes de relacionar a planta com o local de cultivo; e que as técnicas cromatográficas proporcionam melhores resultados por se tratarem de análises quantitativas bem estabelecidas em diversas áreas da ciência, inclusive a forense, enquanto as espectroscópicas e a termogravimétrica nunca foram utilizadas para este fim e supõe-se que sejam potencialmente empregadas para rastrear a origem geográfica de *Cannabis*. Desta forma, o objetivo do trabalho é avaliar potenciais indicadores para rastrear a origem de amostras da parte aérea de *Cannabis* e do solo onde elas foram cultivadas, provenientes de duas apreensões da Polícia Federal do Brasil, assim como de empresas legais produtoras de *Cannabis* no Colorado, Estados Unidos da América, a partir de análises realizadas por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflectância difusa (DRIFT), cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas (LC-MS), cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD), análise termogravimétrica (TGA), e análise estatística dos dados por análise discriminante linear (LDA). Espera-se identificar a técnica mais eficiente, ou seja, aquela com alta acurácia na classificação das amostras quanto a sua origem geográfica, rapidez no preparo de amostras, baixo (ou nulo) consumo de insumos para a análise das amostras, baixa (ou nula) geração de resíduos, e baixo custo de análise, e com isso propor a base para um sistema de rastreamento de *Cannabis*.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Maconha, uma droga produzida a partir de *Cannabis sativa* L., é a droga ilícita mais consumida mundialmente, apesar de seu uso e cultivo serem proibidos na maioria dos países (El-Deftar et al., 2015); no entanto, o cultivo de plantas de *Cannabis* foi reportado em 145 países entre 2010 e 2016 (United Nations Office on Drugs and Crime, 2018).

*C. sativa* é uma planta anual que pertence a família Cannabaceae (Fischedick et al., 2010), é mono específica e é dividida em subespécies (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*, *Cannabis sativa* subsp. *indica*, *Cannabis sativa* subsp. *ruderalis*, *Cannabis sativa* subsp. *spontanea*, *Cannabis sativa* subsp. *kafristanca*) (Hill, 1983; United Nations Office on Drugs and Crime, 2009; Farag & Kayser, 2017). Muitas variedades atualmente destinadas ao uso recreativo ou medicinal são híbridas dos diversos morfotipos de *Cannabis sativa* subsp. *sativa* e *Cannabis sativa* subsp. *indica* (Fischedick et al., 2010).

Testes clínicos feitos com *C. sativa*, assim como com canabinoides puros e análogos sintéticos demonstraram eficácia como analgésicos para a dor neuropática crônica, como estimulantes de apetite para pacientes com câncer ou AIDS, e para os sintomas de esclerose múltipla (Fischedick et al., 2010). Atividades terapêuticas e profiláticas são atribuídas ao chá de *Cannabis*, geralmente preparado e consumido de forma artesanal, que é utilizado como remédio para aliviar febres e estresse (Hazekamp et al., 2007). Contudo, não há consenso científico sobre a possível atividade psicoativa do chá. Alguns pesquisadores mencionam que o processo para preparar o chá não é suficiente para descarboxilar o(s) canabinoide(s) ácido(s) presente(s) em amostras cruas de *Cannabis* (MacCallum & Russo, 2018), conseqüentemente, a quantidade de  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC ou THC) – o principal canabinoide de ação psicoativa – seria baixa, logo, a ação psicoativa do chá também seria menor ou

inexistente (Giroud et al., 2000). Outros pesquisadores afirmam que a conversão dos canabinoides ácidos para seus equivalentes neutros seria quase completa devido ao calor que deve ser empregado na preparação do chá (Hazekamp et al., 2007), o que aumentaria a concentração dos canabinoides neutros, como o THC, aumentando a atividade psicoativa do chá, dependendo de quais canabinoides estão presentes.

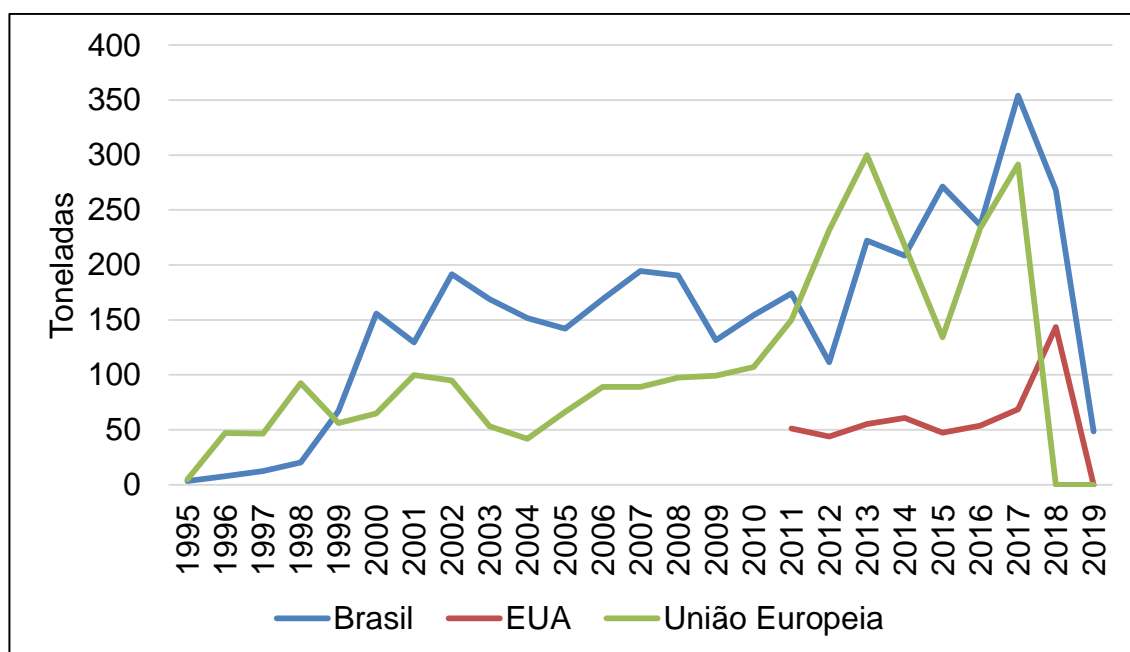
Desde 2003 os Países Baixos vêm permitindo a distribuição de *Cannabis* medicinal padronizada, como o medicamento Bedrocan®, para pacientes com prescrição médica (Hazekamp, 2006). Outro fitofármaco, Sativex®, consiste da mistura de dois extratos de *C. sativa* ricos em THC e canabidiol (CBD), e é empregado no tratamento dos sintomas de esclerose múltipla (Barnes, 2006). Por outro lado, o uso indiscriminado de *Cannabis* pode causar uma série de efeitos indesejáveis e perigosos, como modificações na morfologia do cérebro (Lorenzetti et al., 2015), paranoia (Freeman et al., 2015) e acidente cerebral vascular isquêmico (Mateo et al., 2005).

A identificação da origem de plantas de *C. sativa* é de grande importância para a identificação de locais de cultivo ilícito e para a investigação de redes de tráfico da planta e de drogas derivadas (como maconha e haxixe), assim como em circunstâncias em que esses elementos estão presentes como evidência de crimes (El-Defdar et al., 2015). De acordo com Shibuya et al. (2006), a maior parte das informações obtidas sobre rotas de tráfico de drogas provém de usuários de drogas e traficantes. Logo, a identificação e o rastreamento de plantas de *Cannabis* e suas drogas derivadas por meio de métodos científicos é crucial para o seu controle e erradicação.

Plantas de *C. sativa* são ilegalmente cultivadas junto com cultivos agrícolas no Brasil a fim de dificultar sua identificação via monitoramento aéreo (Shibuya et al., 2007a). No entanto, o número de apreensões de sementes de *Cannabis* enviadas pelo correio tem aumentado (Borille et al., 2017). Apesar do cultivo de *Cannabis* e o uso de maconha serem proibidos no país, a quantidade de maconha apreendida pela Polícia Federal do Brasil mostra uma tendência de crescimento desde 1995, continuamente ultrapassando 200 t desde 2013, e 350 t em 2017 (Figura 1).

Apesar de a série temporal da quantidade de maconha apreendida nos Estados Unidos da América ser menor, o que dificulta a interpretação dos dados,

ainda é possível observar uma tendência de crescimento nas quantidades apreendidas. A maior quantidade de maconha apreendida se deu em 2017 apesar de diversos estados terem mudado suas legislações em anos anteriores, legalizando o uso recreacional e/ou medicinal de *Cannabis* (Figura 1). A quantidade total de maconha apreendida em países membro da União Europeia também mostra uma tendência de crescimento, similar ao Brasil e aos Estados Unidos da América (Figura 1).



**Figura 1.** Quantidade de maconha apreendida no Brasil, Estados Unidos e União Europeia (kg/ano). Dados obtidos do website da Polícia Federal do Brasil, da United States Drug Enforcement Administration e do Statistical Bulletin 2019 elaborado pelo European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Disponível em: <<http://www.pf.gov.br/imprensa/estatistica/drogas>>; <<https://www.dea.gov/cannabis-eradication>> e <<http://www.emcdda.europa.eu/data/stats2019/szr>>.

Na Argentina a quantidade de maconha apreendida desde dezembro de 2015 até julho de 2017 foi de 189 toneladas (Argentina, 2019); e no Canadá, nas fronteiras, esta quantidade foi de 0,497 toneladas no ano fiscal de 2017-2018 e de 0,412 toneladas no ano fiscal de 2018-2019 (Canadá, 2019a).

Segundo United Nations Office on Drugs and Crime (2019), havia 188 milhões de usuários de maconha em 2017 e aproximadamente 5.109 toneladas da planta e 1.161 toneladas de resina (haxixe) de *Cannabis* foram apreendidas

no mesmo ano ao redor do mundo, com a quantidade apreendida aumentando 7% em 2017, enquanto que o de resina diminuiu 31% em relação ao ano anterior.

## 2.1 Legislação acerca do uso de *Cannabis*

No Brasil, a primeira legislação referente à determinação de quais substâncias são consideradas tóxicas entorpecentes, a fiscalização do seu comércio, a regulação da entrada destas substâncias no país, e ao estabelecimento de penas data de 1932, com o Decreto nº 20.930. Neste decreto, há referência a *Cannabis indica* como sendo uma substância tóxica entorpecente, assim como “seus sais, congêneres, compostos e derivados, inclusive especialidades farmacêuticas correlatas”, juntamente com o ópio, morfina, cocaína, entre outras. O Decreto-Lei nº 891, de 25 de novembro de 1938 inclui “o cânhamo *Cannabis sativa*”, além da subespécie *indica*, na lista de substâncias entorpecentes, sendo estas plantas proibidas no país para o plantio, cultivo, colheita e exploração. A Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998 aprova o regulamento técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Nela, a planta “*Cannabis sativum*” compõe a Lista E, a lista de plantas que podem originar substâncias entorpecentes e/ou psicotrópicas, e o THC compõe a Lista F2 de substâncias psicotrópicas, inserida na Lista F, a lista das substâncias de uso proscrito no Brasil.

A Lei nº 11.343, de 23 de agosto de 2006 institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas (Sisnad), atualiza a definição de crimes, dá as respectivas penas, entre outras providências. O artigo 28 dessa lei dá penas para “Quem adquirir, guardar, tiver em depósito, transportar ou trazer consigo, para consumo pessoal, drogas sem autorização ou em desacordo com determinação legal ou regulamentar ...” e para quem, para consumo próprio, semeia, cultiva ou colhe plantas capazes de causar dependência física ou psíquica. No artigo 33 há penas de reclusão e multa para quem “Importar, exportar, remeter, preparar, produzir, fabricar, adquirir, vender, expor à venda, oferecer, ter em depósito, transportar, trazer consigo, guardar, prescrever, ministrar, entregar a consumo ou fornecer drogas, ainda que gratuitamente, sem autorização ou em desacordo com determinação legal ou regulamentar”.

Na Resolução-RDC nº 3, de 26 de janeiro de 2015, o CBD foi incluído na lista C1 - lista das outras substâncias sujeitas a controle especial (sujeitas a Receita de Controle Especial em duas vias). Quatro meses depois, a Resolução-RDC nº 17 de 6 de maio de 2015 entra em vigor e muda o cenário legal, sendo a primeira resolução a definir os critérios e procedimentos para a importação, em caráter excepcional, de produtos com base em CBD em associação com outros canabinoides, para uso pessoal de pessoas físicas, com prescrição médica de um profissional legalmente qualificado, para tratamentos de saúde.

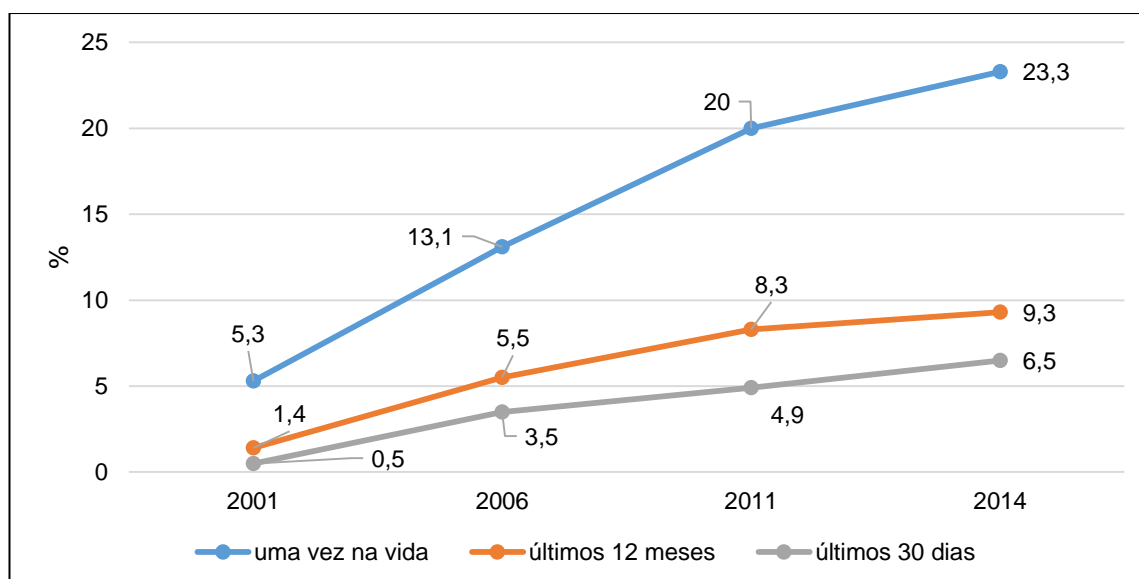
A Resolução DC/ANVISA nº 66 de 18 de março de 2016 atualiza o Anexo I - Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial da Portaria nº 344 de 12 de maio de 1998, em relação a prescrição de medicamentos registrados na Anvisa cuja composição inclui a planta *Cannabis sp.*, suas partes ou substâncias obtidas a partir dela, incluindo o THC, assim como em relação a prescrição de produtos que possuam CBD e/ou THC, a serem importados por pessoa física, para uso próprio, para tratamento de saúde, mediante prescrição médica. Por fim, a Resolução-RDC nº 130, de 2 de dezembro de 2016 permite a prescrição de medicamentos registrados na Anvisa à base de derivados de *C. sativa*, exclusivamente por médicos, destinados, portanto, ao uso humano, e dá limites máximos de concentração de THC e de CBD presentes nesses medicamentos.

No âmbito internacional, o uso medicinal e/ou recreacional também está sendo flexibilizado ao longo dos anos em diversos países. O Uruguai regulou a importação, produção, aquisição, armazenamento, comercialização e distribuição de maconha e outros derivados de *Cannabis* com a Lei nº 19.172 de 20 de dezembro de 2013. A Argentina regulou o uso medicinal de *Cannabis* e seus derivados em 2017 com a Lei nº 27.350. Na União Europeia requer-se que a planta inteira de *Cannabis* seja controlada de acordo com as leis de cada país membro; alguns países membros abrem exceções para plantas com um conteúdo máximo de THC de até 0,2% se forem cultivadas para produção de fibras (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2018). Os Estados Unidos da América legalizaram o cultivo de *Cannabis* do tipo fibra com teor de THC máximo de 0,3% em nível nacional com o *Agriculture Improvement Act* de 2018, no entanto, cada estado possui suas próprias leis. O Canadá,

também em 2018, legalizou a posse, compartilhamento, aquisição, cultivo e produção de *Cannabis*, com o *Cannabis Act*.

### 2.1.1 O antes e o depois da flexibilização do uso de *Cannabis* no mundo

Em relação a América do Sul, até 2016 a maconha ainda era a substância mais consumida no Uruguai, sendo preferida em relação ao álcool, tabaco e tranquilizantes (com ou sem prescrição médica) (Uruguai, 2016). O número de uruguaios usuários de maconha nas três categorias mostradas na Figura 2 aumentou entre 2001 e 2014. A legalização da maconha no país não parece ter surtido efeito algum no comportamento dos usuários, já que o número de usuários estava aumentando desde antes de a lei entrar em vigor em 2013. O Uruguai possuía uma população estimada em 3,386 milhões em 2011 e 3,420 milhões em 2014, portanto, quase 800.000 pessoas usaram maconha pelo menos uma vez em suas vidas e mais que 222.000 usaram maconha nos últimos 30 dias, em relação à data da pesquisa feita no país, em 2014.



**Figura 2.** Frequência de consumo de maconha por uruguaios entre 2001 e 2014. Adaptado de Uruguai (2016).

No Brasil, segundo a Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2015, 4,1% dos estudantes na 9ª série do ensino fundamental fumaram maconha nos últimos 30

dias anteriores a aplicação da pesquisa. Em relação ao consumo de maconha por adultos, uma estimativa feita em 2015 mostra que aproximadamente 2,744 milhões de pessoas usam maconha mensalmente (Silva et al., 2016). Em 2018, 4.617 pessoas estavam autorizadas a importar medicamentos com base em *Cannabis* para consumo medicinal próprio (Mori, 2018).

Na Argentina quase 20% das pessoas entrevistadas eram usuárias de maconha em 2004, seguido de um aumento considerável, chegando a 27,6% dois anos depois. O número de usuários diminuiu e em 2010 era menor que 18% (Argentina, 2011). Considerando que a Argentina regulou o uso medicinal de *Cannabis* em 2017 e não foi possível encontrar dados mais recentes de consumo de maconha pela população, não há como verificar se essa regulação impactou esse consumo de alguma forma.

Na América do Norte, no Canadá, a prevalência do uso de *Cannabis* entre consumidores com 15 anos de idade ou mais velhos aumentou após a legalização em 2018 nas províncias de Newfoundland and Labrador, Saskatchewan, Ontario, Prince Edward Island, New Brunswick, e Quebec, enquanto que nas províncias de Nova Scotia, British Columbia, Manitoba, e Alberta o uso diminuiu<sup>3</sup>. Durante o primeiro quadrimestre de 2018, 327.999 pessoas relataram o uso de *Cannabis* pela primeira vez nos três meses prévios à pesquisa; esse número quase dobrou no mesmo período de 2019, pós legalização, chegando a 646.000 pessoas que usaram maconha pela primeira vez. A quantidade de homens que são usuários diários ou quase diários no Canadá é maior do que a de mulheres (8% versus 5%) (Canadá, 2019b).

Nos Estados Unidos da América, onde os estados têm legislação própria, destaca-se uma pesquisa realizada no Colorado em 2017 que mostrou que um em cada cinco jovens usa maconha. Esse número se manteve estável desde 2013. O uso entre os adultos aumentou de 13,6% em 2016 a 15,5% em 2017, com um aumento significativo entre aqueles na faixa de idade entre 18 e 34 anos. A quantidade de adultos nas faixas de idade de 18 a 25 anos e 26 a 34 anos que usam maconha atualmente (no momento em que a pesquisa estava sendo realizada) aumentou no mesmo período, assim como o uso diário ou quase diário de adultos nessas mesmas faixas etárias (Salley, 2018).

---

<sup>3</sup> Informação disponível em: <https://www.cbc.ca/news/health/cannabis-use-statistics-canada-1.5121125>. Acessado em 30 de julho de 2019.



No Alasca, uma pesquisa realizada em 2008-2009 e outra em 2013-2014 mostram que a percepção de grande risco em usar maconha mensalmente diminuiu, enquanto que o uso de maconha pela primeira vez aumentou entre as pesquisas feitas em 2008-2009 e 2014-2015, mas o uso mensal de maconha permaneceu estável. As pessoas na faixa etária entre 18 e 25 anos são as que mais consomem maconha nas categorias 'uso no último mês', 'uso no último ano' e 'primeiro uso anual'. O abuso ou dependência de maconha foi um fator citado em 5% das hospitalizações masculinas e 4% das femininas em 2016 (Alaska, 2016).

No estado de Washington, 14% ( $\pm 1\%$ ) dos adultos usaram maconha nos últimos 30 dias (prévios à pesquisa) em 2016; essa prevalência aumentou desde 2011. Mais homens adultos relatam o uso de maconha em relação às mulheres (15% ( $\pm 1\%$ ) versus 11% ( $\pm 1\%$ )) durante 2014-2016. No mesmo período, jovens entre 18 e 24 anos são os que mais consomem maconha. Já para o uso medicinal, o número total de permissões criadas entre 1º de julho de 2016 e 30 de julho de 2017 aumentou mensalmente, de 5.754 para 23.327. Essas tendências de consumo de maconha são também encontradas nos estados de Oregon, Distrito de Columbia, Massachusetts e Michigan.

No México, em 2016, a droga ilegal de maior consumo nas categorias 'alguma vez na vida' e 'no último ano' foi a maconha (8,6% e 2,1%, respectivamente), e em ambos os casos se registrou um aumento significativo em relação a pesquisa anterior feita em 2011. A maconha também foi a droga ilícita mais apreendida entre 2012 e 2018, com mais de 4,6 milhões de toneladas, seguida da metanfetamina e da cocaína, com 123,5 e 52,2 toneladas, respectivamente (México, 2019).

É possível observar duas fortes tendências que ocorrem nos estados/países analisados: a prevalência do uso de maconha por homens e jovens, especialmente entre 18 e 24 anos. Essa prevalência masculina já foi estudada e estatisticamente comprovada (Carliner et al., 2017; Cuttler, Mischley & Sexton, 2016), no entanto, os mecanismos biológicos por trás desse fenômeno ainda não estão claros, já que faltam estudos comparando usuários do sexo feminino e do sexo masculino (Calakos et al., 2017).

Outro ponto que se destaca é a opinião desses adolescentes e jovens adultos a respeito do consumo de maconha. Nos Estados Unidos da América,

em nível nacional, o risco percebido por adolescentes associado ao uso de maconha diminuiu de 58% em 2005 para 36,1% em 2014 (Michigan, 2015). A prevalência dos jovens no consumo de maconha, encontrada nos dados expostos anteriormente, pode afetar suas vidas tanto a curto quanto a longo prazo, considerando que há evidências de alterações neuroanatômicas no cérebro de usuários de maconha (Brumback et al., 2016). Os lóbulos frontais no cérebro, essenciais para diversas aptidões como regulação emocional, planejamento e organização, continuam a se desenvolver entre a adolescência e a juventude adulta (Sowell et al., 1999) e podem ter sua formação afetada pelo consumo de maconha.

Em relação ao número de usuários no mundo, as Américas, em 2017, continuaram sendo o continente com maior consumo anual de *Cannabis*, com uma estimativa de 56,590 milhões de usuários distribuídos na América do Norte (44,630 milhões), América do Sul (10,040 milhões), Caribe (1,040 milhões) e América Central (880 mil), seguida da Ásia, com aproximadamente 54,210 milhões de usuários, da África, com aproximadamente 44,900 milhões de usuários, Europa com 29,410 milhões e a Oceania com 2,840 milhões (United Nations Office on Drugs and Crime, 2019).

## **2.2 Componentes químicos e aspectos medicinais da *Cannabis***

A planta de *Cannabis* contém um grande número de fitoquímicos que são altamente variáveis, e novos compostos são identificados frequentemente (Weston-Green, 2018). No Reino Plantae, os tricomas glandulares são as estruturas que realizam a biosíntese e/ou sequestro de diversos metabólitos secundários (Potter, 2009). Em *Cannabis* essas estruturas são responsáveis pela produção e armazenamento de canabinoides (Schachtsiek et al., 2018), também denominados fitocanabinoides a fim de distinguí-los dos canabinoides sintéticos e endocanabinoides (Berman et al., 2018) (ligantes endógenos dos receptores de canabinoides, o CB1 e CB2 (Piscitelli, 2015)), e de terpenos (Zager et al., 2019), que compõem os óleos essenciais de *Cannabis* e de diversas outras plantas, que são empregados na indústria alimentícia (Wang et al., 2008) e farmacêutica (Zhang, Nielsen & Liu, 2017).

### 2.2.1 Canabinoides

O primeiro relato acerca da atividade das substâncias presentes em *Cannabis* data de 1897. Uma comunicação preliminar (*preliminary communication*) foi publicada a respeito da atividade do canabinol (CBN) em humanos (Marshall, 1897). Pouco tempo depois, em 1899, análises químicas possibilitaram o isolamento desse canabinoide (Wood, Spivey & Easterfield, 1899), e em 1940 a estrutura química do CBN foi estabelecida por Adams, Baker & Wearn. No mesmo ano, a estrutura do CBD também estava sendo elucidada (Adams et al., 1940). O THC também estava sendo isolado, em resina de *Cannabis sativa* (Wollner et al., 1942). Atualmente, há aproximadamente 500 compostos relatados, e dentre esses há aproximadamente 100 que pertencem a classe dos canabinoides (ElSohly & Gul, 2014). O ácido tetrahydrocanabinólico (THCA ou ácido-THC) (Verhoeckx et al., 2006), e o canabigerol (CBG) têm importantes efeitos terapêuticos sem causar as atividades psicoativas típicas do THC (Politi et al., 2008); o THCA, por exemplo, reduz a viabilidade de células de carcinoma da próstata (Moreno-Sanz, 2016), o CBG age como neuroprotetor contra neuroinflamação e estresse oxidativo (Gugliandolo et al., 2018), além de significativamente inibir a atividade da aldose redutase – uma enzima-chave em complicações relacionadas a diabetes (Smeriglio et al., 2018).

Os componentes de *C. sativa* mais pesquisados são o THC, o CBD e o CBN. Burstein (2015), no seu estudo sobre as estruturas conformacionais do CBD e THC, explica que ao contrário do THC, o CBD não se liga nem ativa o receptor CB1, o que resulta na ausência de psicoatividade. No entanto, outros pesquisadores afirmam que o CBD teria uma fraca afinidade e apresentaria baixa atividade agonista nos receptores CB1 e CB2 (Pelz et al., 2017; Vilela et al., 2017). O CBD é o canabinoide mais estudado para propósitos medicinais devido as suas características anticonvulsivantes (Leo, Russo & Elia, 2016), sua habilidade em bloquear ansiedade e de mitigar os efeitos deletérios à memória causados pelo THC (Sirven, 2013). O CBN, diferentemente dos demais canabinoides, não está presente em plantas de *Cannabis* biologicamente ativas, logo, é considerado um indicador da idade e/ou degradação da planta (Dujourdy & Besacier, 2017) após sua colheita. O CBN apresentaria fraca atividade

psicoativa resultante de uma fraca afinidade com o receptor CB1 que seria 10 vezes mais baixa em comparação com o THC (Thomas & ElSohly, 2016).

Além dos medicamentos Sativex® e Bedrocan®, mencionados anteriormente, há outras formulações disponíveis no mercado. Por exemplo, Marinol® e Syndros®, cujo ingrediente ativo é o dronabinol ( $\Delta^9$ -THC sintético), são usados para tratar a perda de apetite em pessoas com AIDS, e para tratar náusea e vômitos causados por quimioterapia; Cesamet® tem nabilone (um análogo sintético do  $\Delta^9$ -THC) como ingrediente ativo e é também utilizado para esse fim. Epidiolex®, um medicamento a base de CBD, foi aprovado em 2018 pela *Food and Drug Administration of the United States of America* e é indicado para o tratamento de convulsões associadas a síndrome de Lennox-Gastaut ou síndrome de Dravet em pacientes a partir de 2 anos de idade. De acordo com o website da GW Pharmaceuticals<sup>4</sup>, a companhia está esperando pela decisão da *European Medicines Agency* a respeito da liberação para a venda do Epidiolex® nos países membro da União Europeia.

As concentrações relativas dos principais constituintes de *Cannabis* (THC, CBD e CBN) variam consideravelmente dependendo de fatores como variedade genética da planta (sendo esse o principal fator), o ambiente (a quantidade e intensidade de luz solar ou artificial, o solo, e a temperatura) no qual a planta foi cultivada (Fetterman et al., 1971; Ohlsson et al., 1971), armazenamento por longos períodos e/ou em condições inadequadas, já que o THC oxida gradualmente, formando CBN (Shibuya et al., 2006) depois que a planta é colhida. Adicionalmente, o teor de THC é diferente em cada parte da planta de *Cannabis*, e diminui na seguinte ordem: brácteas, flores, folhas, caules pequenos, caules grandes, raízes e sementes (Fetterman et al., 1971).

Entre o conjunto de compostos químicos encontrados em plantas de *Cannabis*, os canabinoides têm características únicas que chamam a atenção dos pesquisadores, seja pela sua atividade, biodisponibilidade, e/ou pelas precauções que devem ser tomadas a fim de qualificar e quantificá-los, considerando que a conversão dos canabinoides ácidos em neutros causados pelo calor deve ser considerada ao planejar uma análise como a cromatografia

---

<sup>4</sup> Informação disponível em: <<http://ir.gwpharm.com/news-releases/news-release-details/gw-pharmaceuticals-plc-reports-financial-results-and-operational>>. Acessado em 16 de julho de 2019.

gasosa (Peschel & Politi, 2015). Por exemplo, o THCA descarboxila em temperaturas próximas a 103 °C, e conseqüentemente forma THC (Politi et al., 2008). Peschel & Politi (2015) comentam que ao realizar a preparação das amostras e análise a frio, a planta e seus extratos mantêm o conjunto original de canabinoides ácidos e neutros.

Considerando que diversos canabinoides como o THCA, CBDA, CBN, THC, CBD, têm seu ponto de ebulição ou descarboxilação entre aproximadamente 90 °C e 200 °C<sup>5</sup>, dois principais fatores devem ser considerados ao analisar *Cannabis*: (a) a polaridade do solvente utilizado, que deve ser capaz de extrair os compostos de interesse e deve ser compatível com a instrumentação analítica empregada, e (b) a temperatura usada para as etapas de extração e de análise devido à sensibilidade ao calor apresentada pelos canabinoides (Politi et al., 2008).

### 2.2.2 Terpenos

Os terpenos consistem de hidrocarbonetos com fórmula  $(C_5H_8)_n$  (Yadav, Yadav, & Goyal, 2014), formados a partir de moléculas de isopreno. Terpenos têm múltiplos papéis ecológicos nas plantas: atraem insetos polinizadores, agem contra patógenos como bactérias, fungos e mofo, e ainda repelem herbívoros (Nuutinen, 2018). Todos os terpenos – inclusive os metabólitos primários e mais de 25.000 compostos secundários – derivam do isopentenil difosfato (IPP) (Croteau, Kutchan & Lewis, 2000), e diversos deles degradam e/ou têm seu ponto de fusão entre aproximadamente 90 °C e 200 °C<sup>6</sup>.

A classificação dos terpenos é baseada no número de unidades com 5 carbonos que eles contêm (Croteau, Kutchan & Lewis, 2000), como: hemiterpenos ( $C_5$ ), monoterpenos ( $C_{10}$ ), sesquiterpenos ( $C_{15}$ ), diterpenos ( $C_{20}$ ), sesterterpenos ( $C_{25}$ ), triterpenos ( $C_{30}$ ), tetraterpenos ( $C_{40}$ ), e politerpenos ( $C_n$ ) (Bilia et al., 2014; Galata, Sarker & Mahmoud, 2014). De acordo com Petrović, Stojković & Soković (2019), os termos 'terpeno' e 'terpenoide' são frequentemente usados alternadamente na literatura, no entanto, referem-se a

---

<sup>5</sup> Informação disponível em: <https://www.steePhill.com/science/cannabinoids>. Acessado em 13 de julho de 2019.

<sup>6</sup> Informação disponível em: <https://praxis-laboratory.com/terpene-analysis/>. Acessado em 16 de julho de 2019.

diferentes compostos químicos: 'terpenos' são hidrocarbonetos, enquanto 'terpenoides' identificam terpenos que contêm diferentes grupos funcionais (Perveen, 2018), como oxigênio na forma de hidroxila, éter, aldeído, cetona, ou porções carboxílicas na sua estrutura (Bilia et al., 2014). Terpenos, como classe, não podem ser identificados como metabólitos primários ou secundários, já que alguns terpenos são considerados parte do primeiro grupo e outros do segundo (Petrović, Stojković & Soković, 2019).

Os principais compostos que determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais são os terpenos e terpenoides, fenilpropanoides, e derivados de hidrocarbonetos alifáticos de cadeia curta (Bilia et al., 2014). Mono- e sesquiterpenos são os grupos mais comumente encontrados no óleo essencial de *Cannabis*, compondo até 97,6% do seu conteúdo total (Bedini et al., 2016). Os monoterpenos mirceno, alfa-pineno, limoneno e linalool, assim como os sesquiterpenos beta-cariofileno, alfa-humuleno, bisabolol e (*E*)-beta-farneseno são comuns em *Cannabis* (Booth & Bohlmann, 2019).

Um estudo realizado por Rufino et al. (2015) a respeito de osteoartrite usando condrócitos humanos como modelos, mostrou que mirceno e limoneno podem inibir a produção de óxido nítrico, um mediador proinflamatório e procatabólico que amplifica a destruição de cartilagem, induzida pela interleucina-1beta, uma citocina proinflamatória que possui um importante papel no desenvolvimento e progressão da doença. Mirceno foi mais potente em inibir a produção de óxido nítrico e em prevenir outras respostas inflamatórias e catabólicas em condrócitos humanos (Rufino et al., 2015). Gulluni et al. (2018) encontrou que limoneno, beta-cariofileno e mirceno causam aumento das ondas de alfa e theta em nível de atividade do sistema nervoso central, evidenciando a existência de um efeito relaxante, antidepressivo e antiansiedade. Limoneno também protege as células de estresse oxidativo causado pela adição exógena de peróxido de hidrogênio (Ravichandran et al., 2018). Em peixes, mirceno e linalool possuem ação anestésica (Mirghaed, Ghelichpour & Hoseini, 2016).

Alfa-humuleno e óxido de cariofileno aumentam os efeitos anti-proliferativos do 5-fluorouracil (droga citostática) e da oxaliplatina (1,2-diaminocyclohexaneoxalato-platinum) em algumas linhas celulares de câncer (Ambrož et al., 2019). Beta-cariofileno, humuleno e especialmente óxido de cariofileno podem enibir, até certo ponto, a atividade de citocromos P4503A

(CYP3A) em fígado humano; esses citocromos metabolizam aproximadamente 50% de todos os medicamentos, então inibir sua atividade pode resultar em interações medicamento-sesquiterpeno, levando a resultados indesejáveis, no entanto, esse efeito precisa ser verificado *in vivo* (Nguyen et al. 2017).

O (-)-alfa-Bisabolol tem um efeito nefroprotetor em isquemia/reperfusão renal (Sampaio et al. 2016). Linalool reverte as marcas histopatológicas da doença de Alzheimer e restitui as funções emocional e cognitiva (Sabogal-Guáqueta, Osorio & Cardona-Gómez, 2016). Ademais, o linalool possui um efeito anticâncer via estresse oxidativo específico do câncer, mostrando potencial para aplicação na terapia de câncer de cólon (Iwasaki et al., 2016).

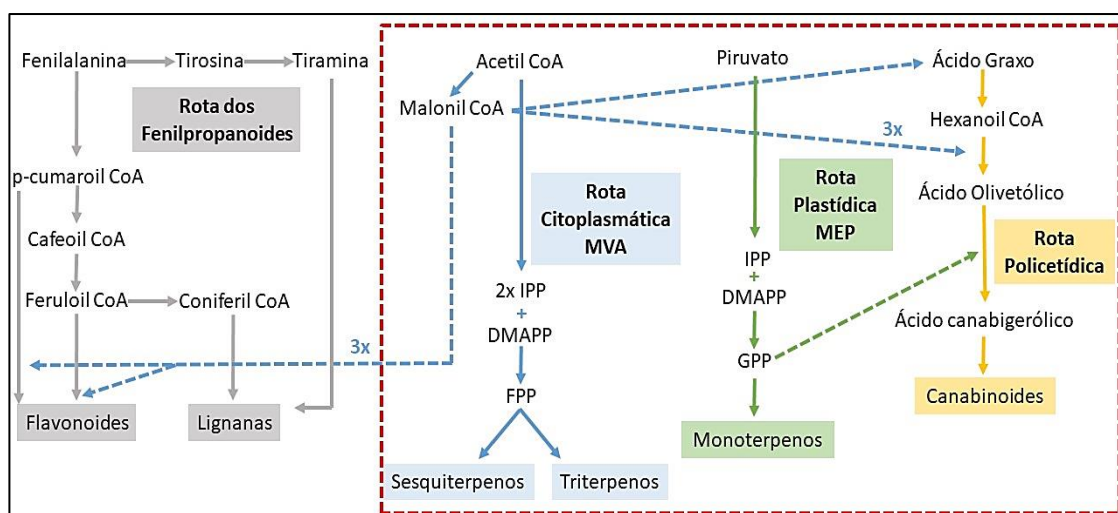
O (*E*)-beta-farneseno, por outro lado, é amplamente estudado nos campos da Biologia e da Agronomia devido às suas interações com outros compostos em plantas e até mesmo insetos e outros animais. Não há pesquisas disponíveis sobre seus efeitos na saúde humana especificamente, mas Patel & Gogna (2015) reuniram importantes informações sobre óleos essenciais, as plantas que os dão origem, seus componentes biológicos, e suas atividades em linhas de células de câncer, onde o beta-farneseno é frequentemente uma das principais substâncias que compõem os óleos essenciais com efeitos anticâncer.

A sinergia que pode ocorrer entre os compostos químicos de *Cannabis*, como canabinoides e terpenos, é chamado na literatura internacional de *entourage effect*, ou efeito sinérgico. A análise dos componentes de *Cannabis* é fundamental já que as suas concentrações e interações podem resultar em efeitos medicinais ou adversos (Berman et al., 2018) para a saúde humana. Ben-Shabat et al. (1998) foram pioneiros no estudo do efeito sinérgico em atividade endógena de canabinoides, e também foram os primeiros a usar esse termo em inglês. De acordo com as evidências apresentadas pelo estudo realizado por Nallathambi et al. (2018), duas frações extraídas de *C. sativa* – uma composta primariamente por THCA, e a outra por CBGA – apresentaram interação sinérgica de atividade citotóxica contra células de câncer de cólon. Para Blasco-Benito et al. (2018), medicamentos padronizados de *Cannabis*, ao invés de canabinoides puros, poderiam fazer parte de recursos terapêuticos para o tratamento de câncer de mama. Bonn-Miller et al. (2018) alertam para as limitações do conhecimento acerca do efeito sinérgico, considerando que até o

momento não está claro quais compostos são responsáveis e quais efeitos farmacodinâmicos da *Cannabis* podem advir dele.

### 2.3. Biossíntese de canabinoides e terpenos

A biossíntese de canabinoides em *Cannabis* foi elucidada há poucos anos (Andre, Hausman & Guerriero, 2016). Os precursores dos canabinoides se originam de duas rotas biosintéticas distintas: a rota policetílica, que gera o ácido olivetólico (OLA), e a rota plastídica 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP), que sintetiza o geranyl difosfato (GPP) (Sirikantaramas et al., 2007) (Figura 3). O OLA é formado a partir do hexanoil-CoA, derivado de um ácido graxo hexanoato de cadeia curta (Stout et al., 2012), por condensação aldólica com três moléculas de malonil-CoA. Essa reação é catalisada pela enzima policetídio sintase (PKS) e pela ácido olivetólico ciclase (OAC) (Gagne et al., 2012). A geranyl pirofosfato: olivetolato geranyl transferase catalisa a alquilação de OLA com GPP levando à formação do CBGA, o precursor central de diversos canabinoides (Fellermeier & Zenk, 1998).



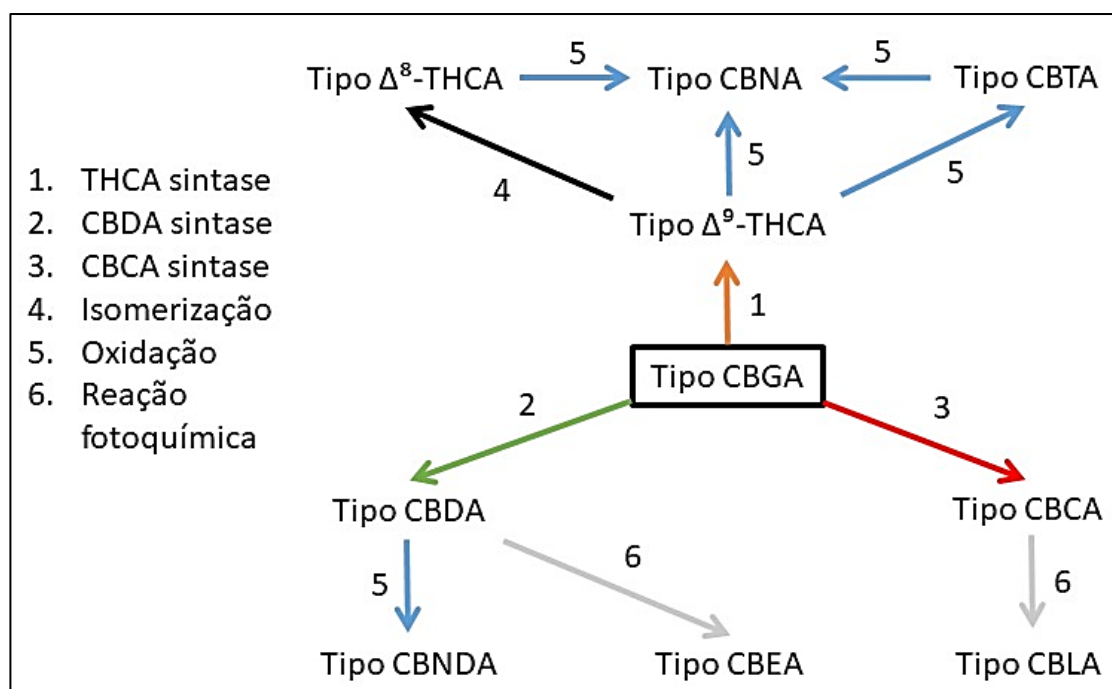
**Figura 3.** Rotas biosintéticas de canabinoides, terpenos, lignanas e flavonoides em *Cannabis*. Adaptado de Andre, Hausman & Guerriero (2016).

De acordo com Pereira et al. (2018), o IPP e seu isômero alílico, o difosfato de dimetilalilo (DMAPP), condensam e formam difosfatos de prenilo (GPP), farnesil difosfatos (FPP), e geranyl geranyl difosfato (GGPP), compostos que são precursores lineares de vários terpenos. O IPP e o DMAPP são



unidades de 5 carbonos (C<sub>5</sub> – isopreno) oriundas de duas rotas: a do mevalonato e a do metileritritol fosfato (MEP) (Singh & Sharma, 2015). Após, a enzima terpeno sintase e/ou ciclase completa a formação dos terpenos, que podem ser modificados depois (Petrović, Stojković & Soković, 2019). Triterpenos são sintetizados pela via do mevalonato, enquanto que os hemi-, mono-, di-, e tetraterpenos via MEP (Oldfield & Lin, 2012) (Figura 3).

Os canabinoides são biosintetizados como derivados de ácidos carboxílicos conhecidos como ácidos canabinoides (Fischedick et al., 2010). Esses ácidos se degradam, formando seus homólogos neutros devido a ação de luz e calor, logo, a duração e condições de armazenamento (Taura et al., 2007a) podem influenciar na conversão desses canabinoides ácidos em neutros. Tanto o THC quanto o CBD são derivados do ácido canabigerólico (CBGA), via conversão do THCA e do ácido canabidiólico (CBDA), respectivamente (United Nations Office on Drugs and Crime, 2009). Três oxidociclases são responsáveis pela diversidade de canabinoides: a THCA sintase (THCAS) converte CBGA em THCA, a CBDA sintase (CBDAS) forma CBDA, e a CBCA sintase (CBCAS) produz CBCA (Figura 4) (Sirikantaramas et al., 2004, 2005; Taura et al., 2007b).



**Figura 4.** Biossíntese e degradação de 10 subclasses de canabinoides. Adaptado de Berman et al. (2018).

Os canabinoides vêm sendo classificados em 11 subclasses de acordo com suas estruturas químicas: (1) CBG, (2)  $\Delta^9$ -THC, (3) CBD, (4) cannabicromeno (CBC), (5) CBN, (6)  $\Delta^8$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^8$ -THC), (7) cannabicitrol (CBL), (8) cannabinodiol (CBND), (9) cannabielsoin (CBE), (10) cannabitrilol (CBT), e (11) tipos miscelâneos (Berman et al 2018).

#### 2.4 Diferenciação entre os tipos ‘droga’ e ‘fibra’

Até 1971 se conhecia, genericamente, dois tipos de *Cannabis*: um sendo usado como droga e o outro usado por causa de suas fibras (Fetterman et al., 1971). A fim de quantitativamente identificar os quimiotipos de *Cannabis*, Fetterman et al. (1971) realizaram a avaliação quimiotaxonômica da planta e, identificando dois quimiotipos, propuseram pela primeira vez uma equação que os descrevesse, sendo essa:

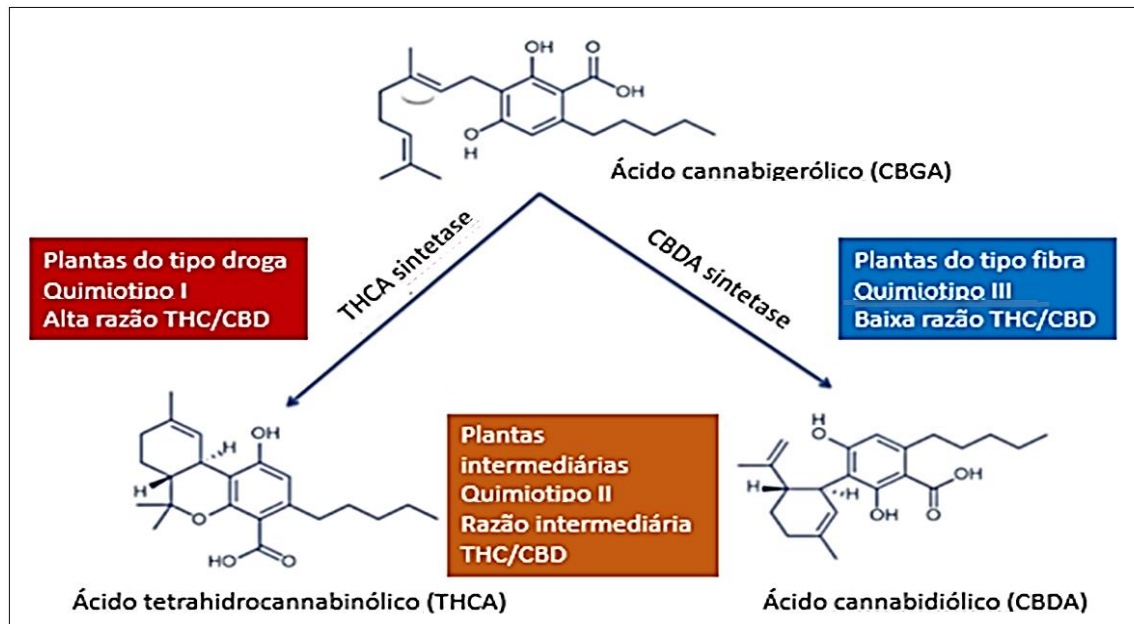
$$\text{Razão fenotípica} = \frac{\% \Delta^9 \text{THC} + \% \text{CBN}}{\% \text{CBD}}$$

Esses autores separaram os quimiotipos em fenótipo I, um tipo ‘droga’, quando a amostra apresenta uma razão fenotípica maior que 1, ou seja, níveis mais altos de THC e CBN, e um fenótipo II, um tipo ‘fibra’, onde a razão fenotípica é menor que 1 e há uma presença maior de CBD em comparação aos outros dois canabinóides (Fetterman et al., 1971). Stefanidou et al. (1998) explicam que o somatório dos conteúdos de THC e CBN seria similar ao conteúdo ‘total’ de THC na planta, independentemente de quaisquer degradações que possam ter ocorrido. Outra forma de classificar amostras de *Cannabis* em tipo fibra ou tipo droga é a percentagem de THC presente.

Small & Beckstead (1973) relacionaram pela primeira vez as percentagens de THC e CBD, e não uma razão fenotípica, com três quimiotipos de *Cannabis*: o tipo I, composto de plantas macho e fêmea com concentrações de THC maiores que 0,3% e de CBD menores que 0,5%; o tipo II, em que as plantas possuem altas concentrações tanto de THC (>0,3%) quanto de CBD (>0,5%); e o tipo III, composto por plantas com teores de CBD maiores que 0,5% e de THC menores que 0,3%. O tipo III foi considerado pelos autores como não

psicotomimético devido às baixas concentrações de THC, ademais, a classificação em tipo II ou tipo III feita por eles distingue plantas com altos teores de CBD que não são psicotomiméticas daquelas que também têm altos teores de CBD mas que pelo menos as plantas fêmeas são consideradas psicotomiméticas. Percebe-se com isso que a concentração de THC é mais determinante do que a de CBD na classificação de *Cannabis* quanto ao seu quimiotipo, e o valor máximo de 0,3% de THC encontrado por Small & Beckstead (1973) é usado na legislação de muitos países ainda hoje.

Grotenhermen & Russo (2002) também relatam três quimiotipos de *Cannabis*: um tipo droga, caracterizado pela presença de THC na faixa de 1-20% em maconha e haxixe, o que indica psicoatividade; um tipo fibra, característico de fibras e óleos comestíveis, em que o CBD é mais abundante que o THC e o teor desse último não ultrapassa 0,3%, não havendo efeito alucinógeno; e um tipo intermediário, em que o conteúdo de THC varia entre 0,3-1%. A Figura 5 exemplifica algumas relações entre esses fenótipos químicos segundo Grotenhermen & Russo (2002).



**Figura 5.** Quimiotipos de *Cannabis*. Adaptado de Cascini & Boschi (2017).

De acordo com o manual *Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products* do United Nations Office on Drugs and Crime (2009), se a proporção [THC+CBN] : [CBD] obtida a partir da área dos picos de um cromatograma for menor do que 1, então a planta é

classificada como fibra, mas se for maior que 1 então é tipo droga. É importante levar em consideração que Broséus, Anglada & Esseiva (2010) utilizaram essa fórmula para diferenciar mudas de *Cannabis* em tipo fibra e em tipo droga e encontraram que 0,6% das amostras de tipo fibra e 7,5% das amostras de tipo droga foram classificadas erroneamente.

Hillig & Mahlberg (2004) realizaram um estudo quimiotaxonômico sobre a variação de canabinoides em diferentes populações e tipos de *Cannabis*, identificando altas concentrações em dois biotipos de *Cannabis sativa* subsp. *indica*, enquanto que as plantas *Cannabis sativa* subsp. *sativa* apresentaram níveis relativamente baixos desse canabinoide. Os quimiotipos I, II e III foram encontrados tanto em plantas subespécie *indica* quanto subespécie *sativa*, porém, menos de 25% dos indivíduos de subespécie *sativa* pertenciam ao quimiotipo I, enquanto que mais de 25% da população *indica* foi classificada como quimiotipo I. As plantas *Cannabis sativa* subsp. *ruderalis* possuíram as menores concentrações de THC.

A caracterização e identificação do quimiotipo de plantas de *Cannabis* cultivadas em estufa a partir de sementes apreendidas pela Polícia Federal do Brasil foi feita por Borille (2016), apresentando o perfil químico de amostras de *Cannabis* apreendidas no Brasil.

## 2.5 Rastreamento: definição, objetivos e aplicações

O termo 'rastreamento' (ou *traceability*) é definido como “a habilidade de descobrir informações sobre onde e como um produto foi feito” ou “a habilidade de descobrir ou seguir algo”<sup>7</sup>. O rastreamento vem sendo amplamente utilizado nas mais diversas áreas e geralmente tem o objetivo de mapear um determinado elemento dentro de uma cadeia de processos, a fim de garantir sua qualidade e procedência, bem como aumentar seu valor comercial. O objetivo, porém, pode variar conforme o caso.

O evento que inspirou a primeira ideia de rastreamento data de 1275, na Inglaterra, quando uma doença epizoótica que durou 28 anos se alastrou e

---

<sup>7</sup> Tradução própria. Original: “the ability to discover information about where and how a product was made” e “the ability to find or follow something”. Cambridge Dictionary, disponível em: <<https://dictionary.cambridge.org/dictionary/english/traceability>>. Acessado em 20 ago 2019.

começaram as suspeitas de que tudo se iniciara devido a uma ovelha infectada trazida da Espanha. Séculos mais tarde, na Itália, outra doença epizootica ocorreu por causa de um boi infectado proveniente da Hungria. Com a tecnologia disponível nas épocas foi possível realizar a conexão entre as doenças e suas origens (Blancou, 2001).

Atualmente, há procedimentos e leis nacionais e internacionais norteando o rastreamento de bens como alimentos e medicamentos. A ONU lançou em 2014 o guia chamado *A guide for traceability: a practical approach to advance sustainability in global supply chains* com o objetivo de explicitar a importância do rastreamento para propósitos sustentáveis, as oportunidades globais e os possíveis desafios, assim como resumir os passos práticos para implantar programas de rastreamento nas empresas. A *International Organization for Standardization* (ISO) publicou a norma 9001:2015 para ajudar as empresas a implementarem o rastreamento nas suas cadeias de produção, sejam elas quais forem, para melhorar sua eficiência e encontrar novas possibilidades de mercado. A União Europeia passou a exigir o rastreamento de alimentos destinados a humanos e a animais a partir da publicação da Regulação nº 178 de 2002, a fim de garantir a segurança alimentar. No Brasil temos a Resolução da Diretoria Colegiada nº 157 de 2017 da Anvisa, que dispõe sobre a implantação do Sistema Nacional de Controle de Medicamentos e os mecanismos e procedimentos para rastreamento de medicamentos e dá outras providências.

## **2.6. Determinação da rastreabilidade de *Cannabis***

Existe uma grande variedade de normas, procedimentos, legislações e pesquisas sobre a rastreabilidade de medicamentos e alimentos no geral. No entanto, estudos disponíveis sobre o rastreamento de drogas ainda são escassos, o que configura um grande problema sobretudo à medida que mais estados e países vêm legalizando o cultivo de *Cannabis*, bem como a distribuição e/ou o consumo de maconha. Tendo isto em vista, apresenta-se a seguir algumas análises que podem ser utilizadas na rastreabilidade desses materiais ilícitos.

### 2.6.1 Técnicas cromatográficas

A cromatografia líquida (*liquid chromatography* - LC) é uma técnica de separação dos componentes de amostras com base na diferença entre as afinidades ou força de retenção desses componentes pela fase estacionária e fase móvel<sup>8</sup>. Após passar pela fase estacionária o eluato (fase móvel que deixa a coluna cromatográfica) é direcionado para o espectrômetro de massas (*mass spectrometer* - MS), que opera convertendo as moléculas do analito (substância de interesse que será identificada e/ou quantificada) a um estado carregado (ionizado), com subsequente análise dos íons e de eventuais íons fragmentados que podem ser produzidos durante o processo de ionização, com base na sua razão massa/carga ( $m/z$ ) (Pitt, 2009).

Em relação a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (*high performance liquid chromatography–diode array detector* - HPLC-DAD), a primeira seção do instrumento difere daquela de um equipamento de cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas (LC-MS) por empregar pressão, fazendo com que o eluente (fase móvel da cromatografia que interage com a amostra e promove a separação dos componentes) passe mais rapidamente pela coluna. Arranjos de diodos (dispositivos semicondutores) são utilizados na unidade de detecção. O DAD detecta absorções na região do ultravioleta e do visível, e tem múltiplos arranjos de diodos para obter informação a partir de uma vasta gama de comprimentos de onda ao mesmo tempo<sup>9</sup>.

A LC-MS é amplamente utilizada em diversas áreas, como na análise de ocitocina em plasma sanguíneo humano (Franke et al., 2018), análise de glicoproteínas (Grünwald-Gruber & Altmann, 2019), análise de antocianinas (Grace et al., 2019), entre outros. Da mesma forma, pesquisadores de variadas áreas utilizam a HPLC-DAD na análise de quercetina em chá (Ulosoy et al.,

---

<sup>8</sup> Informação disponível no website da empresa Shimadzu no seguinte link: <[https://www.shimadzu.com/an/lcms/support/fundamental/ms\\_and\\_lcms.html](https://www.shimadzu.com/an/lcms/support/fundamental/ms_and_lcms.html)>. Acessado em 08 de janeiro de 2020.

<sup>9</sup> Informação disponível no website da empresa Hitachi no seguinte link: <<https://www.hitachi-hightech.com/global/products/science/tech/ana/lc/basic/course7.html>>. Acessado em 09 de janeiro de 2020.

2019), melanomas (Rioux et al., 2019) e determinação da dinâmica da vitamina C em células (Miyazawa, Matsumoto & Miyahara, 2019).

O limite de detecção e o limite de quantificação são importantes fatores em análises cromatográficas. O primeiro é conceitualmente definido como a menor quantidade de uma substância que pode ser distinguida da sua ausência, e depende do limite de detecção do próprio equipamento e do limite do método empregado (Browne & Whitcomb, 2010). O segundo é definido como o menor valor de um analito presente em uma amostra que pode ser determinado com segurança, e que a incerteza do resultado se encontre dentro de limites estipulados pelo laboratório ou pelo fabricante do método (se for o caso) (Browne & Whitcomb, 2010).

### 2.6.2 Espectroscopia no infravermelho médio

O infravermelho é uma parte do espectro eletromagnético definida por frequência, ou seja, pelo número de ciclos de onda passando por um determinado ponto em determinado tempo. Essa frequência pode ser medida em Hertz (Hz, número de ciclos por segundo), comprimento de onda ( $\lambda$ , comprimento de um ciclo de onda completo), geralmente expresso em nanômetros (nm), ou o seu correspondente inversamente proporcional: o número de onda, que representa a frequência espacial de ondas e é medido em ciclos de onda por distância, sendo frequentemente expresso em centímetros recíprocos ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Allison, 2011).

Segundo Sridharan (2016), quando a radiação infravermelha atinge uma molécula e é absorvida, uma mudança na vibração e rotação da molécula ocorre. Essas vibrações podem ser classificadas como de estiramento (*stretching*) ou dobramento (*bending*). A primeira pode ser simétrica ou assimétrica, enquanto que a segunda pode ser chamada de dobramento “no plano” ou “fora do plano”. Pode-se fazer uma analogia entre a energia envolvida no estiramento ou dobramento de uma ligação em uma molécula e aquela necessária para fazer o mesmo em uma mola. Da mesma forma que é necessário empregar mais energia para esticar uma mola do que para encolhê-la, também é preciso mais energia para ocorrer o estiramento em uma ligação molecular, fazendo com que esse tipo de vibração se dê em números de onda maiores em comparação com

as vibrações de dobramento; seguindo a mesma lógica, as vibrações assimétricas requerem mais energia do que as simétricas (Sridharan, 2016).

A região do infravermelho é dividida em infravermelho próximo (*near infrared* - NIR), encontrada na faixa de aproximadamente 750 a 2.500 nm (ou 4.000 a 12.000  $\text{cm}^{-1}$ ) (Huck, 2015), em infravermelho médio (*mid infrared* - MIR), ocorrendo na faixa de 2.500 a 25.000 nm (ou 4.000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ) (Türker-Kaya & Huck, 2017), e em infravermelho distante (*far infrared* - FIR), manifestando-se na faixa de 10.000 a 1.000.000 nm (ou 400 a 40  $\text{cm}^{-1}$ ) (Komiya et al., 2000). Segundo Allison (2011), as ligações em uma molécula não são rígidas, e tanto os seus comprimentos quanto os seus ângulos variam em relação a uma posição média e vibram com frequências específicas. Moléculas covalentes absorvem energia no infravermelho quando a frequência da energia se correlaciona com a frequência vibracional de uma ligação química dentro da molécula. Segundo Batten (1998), moléculas podem absorver fótons cuja energia absorvida eleva a sua energia eletrônica, rotacional e vibracional, e com isso pode ter seu estado energético aumentado além do primeiro nível (fundamental) para o segundo ou terceiro níveis energéticos mais altos e assim por diante, e com isso produzir o primeiro, segundo sobretons, etc. A região do MIR é onde ocorre a absorção de energia do tipo fundamental, e a região do NIR é onde geralmente ocorre o primeiro e segundo sobretons (Cozzolino, 2009).

O conhecimento acerca do MIR foi sendo cada vez mais aprofundado e atualmente quase todos os equipamentos modernos de medição no MIR utilizam a transformada de Fourier, uma função matemática criada por Jean-Baptiste Joseph Fourier, apresentada em detalhes por Griffiths & Haseth (2006), para transformar a informação recebida pelo detector a partir da função de tempo para a função de frequência, e formar um espectro interpretável. Entre essas inovações, a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (*attenuated total reflectance Fourier transform infrared* – ATR) e a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflectância difusa (*diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy* – DRIFT) são mais amplamente utilizadas.

As grandes vantagens da utilização da espectroscopia no infravermelho são as análises rápidas, não-destrutivas (Borille et al., 2017) e de baixo custo, não havendo necessidade de utilizar reagentes. Essa abordagem é



particularmente interessante no caso de experimentos que envolvem *Cannabis*, já que a possibilidade de não destruir as amostras e com isso poder reutilizá-las posteriormente em outras análises é fundamental, uma vez que as amostras disponíveis são geralmente escassas. No entanto, há poucos estudos que utilizam a espectroscopia no infravermelho próximo ou médio para analisar *Cannabis*, e até o momento não há nenhum com a finalidade de determinar sua origem geográfica.

Na espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR), um raio infravermelho é direcionado a um cristal opticamente denso com um alto índice refrativo, e como consequência a reflectância interna cria uma onda evanescente que se estende além da superfície do cristal, interagindo com a amostra que está em contato com esse cristal. Nas regiões do infravermelho em que a amostra absorve energia a onda evanescente será atenuada; o raio atenuado volta ao cristal e sai pelo outro lado, sendo direcionado para o detector<sup>10</sup>. Essa técnica é amplamente empregada em diversas áreas, como na autenticação de mel (Kasprzyk et al., 2018), no controle de qualidade de bebidas alcoólicas à base de uva (Anjos et al., 2016), na identificação e classificação de fibras têxteis (Peets et al., 2017), entre outras.

A reflexão difusa, fenômeno utilizado pela espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflectância difusa (DRIFT), é definida como a reflexão da luz em muitos ângulos a partir de uma superfície, ao contrário de uma reflexão em um único ângulo, como é o caso da reflexão especular (Choudhury, 2014). Na DRIFT o detector capta o espalhamento (*scattering*) das ondas que são emitidas para a superfície da amostra em reação a uma única fonte de radiação, e são refletidas de forma difusa. Entre as diversas aplicações de DRIFT, pode-se citar a caracterização química de diesel e óleo vegetal (Tapia et al., 2017), caracterização de nanodiamantes (Petit & Puskar, 2018), entre outros.

---

<sup>10</sup> Informação disponível no website da empresa ThermoFischer no seguinte link: <<https://www.thermofisher.com/br/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/molecular-spectroscopy-information/ftir-information/ftir-sample-handling-techniques/ftir-sample-handling-techniques-attenuated-total-reflection-atr.html>>. Acessado em 09 jan 2020.

### 2.6.3 Análise termogravimétrica

Análises térmicas se referem a qualquer técnica que envolva controle de temperatura utilizada para o estudo de materiais (Wunderlich, 2001). As medições geralmente são feitas com o aumento progressivo da temperatura, porém isotermas ou medições feitas com temperaturas decrescentes são também possíveis. Para tais medições, usam-se analisadores termogravimétricos ou termobalanças (Groenewoud, 2001). O uso simultâneo de análises térmicas e outras diversas técnicas aumenta ainda mais seu poder de análise (Wunderlich, 2001) e sua aplicabilidade. O uso de espectroscopia e de espectrometria de massas juntamente com uma análise térmica (Kök, Varfolomeev & Nurgaliev, 2017) é somente uma das possibilidades.

A termogravimetria foi desenvolvida nos anos 1900 e envolve a determinação da massa de uma amostra controlada por uma isoterma ou por uma variação linear da temperatura em uma determinada atmosfera. Um gráfico mostrando a função entre massa e tempo ou temperatura é o resultado de uma análise termogravimétrica. A análise termogravimétrica (TGA) é muito versátil e suas finalidades são diversas, como a caracterização de *pellets* produzidos a partir de resíduos florestais e agrícolas (Brand et al., 2018), a análise de biomassa (Cai et al., 2018; Mishra & Mohanty, 2018; Özsın & Pütün, 2019), de matéria-prima de origem agrícola (Dhyani, Kumar & Bhaskar, 2017), concreto (Shi et al., 2017), de compósitos termoplásticos (Mohsin, Iannucci & Greenhalgh, 2019), entre outros.

### 2.7. Análise estatística para a rastreabilidade de *Cannabis*

A análise discriminante linear (LDA) é utilizada para encontrar uma transformação linear de dados a fim de reduzir o número de dimensões requeridas para representá-los (Witten et al., 2017). Para isso, a LDA é feita em três etapas: (1) o cálculo da separabilidade entre diferentes classes (a distância entre as médias de diferentes classes), também chamado de variância entre classes ou matriz entre classes; (2) o cálculo da distância entre as médias e as amostras de cada classe, chamado de variância intraclasse ou matriz intraclasse; e por fim (3) a construção de um espaço dimensional menor do que

o inicial que maximiza a variância entre classes e minimiza a variância intraclasse (Tharwat et al., 2017). A LDA pode ser utilizada para reduzir a dimensionalidade e/ou como uma técnica de classificação (Witten et al., 2017).

Na prática, todas as amostras de um determinado conjunto de dados são designadas a um número 'x' de grupos pelo analista; no caso de o objetivo da análise ser o rastreamento, os grupos seriam compostos de amostras de mesma origem geográfica. O conjunto de dados é então submetido a LDA, que agrupa as amostras por meio das três etapas supracitadas e fornece a acurácia do agrupamento feito pelo usuário, ou seja, indica a quantidade de amostras que estatisticamente pertenceriam de fato aos respectivos grupos previamente designados pelo analista, refletindo a acurácia do rastreamento. Devido à sua comprovada eficácia e excelente performance em estudos relacionados ao rastreamento, a LDA vem sendo cada vez mais utilizada com esse propósito, indicando, com grande acurácia, as relações existentes até mesmo em grandes conjuntos de amostras.

Pesquisadores de diversos países utilizam a LDA no rastreamento de chás (Ma et al., 2016; Fang et al., 2019; Zhao, Zhang & Zhang, 2017), lentilha (Innamorato et al., 2019), peixes (Zhang et al., 2019), oliveiras (De Luca et al., 2012), na avaliação do impacto do consumo de maconha e outras drogas na conectividade dinâmica cerebral humana (Vergara et al., 2018), no reconhecimento de padrões de amostras de *Cannabis* (Wang, Harrington & Baugh, 2018), entre outras aplicações.

### **3. OBJETIVOS**

Testar técnicas espectroscópicas, cromatográficas e termogravimétrica quanto ao seu uso para identificar a origem geográfica de *Cannabis* e do solo em que foram cultivadas no Brasil e nos Estados Unidos da América, analisando os dados por análise discriminante linear, e indicar a técnica mais eficiente, que apresente alta acurácia na atribuição da origem geográfica das amostras, rapidez no preparo de amostras, baixo (ou nulo) consumo de insumos para a análise das amostras, baixa (ou nula) geração de resíduos, e baixo custo de análise.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostras provenientes do Brasil

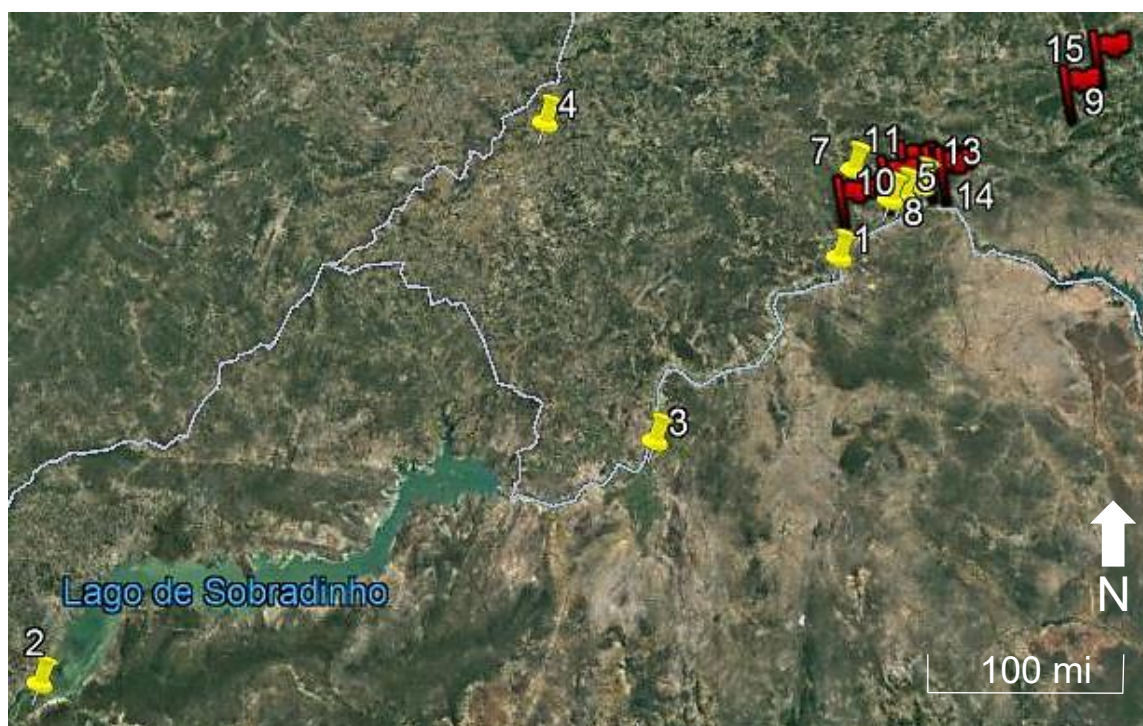
As amostras são provenientes de duas operações de apreensão de *Cannabis* cultivada *outdoor* ilegalmente, realizadas pela Polícia Federal Brasileira (Figura 6). A primeira apreensão ocorreu em novembro de 2014 e foram coletadas 56 amostras de solo (posteriormente separadas no Laboratório de Biorremediação do Solo em 28 amostras de solo rizosférico e 28 de solo não rizosférico), e 26 de planta em oito pontos de coleta; a segunda apreensão se deu em dezembro de 2017 e foram coletadas 25 amostras de solo (separadas no laboratório em seis amostras de solo rizosférico e 19 de solo não rizosférico) e 21 de planta em sete pontos de coleta. Foram coletadas pelo menos duas amostras em cada ponto de coleta.

A coleta das amostras de planta e de solo foi feita por agentes da Polícia Federal. O solo foi coletado juntamente com a amostra da planta, exatamente no mesmo ponto, com uma profundidade de 20 cm. Considerou-se como solo rizosférico a porção de solo que se desprendeu das raízes após vigorosa agitação. Para informações sobre códigos das amostras, coordenadas geográficas e tipo de amostra, consultar o Apêndice (Tabela 23). As distâncias aproximadas entre os pontos amostrais constam no Apêndice (Tabela 25) e foram calculadas no software Google Earth Pro.

A preparação das amostras foi conduzida no Laboratório de Biorremediação do Solo, Departamento de Solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). As amostras coletadas em 2014 já haviam sido secas a 105 °C por 24 horas e moídas em gral de ágata e pistilo, enquanto que as coletadas em 2017 foram secas em estufa a 40 °C por sete dias. Apesar de a umidade das amostras não ter sido aferida, segundo os resultados encontrados

por Warner et al. (2017) no seu estudo sobre secagem de *Cannabis*, a perda de umidade mais significativa ocorre até o terceiro dia de secagem (à aproximadamente 22,2 °C e 49% de umidade relativa), e as massas das amostras estabilizam depois de uma semana.

As amostras de 2017 foram secas mais lentamente e com temperatura mais baixa em comparação com as amostras de 2014 a fim de preservar a concentração e composição de canabinoides das amostras de plantas, já que o calor pode provocar a descarboxilação desses elementos. Posteriormente, as amostras de *Cannabis* foram moídas em moinho de bola e em seguida em gral de ágata e pistilo para obter o menor tamanho de partícula possível, e as amostras de solo foram separadas em solo rizosférico e não rizosférico, moídas em gral de ágata e pistilo e peneiradas em peneiras com malha de 1 mm (número 18). Como não foi possível realizar análises químicas nem físicas nas amostras de solo devido à sua pouca quantidade, a classificação do tipo de solo das amostras é desconhecida. Todas as amostras foram mantidas a temperatura ambiente e protegidas da luz. Como *Cannabis* é proscrita no Brasil, havia a necessidade de manter as amostras em um armário trancado, não sendo possível mantê-las refrigeradas.



**Figura 6.** Pontos de coleta das amostras de 2014 (em amarelo) e 2017 (em vermelho).

As amostras secas e moídas foram diretamente analisadas pelas técnicas espectroscópicas, não sendo necessária posterior preparação. Para a análise cromatográfica, pesou-se 100 mg de cada amostra de *Cannabis*, que foram então triturados e peneirados, de forma a homogeneizar o material de apreensão. A partir do material em pó, foi realizada a extração com 1 mL de metanol em banho ultrassônico, alternando cinco minutos de ultrassom com agitação e vortex por dez segundos, repetindo este processo três vezes. Após, as amostras foram levadas a centrifugação por 10 minutos a 3.000 rpm e o sobrenadante foi retirado, diluído em metanol (uma diluição de 100 µL de extrato e 900 µL de metanol e outra de 200 µL de extrato e 800 µL de metanol), filtrado com filtro milipore de 0,45 µm e disposto em vials. Este método de extração foi adaptado da United Nations Office on Drugs and Crime (2009).

#### **4.1.1 Análises espectroscópicas**

As análises por ATR foram feitas no Laboratório Multiusuário de Análise Térmica (LAMAT) da UFRGS. As amostras de planta que foram coletadas em 2014 e em 2017 foram analisadas em um equipamento Nicolet-6700 Thermo Scientific com cristal de germânio na faixa de número de onda entre 4.000 e 500  $\text{cm}^{-1}$ , resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , e 32 scans por leitura. Foi feita uma leitura por amostra, e entre cada leitura de amostras foi feita uma leitura em branco. Não foram feitas análises de solo por ATR devido a péssima qualidade dos espectros resultantes.

As análises por DRIFT (de planta e de solo) também foram feitas no LAMAT, sendo realizadas em equipamento Bruker Alpha na faixa de número de onda entre 4.000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Foi feita uma leitura por amostra, com 64 scans, e entre cada leitura de amostras foi feita uma leitura em branco. Foram feitos testes com alisamento (*smoothing*) de 13 e de 25 pontos dos espectros, mas optou-se por apresentar somente os dados originais, sem alisamento.

#### 4.1.2 Análise cromatográfica

As análises feitas por LC-MS foram realizadas no Laboratório de Análises e Pesquisas em Toxicologia (Labtóxico) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF-UFRGS).

O método, desenvolvido e validado conforme preconizado em resolução da Anvisa, avaliou os seguintes indicadores: especificidade, linearidade, precisão, exatidão, reprodutibilidade e recuperação (BRASIL, 2017). Os canabinoides analisados foram:  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN), ácido-tetrahydrocannabinólico (THCA) e ácido-cannabidiólico (CBDA). O  $\Delta^8$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^8$ -THC) foi utilizado como padrão interno. A seletividade do método foi demonstrada por meio de análises de amostra em branco, de amostra contendo as substâncias químicas de referência (SQR) e de amostra de extrato de *Cannabis* para verificar a presença de interferentes. O método não apresentou interferência nos picos de interesse, por isso foi considerado seletivo.

A linearidade foi verificada através da construção de curva padrão com 6 concentrações diferentes das SQR preparadas em triplicata. As concentrações testadas nas curvas foram: 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 5,0 e 10,0  $\mu\text{g/mL}$  para todos os analitos. O método apresentou linearidade na faixa testada, obtendo coeficientes de correlação de 0,99 para todas as substâncias. A análise de variância e a regressão estatística indicaram que as curvas de todas as substâncias apresentaram regressão linear significativa e sem desvio de linearidade.

A precisão e exatidão foram verificadas realizando-se nove determinações, utilizando-se três concentrações: baixa, média e alta, com três réplicas em cada nível. A concentração baixa determinada foi de 0,5  $\mu\text{g/mL}$ , a média foi de 2  $\mu\text{g/mL}$  e a alta de 10  $\mu\text{g/mL}$ . A precisão intra- e interdias foi demonstrada pelo cálculo do desvio padrão relativo (DPR) e a exatidão foi verificado pelo cálculo da recuperação do analito de concentração conhecida adicionado à amostra. O método foi considerado preciso e exato obtendo DPR não superiores a 10% tanto para precisão intra- e interdias e recuperação em torno de 85 a 95%. Os resultados foram considerados satisfatórios em relação aos parâmetros analíticos avaliados e os limites estabelecidos pela legislação vigente, portanto o método analítico foi considerado validado.



### 4.1.3 Análises estatísticas

Os dados foram avaliados por meio de análise discriminante linear (LDA), utilizando o software RStudio. Como o número de amostras era pequeno, todas foram consideradas como amostras de treino e nenhuma de teste. Analisaram-se integralmente por LDA os espectros adquiridos por ATR e DRIFT, não sendo feita nenhuma seleção de faixas de número de onda. As amostras sem origem geográfica conhecida (Tabela 1) foram excluídas da LDA.

O teste-t para amostras independentes, por grupos, a 5% de significância, foi feito usando o software Statistica nos dados adquiridos pela LC-MS, por DRIFT e por ATR, para verificar se há diferença estatística entre as amostras provenientes da apreensão de 2014 e de 2017, já que foram secas em temperaturas diferentes e têm idades diferentes.

Separou-se as amostras de solo e de planta de acordo com sua origem geográfica para realizar a LDA, ou seja, amostras provenientes do mesmo local formavam um grupo. Ao todo, formaram-se oito grupos (de A a H) de plantas e oito grupos (de A a H) de solo com as amostras da apreensão de 2014, e sete grupos (de A a G) de planta e seis grupos (de A a F) de solo com as amostras de 2017 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Códigos, tipos e grupos das amostras de *Cannabis* e de solo do Brasil para a realização da LDA. P=planta, SR=solo rizosférico, SNR=solo não-rizosférico, G=grupo.

| Apreensão 2014 |    |     |   | Apreensão 2017 |     |     |                     |
|----------------|----|-----|---|----------------|-----|-----|---------------------|
| P              | SR | SNR | G | P              | SR  | SNR | G                   |
| 94             | 1  | 32  | A | 151            | 125 | 132 | A                   |
| 95             | 2  | -   | A | 152            | -   | 133 | A                   |
| 96             | -  | -   | A | 153            | 127 | 134 | A                   |
| -              | 4  | 35  | A | -              | 128 | 135 | A                   |
| *98            | -  | -   | - | 154            | -   | 136 | B                   |
| 99             | 6  | 37  | B | 155            | -   | 137 | B                   |
| 100            | 7  | 38  | B | 156            | -   | 138 | B                   |
| 101            | 8  | 39  | B | 157            | -   | 139 | C                   |
| -              | 9  | 40  | B | 158            | -   | 140 | C                   |
| -              | 10 | 41  | C | 159            | -   | 141 | C                   |
| 104            | 11 | 42  | C | 160            | -   | -   | D                   |
| 105            | 12 | 43  | C | 161            | -   | -   | D                   |
| 106            | 13 | 44  | D | 162            | -   | -   | D                   |
| 107            | 14 | 45  | D | 163            | -   | 142 | E (planta)/D (solo) |
| -              | 15 | 46  | D | 164            | -   | 143 | E (planta)/D (solo) |

**Tabela 1.** Continuação

| Apreensão 2014 |    |     |   | Apreensão 2017 |     |     |                     |
|----------------|----|-----|---|----------------|-----|-----|---------------------|
| P              | SR | SNR | G | P              | SR  | SNR | G                   |
| -              | 16 | 47  | D | 165            | -   | 144 | E (planta)/D (solo) |
| 110            | 17 | 48  | E | 166            | -   | 145 | F (planta)/E (solo) |
| 111            | 18 | 49  | E | 167            | -   | 146 | F (planta)/E (solo) |
| 112            | 19 | 50  | E | 168            | -   | 147 | F (planta)/E (solo) |
| 113            | 20 | 51  | E | 169            | 129 | 148 | G (planta)/F (solo) |
| 114            | 21 | 52  | E | 170            | 130 | 149 | G (planta)/F (solo) |
| 115            | 22 | 53  | E | 171            | 131 | 150 | G (planta)/F (solo) |
| 116            | 23 | 54  | F |                |     |     |                     |
| 117            | 24 | 55  | F |                |     |     |                     |
| 118            | 25 | 56  | F |                |     |     |                     |
| 119            | 26 | 57  | G |                |     |     |                     |
| -              | 27 | 58  | G |                |     |     |                     |
| 121            | -  | 59  | G |                |     |     |                     |
| 122            | 29 | 60  | H |                |     |     |                     |
| 123            | 30 | 61  | H |                |     |     |                     |
| 124            | 31 | 62  | H |                |     |     |                     |
| *extra3        | -  | -   | - |                |     |     |                     |

\*Amostra sem origem geográfica conhecida.

Nas LDAs em que as apreensões de 2014 e de 2017 foram comparadas conjuntamente no mesmo banco de dados, seguiu-se a ordem alfabética a partir do grupo H (último grupo das amostras de 2014), ou seja, as primeiras três amostras de planta provenientes do mesmo ponto amostral e da apreensão de 2017 formavam o grupo I, o próximo grupo de 2017 era identificado como J, e assim por diante.

Outras análises estatísticas foram testadas, mas sem sucesso. A análise de componentes principais (PCA), a análise por agrupamentos hierárquicos (HCA) e a clusterização k-means não foram capazes de agrupar as amostras satisfatoriamente.

#### 4.2 Amostras provenientes dos Estados Unidos da América

As amostras são provenientes de cinco empresas produtoras de *Cannabis* do tipo fibra no estado do Colorado, Estados Unidos (Figura 7, Tabela 2). No total 12 amostras de plantas e 12 de solo foram adquiridas, sendo que todas as amostras foram coletadas pelos responsáveis de cada empresa: as plantas

foram coletadas manualmente cortando-as nos caules, que eram depositados em tubos falcon juntamente com as folhas, sementes e flores (se houvessem), e o solo imediatamente abaixo da planta era também coletado até aproximadamente 20 cm. Foram coletadas três amostras de solo e de planta vizinhas por ponto amostral.



**Figura 7.** Pontos de coleta das amostras do Colorado.

**Tabela 2.** Código das amostras de *Cannabis* do Colorado, seus pontos amostrais, origem geográfica e variedades.

| <b>Código da amostra</b> | <b>Código do ponto amostral</b> | <b>Origem geográfica</b> | <b>Variedade</b> |
|--------------------------|---------------------------------|--------------------------|------------------|
| 174                      |                                 |                          |                  |
| 175                      |                                 |                          |                  |
| 176                      | 16                              | Penrose                  | T1               |
| 177                      |                                 |                          |                  |
| 182                      |                                 |                          |                  |
| 183                      |                                 |                          |                  |
| 184                      | 17                              | Manzanola                | Cherry Wine      |
| 185                      |                                 |                          |                  |
| 186                      |                                 |                          |                  |
| 187                      |                                 |                          |                  |

Continuação Tabela 2

| <b>Código da amostra</b> | <b>Código do ponto amostral</b> | <b>Origem geográfica</b> | <b>Variedade</b> |
|--------------------------|---------------------------------|--------------------------|------------------|
| 188<br>189               | 18                              | Fowler                   | Cherry Wine      |
| 193<br>194<br>195        | 19                              | Poncha Springs           | Não informado    |
| 199<br>200<br>201        | 20                              | Palisade                 |                  |

Entre as amostras de planta seis foram divididas pela metade a fim de conduzir um teste de temperatura, resultando nos pares de amostras 174 e 175, 182 e 183, 184 e 185, 186 e 187, e 188 e 189. Não foi possível fazer isso para todas as amostras de planta devido a pouca quantidade das demais. Uma das metades foi seca ao ar (como é procedimento das empresas que cederam as amostras e de outras empresas do ramo) por sete dias em temperatura ambiente e protegidas de luz, enquanto a outra metade foi seca em estufa a 40 °C por sete dias assim como foram as amostras de solo, seguindo o mesmo procedimento usado para secar as amostras do ano de 2017 do Brasil. Após esta etapa, as amostras foram moídas com gral e pistilo, acondicionadas em tubos falcon e refrigeradas a 7 °C. As amostras de solo foram ainda passadas por peneiras com malha de 0,841 mm (número 20) antes de colocadas nos tubos. Não foi possível fazer a diferenciação entre solo rizosférico e não rizosférico, nem realizar análises químicas e físicas nos solos devido a pouca quantidade de amostra.

A preparação das amostras, assim como a análise espectroscópica e cromatográfica foram conduzidas no Departamento de Química, e a análise termogravimétrica no laboratório de Nanotecnologia, Departamento de Tecnologia, da Colorado State University-Pueblo (CSU-P), Pueblo, Colorado, Estados Unidos. As distâncias aproximadas entre os pontos constam no Apêndice (Tabela 25) e foram calculadas no software Google Earth Pro.

As amostras secas e moídas foram diretamente analisadas pela técnica espectroscópica e termogravimétrica, não sendo necessária posterior preparação. A preparação das amostras para a análise cromatográfica seguiu o Procedimento Operacional Padrão utilizado pelo ICR: pesou-se 0,5 g de cada amostra por repetição, sendo feitas triplicatas de todas as amostras com exceção

das amostras 193 e 194 que, devido à sua pouca quantidade, somente foi possível fazer duplicatas. Ademais, pelo mesmo motivo, foi pesado 0,4 g das amostras 193 e 195 e não 0,5 g. Após a pesagem, cada amostra foi acondicionada em tubos falcon de plástico com capacidade de 15 mL. Adicionou-se 5 mL de uma solução de metanol e clorofórmio 9:1 v/v em cada um dos tubos, exceto as amostras 193 e 195 que receberam 4 mL a fim de garantir que todas as amostras tivessem a mesma proporção planta:solução.

Após essa etapa, os tubos foram levados para o banho ultrassônico por 15 minutos, alternando com agitação em um mixer por um minuto a cada cinco minutos, ou seja, a cada cinco minutos no banho ultrassônico as amostras eram levadas ao mixer e agitadas por um minuto, voltando ao banho ultrassônico depois e repetindo esse processo até completar 15 minutos no banho. Findada essa etapa, levaram-se os tubos para uma centrífuga a 4.500 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e disposto em frascos de vidro âmbar de 2 mL utilizados para análises cromatográficas. Foram qualificados e quantificados os seguintes canabinoides: tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), ácido tetrahidrocannabinólico-A (THCA-A), tetrahidrocannabivarin (THCV), ácido tetrahidrocannabivarínico (THCVA), cannabidiol (CBD), ácido cannabidiólico (CBDA), cannabidivarin (CBDV), ácido cannabidivarínico (CBDVA), cannabinol (CBN), cannabicromeno (CBC), ácido cannabicromênico (CBCA), cannabigerol (CBG) e ácido cannabigerólico (CBGA). Todos os padrões eram da marca Cerilliant®.

#### **4.2.1 Análise espectroscópica**

As análises por ATR (Tabela 3) foram realizadas em triplicata para as amostras de planta e de solo, utilizando um espectrômetro Nicolet™ iS™50 da marca Thermo Scientific. A média das leituras foi feita no software ChemoStat e os espectros foram traçados no mesmo software. Foi feita a correção de linha de base em todos os espectros.

**Tabela 3.** Informações de análise utilizadas na ATR para as análises das amostras de *Cannabis* e de solo do Colorado.

| Número de scans | Resolução (cm <sup>-1</sup> ) | Número de onda (cm <sup>-1</sup> ) |
|-----------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 32              | 4                             | 4.000 a 400                        |
| 100             | 4                             | 4.000 a 400                        |
| 100             | 2                             | 4.000 a 400                        |

#### 4.2.2 Análise cromatográfica

O instrumento utilizado foi um Thermo Scientific Ultimate 3000 com detector de arranjo de fotodiodos ajustado em 210 nm, comprimento de onda de referência de 450 nm, amostrador com temperatura de 21 °C, forno da coluna em 50 °C. O fluxo opera a uma taxa de 0,450 mL/min, o volume de injeção é de 2 µL, a fase móvel é composta de (A) 0,1% ácido fórmico em água Optima™ e (B) 0,1% ácido fórmico em metanol Optima™.

#### 4.2.3 Análise termogravimétrica

Foram analisados cerca de 20 mg de cada amostra de planta e de solo, sendo feita uma leitura por amostra. A umidade das amostras não foi aferida pois para isso elas precisariam ser secas em estufa antes das análises por TGA, e isso impossibilitaria a comparação entre amostras de planta secas em estufa e amostras secas ao ar feita com os dados das outras análises.

O equipamento utilizado para realizar a termogravimetria foi um Analisador Termogravimétrico 550 da marca TA. O procedimento para a análise das amostras de planta foi constituído de quatro etapas: 1ª) uma rampa de temperatura de 20 °C por minuto até atingir 90 °C, 2ª) uma isoterma a 90 °C por 10 minutos, 3ª) uma rampa de temperatura de 5 °C por minuto até atingir 200 °C, e 4ª) uma rampa de temperatura de 20 °C por minuto até 700 °C. A isoterma se fez necessária para que as amostras ficassem aproximadamente na mesma temperatura, e com isso haver um ponto de partida comum entre elas, para fazer com que as análises das amostras fossem comparáveis. No banco de dados a 1ª etapa e a isoterma foram excluídas.

A escolha da faixa de 90 °C a 200 °C se deu por esta ser a faixa de temperatura em que diversos canabinoides como o THCA, CBDA, CBN, THC e

CBD têm seu ponto de ebulição ou descarboxilação, assim como vários terpenos também têm seu ponto de fusão nessa faixa, como citado nas seções 2.2.1 e 2.2.2. A escolha da faixa seguinte, de 200 °C a 700 °C com uma rampa de temperatura menor (5 °C) foi resultado de diversos testes prévios, os quais foram feitos para ajustar a metodologia. Considerou-se essa faixa como ideal porque era aquela em que as amostras ainda tinham sua massa alterada em resposta ao aumento de temperatura, já que a temperaturas maiores que 700 °C a massa das plantas estabilizava.

O procedimento para a análise das amostras de solo constituiu-se de três etapas: 1ª) uma rampa de temperatura de 20 °C por minuto até 40 °C, 2ª) uma isoterma a 40 °C por 10 minutos, e 3ª) uma rampa de temperatura de 20 °C por minuto até 700 °C. Gás nitrogênio foi utilizado nas análises de planta e de solo, com um fluxo de 25 mL/min para as amostras de plantas e 5 mL/min para as de solo. A isoterma se fez necessária para que as amostras ficassem aproximadamente na mesma temperatura, a fim de poder haver um ponto de partida comum entre elas, para fazer com que as análises das amostras fossem comparáveis. No banco de dados, a 1ª etapa e a isoterma foram excluídas. A escolha dessas faixas de temperatura para as análises de solo, assim como a escolha da taxa de fluxo de gás nitrogênio também foram resultado de diversos testes prévios, e as faixas apresentadas são aquelas em que a massa das amostras de solo ainda variavam com o incremento da temperatura (após 700 °C não havia mais variação de massa). Para a escolha do fluxo de gás, observou-se que com esse fluxo a maioria das amostras de solo apresentavam um resultado mais uniforme, sem perdas bruscas de material que estavam sendo causadas pelo fluxo maior de gás nitrogênio, o que se percebeu em testes anteriores. Fez-se uso do software TA Instruments Trios v4.5.1.42498 para a quantificação das perdas de material ao longo das rampas de temperatura em todas as análises.

#### **4.2.4 Análises estatísticas**

Todos os dados foram avaliados por análise discriminante linear (LDA) utilizando o software RStudio. Como o número de amostras era pequeno, todas foram consideradas como amostras de treino e nenhuma como teste.

Analisaram-se integralmente por LDA os espectros adquiridos por ATR, não sendo feita nenhuma seleção de faixas de número de onda. Adicionalmente, foi feito o teste-t para amostras independentes, por grupos, a 5% de significância, utilizando o software Statistica, com os dados adquiridos por HPLC-DAD, TGA e ATR para verificar se as amostras secas ao ar em temperatura ambiente ou na estufa a 40 °C diferiram significativamente.

Como é necessário classificar os dados em grupos para fazer a LDA, separou-se as amostras de solo e de planta de acordo com sua origem geográfica, ou seja, amostras provenientes do mesmo local formavam um grupo. Ao todo, formaram-se cinco grupos (de A a E) de plantas e quatro grupos (de A a D) de solo com as amostras dos Estados Unidos (Tabela 4). A amostra 181 foi excluída das LDAs porque sozinha constituiria um “grupo”, o que aumentaria artificialmente a acurácia da LDA.

**Tabela 4.** Códigos, tipos e grupos das amostras de planta e de solo do Colorado para a LDA.

| Código da amostra |                      | Grupo |
|-------------------|----------------------|-------|
| Planta            | Solo não-rizosférico |       |
| 174               | 172                  | A     |
| 175               | 173                  | A     |
| 176               | 172                  | A     |
| 177               | 173                  | A     |
| 182               | 178                  | B     |
| 183               | 178                  | B     |
| 184               | 179                  | B     |
| 185               | 179                  | B     |
| 186               | 180                  | B     |
| 187               | 180                  | B     |
| 188               | 181                  | C     |
| 189               | 181                  | C     |
| 193               | 190                  | D     |
| 194               | 191                  | D     |
| 195               | 192                  | D     |
| 199               | 196                  | E     |
| 200               | 197                  | E     |
| 201               | 198                  | E     |



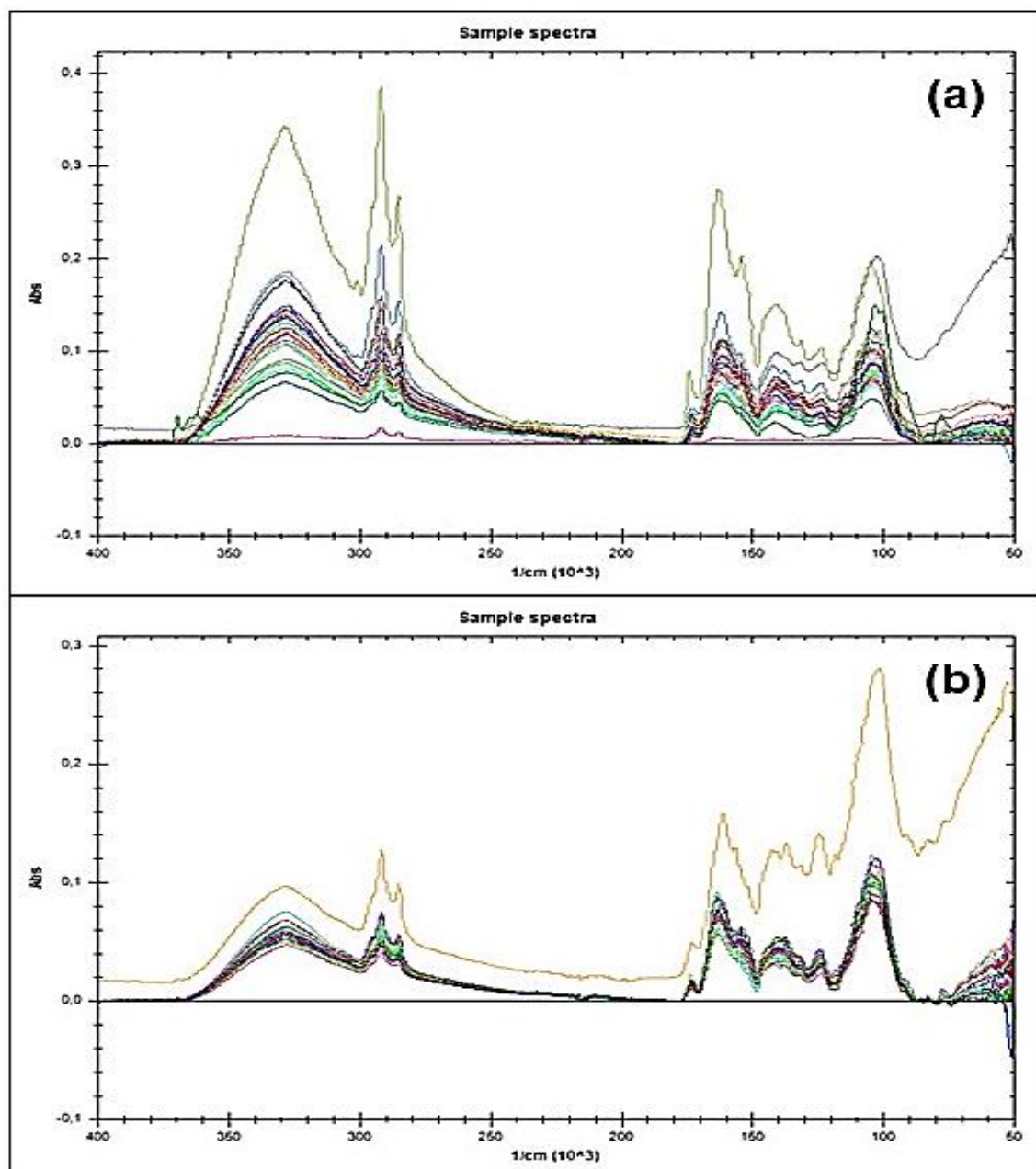
## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Amostras provenientes do Brasil**

#### **5.1.1 Análises espectroscópicas**

##### **5.1.1.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR)**

Nota-se na Figura 8a que os espectros das amostras de planta de 2014 apresentam intensidades de absorvência bastante distintas, especialmente nas faixas de número de onda entre aproximadamente 3.700 e 2.900  $\text{cm}^{-1}$ , e 1.800 a 900  $\text{cm}^{-1}$ ; a amostra 106 (linha verde) tem intensidades maiores em praticamente toda a extensão da análise, em comparação com as demais amostras de 2014, e a amostra extra 3 (linha azul) apresenta intensidade maior que todas entre 1.000 e 500  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 8a). Já as amostras de 2017 são mais semelhantes umas as outras, com exceção da amostra 155 (linha laranja) (Figura 8b). As atribuições dos principais grupos funcionais encontrados nas amostras constam na Tabela 5.



**Figura 8.** Espectro de ATR de amostras de *Cannabis* provenientes da apreensão de 2014 (a) e 2017 (b) no Brasil, com 32 scans, resolução  $4\text{ cm}^{-1}$  e número de onda entre  $4000\text{ a }500\text{ cm}^{-1}$ .

**Tabela 5.** Atribuição dos principais grupos funcionais encontrados nas amostras de planta do Brasil por ATR.

| Bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Atribuição   | Grupos   |
|-----------------------------|--|--|
| 3279                        | Estiramento de O-H em ligações de H (e estiramento de N-H se houver abundância de N) | Todos os tipos de compostos orgânicos que possuem OH |
| 2917                        | Estiramento de C-H   | R-CH <sub>3</sub>                                    |
| 2848                        | Estiramento de C-H   | R-CH <sub>2</sub> -R ou -C-H terciário               |

**Tabela 5.** Continuação

| <b>Bandas<br/>(cm<sup>-1</sup>)</b> | <b>Atribuição</b>  | <b>Grupos</b>   |
|-------------------------------------|--|---|
| 1733                                | Estiramento de C=O de –<br>COOH e/ou cetonas               |   |
| 1245                                | Dobramento C-O de –<br>COOH                                |   |
| 1144                                | Dobramento C-O de álcoois<br>ou de éteres alifáticos       |   |
| ~1100                               | Dobramento C-O-C,<br>estiramento C-O de<br>polissacarídeos | Pode ser atribuída a carboidratos,<br>ésteres, ácidos carboxílicos,...              |
| 1014                                | Dobramento C-O e/ou Si-O                                   | Pode ser atribuída a carboidratos,<br>ésteres, ácidos carboxílicos,<br>silicatos... |

O teste-t mostrou que há diferença estatística, a 5% de significância, entre as amostras de 2014 e de 2017 nas faixas de número de onda entre 903,93 e 674,41 cm<sup>-1</sup>, 993,19 e 987,53 cm<sup>-1</sup>, 1221,30 e 1149,04 cm<sup>-1</sup>, 1362,99 e 1270,89 cm<sup>-1</sup>, 1448,00 e 1378,57 cm<sup>-1</sup>, 1507,50 e 1452-25 cm<sup>-1</sup>, 1612,35 e 1527,34 cm<sup>-1</sup>, 1721,44 e 1690,27 cm<sup>-1</sup>, 1785,20 e 1763,95 cm<sup>-1</sup>, 1795,12 e 1792,29 cm<sup>-1</sup>, 3685,17 e 1807,87 cm<sup>-1</sup>, e entre 3982,71 e 3703,59 cm<sup>-1</sup>.

A acurácia da análise discriminante linear (LDA) para as amostras de 2014 foi de 62,5% e para as de 2017 foi de 95,23%. Quando analisadas conjuntamente, a acurácia é de 88,88%. Com exceção das amostras do grupo D e H, as amostras de todos os outros grupos de 2014 foram classificadas erroneamente como pertencentes ao grupo E, e somente o grupo D teve todas suas amostras classificadas corretamente (Tabela 6). Para as amostras de 2017, somente uma amostra do grupo D foi erroneamente classificada como sendo do grupo C (Tabela 6). Apesar das amostras de 2017 serem provenientes de pontos amostrais bastante próximos (Tabela 25 - Apêndice), a LDA foi capaz de agrupar corretamente 95,23% das amostras.

As amostras de mesma origem geográfica foram coletadas próximas umas das outras, objetivando reduzir a variabilidade entre elas como, por exemplo, variabilidades causadas por diferentes tipos de solo. Supõe-se que as amostras que foram classificadas de forma errada sejam da mesma variedade, o que poderia fazer com que se agrupassem. Ao todo, nove de 26 amostras de 2014 foram classificadas erroneamente, causando uma forte diminuição na acurácia da LDA.

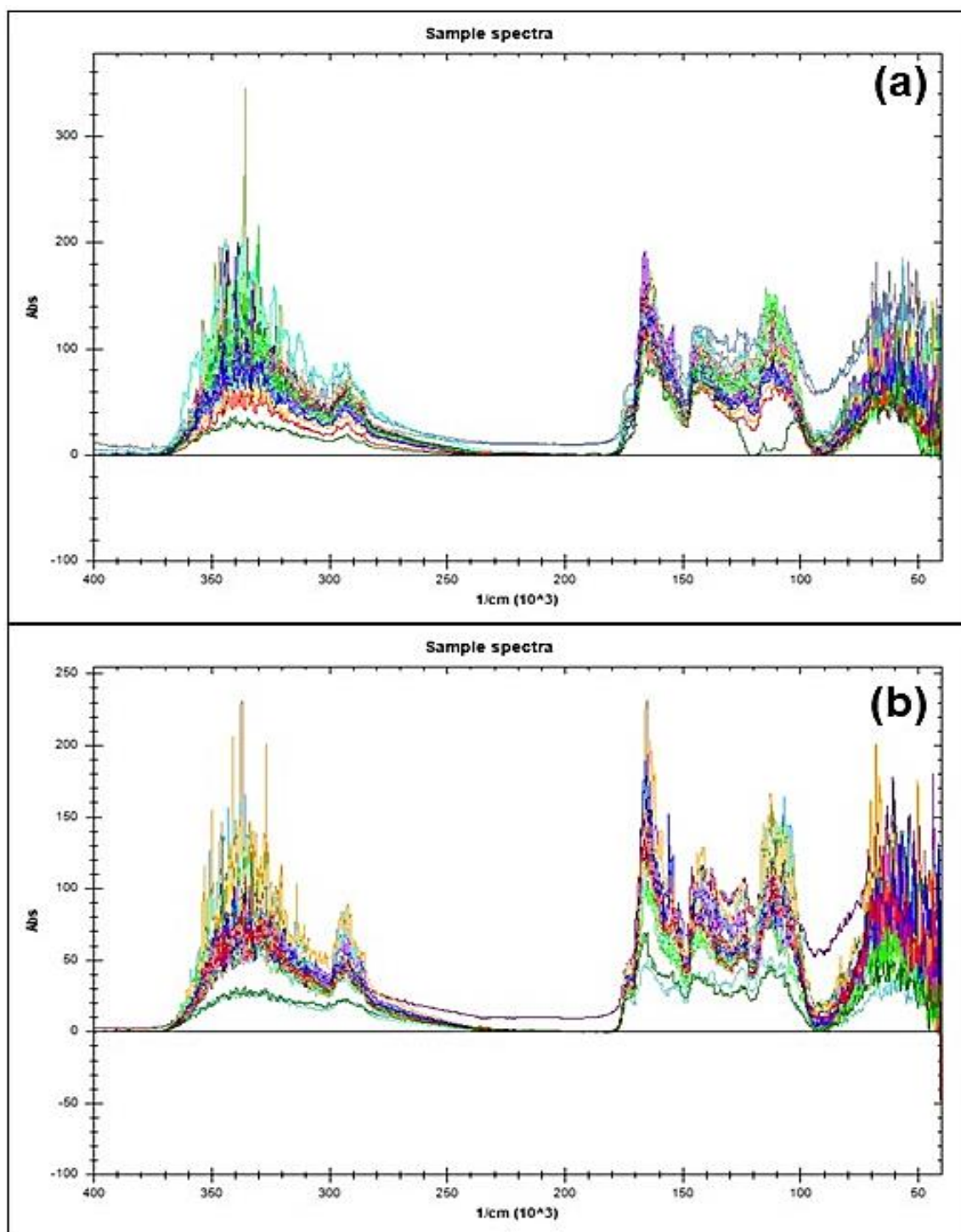


Tabela 7. Continuação

| Amostras coletadas em 2014 e 2017 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|-----------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                                   | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O |
| G                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| H                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| I                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| J                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| K                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| L                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 |
| M                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| N                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| O                                 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 |

#### 5.1.1.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflectância difusa (DRIFT)

Nota-se que os espectros de *Cannabis* são muito menos definidos (Figura 9) em comparação com aqueles obtidos a partir das análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR), o que já era esperado tendo em vista que a DRIFT é fortemente dependente do tamanho das partículas das amostras (que deve ser pequeno) assim como da uniformidade dessas partículas (Larkin, 2018). Contudo, como as amostras foram moídas com moinho de bolas e gral e pistilo buscando interferir o mínimo possível na sua estrutura, o tamanho das partículas variava, conferindo uma constituição bastante irregular para as amostras de planta.



**Figura 9.** Espectros das amostras de *Cannabis* de 2014 (a) e 2017 (b) do Brasil analisadas por DRIFT, 64 scans, resolução  $4\text{ cm}^{-1}$ , número de onda entre  $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$ .

As atribuições dos grupos funcionais encontrados são as mesmas para as análises por ATR, já mencionadas. A interpretação dos espectros de DRIFT é muitas vezes mais complexa do que a de outras técnicas espectroscópicas, e a falta de definição em diversas faixas de número de onda dos espectros gerados

na análise das amostras de 2014 e de 2017 dificultaria ainda mais a sua interpretação.

O teste-t evidenciou diferença estatística, a 5% de significância, entre as amostras de 2014 e de 2017 nos números de onda entre 1057,86 e 1056,44  $\text{cm}^{-1}$ , 1421,81 e 1420,39  $\text{cm}^{-1}$ , 1434,55 e 1430,30  $\text{cm}^{-1}$ , 1482,70 e 1474,20  $\text{cm}^{-1}$ , 1489,78  $\text{cm}^{-1}$ , 1583,25 e 1573,33  $\text{cm}^{-1}$ , 1608,74 e 1590,33  $\text{cm}^{-1}$ , 1618,65 e 1615,82  $\text{cm}^{-1}$ , 1720,61 e 1680,96  $\text{cm}^{-1}$ , 2585,88  $\text{cm}^{-1}$ , 2609,95 e 2600,04  $\text{cm}^{-1}$ , 2854,94 e 2614,20  $\text{cm}^{-1}$ , 2871,94 e 2862,02  $\text{cm}^{-1}$ , 2884,68 e 2876,19  $\text{cm}^{-1}$ , 2911,59 e 2905,92  $\text{cm}^{-1}$ , 2946,99 e 2945,58  $\text{cm}^{-1}$ , 3211,81 e 2976,73  $\text{cm}^{-1}$ , 3224,56 e 3217,48  $\text{cm}^{-1}$ , 3244,38 e 3228,81  $\text{cm}^{-1}$ , 3264,21 e 3248,63  $\text{cm}^{-1}$ , 3305,28 e 3279,79  $\text{cm}^{-1}$ , 3220,86 e 3310,94  $\text{cm}^{-1}$ , 3361,92 e 3347,76  $\text{cm}^{-1}$ , 3371,84 e 3364,76  $\text{cm}^{-1}$ , 3400,16 e 3386,00  $\text{cm}^{-1}$ , 3410,07 e 3405,82  $\text{cm}^{-1}$ , 3462,74 e 3412,90  $\text{cm}^{-1}$ , 3495,04 e 3466,72  $\text{cm}^{-1}$ , 3507,79 e 3499,29  $\text{cm}^{-1}$ , 3520,53 e 3513,45  $\text{cm}^{-1}$ , 3684,80 e 3523,36  $\text{cm}^{-1}$ , 3691,89 e 3689,05  $\text{cm}^{-1}$ , 3854,74  $\text{cm}^{-1}$ .

A acurácia da análise discriminante linear (LDA) para as amostras de 2014 foi de 62,5% e para as de 2017 foi de 61,90%; quando analisadas conjuntamente, a acurácia foi de 66,66%. A diminuição nas acurácias, em comparação com aquelas obtidas pelos dados de ATR, parece ter como causa a falta de definição dos espectros adquiridos por DRIFT, indicando que os dados gerados são mais difíceis de serem analisados por uma análise discriminante, possivelmente se apresentando como um ruído experimental e com isso mascarando as semelhanças e diferenças entre as amostras.

De todos os grupos de amostras de 2014 somente as amostras dos grupos A e G foram corretamente classificadas, os demais grupos tiveram pelo menos uma amostra mal classificada; já os grupos de amostras de 2017 todos apresentaram pelo menos uma amostra classificada erroneamente (Tabela 8). As amostras mal classificadas não apresentaram tendência de serem classificadas como pertencentes ao grupo E, ao contrário do que ocorreu nas LDAs das análises por ATR.

Para ambas apreensões serem analisadas juntas, procedeu-se como para a ATR, identificando-se as amostras do primeiro grupo de 2017 como grupo I, o segundo como J, e assim por diante (Tabela 8). Nessa configuração, apenas os grupos D, G e L tiveram todas suas amostras corretamente classificadas, em

contraste com os grupos M e N, que somente tiveram uma amostra bem classificada. Esperava-se que amostras classificadas erroneamente seriam classificadas como pertencentes ao ponto amostral geograficamente mais próximo ao seu, já que a probabilidade desse ponto apresentar as mesmas condições (ou condições muito similares) de microclima, tipo de solo, etc, seria maior em comparação a pontos amostrais mais distantes. Porém isso não ocorreu, indicando novamente a importância da variedade da planta e/ou do aquecimento das amostras na etapa de secagem e da sua idade. Adicionalmente, a pouca quantidade de amostras por grupo pode ter também contribuído com o baixo desempenho.

**Tabela 8.** Distribuição das amostras de *Cannabis* do Brasil nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos por DRIFT.

|   |   | Amostras de 2014         |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|--------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|   | A | B                        | C | D | E | F | G | H | - | - | - | - | - | - | - |
| A | 3 | 1                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |
| B | 0 | 2                        | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |
| C | 0 | 0                        | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |
| D | 0 | 0                        | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |
| E | 0 | 0                        | 0 | 1 | 4 | 1 | 0 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |
| F | 0 | 0                        | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |
| G | 0 | 0                        | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |
| H | 0 | 0                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |
|   |   | Amostras de 2017         |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|   | A | B                        | C | D | E | F | G | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A | 2 | 0                        | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| B | 0 | 2                        | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| C | 0 | 0                        | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| D | 0 | 0                        | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| E | 0 | 1                        | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| F | 0 | 0                        | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| G | 1 | 0                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |   |   |   |   |   |   |   |   |
|   |   | Amostras de 2014 e 2017* |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|   | A | B                        | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O |
| A | 2 | 0                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| B | 0 | 2                        | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C | 0 | 0                        | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| D | 0 | 0                        | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| E | 0 | 0                        | 1 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F | 0 | 0                        | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| G | 0 | 0                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| H | 0 | 0                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| I | 0 | 1                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| J | 0 | 0                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

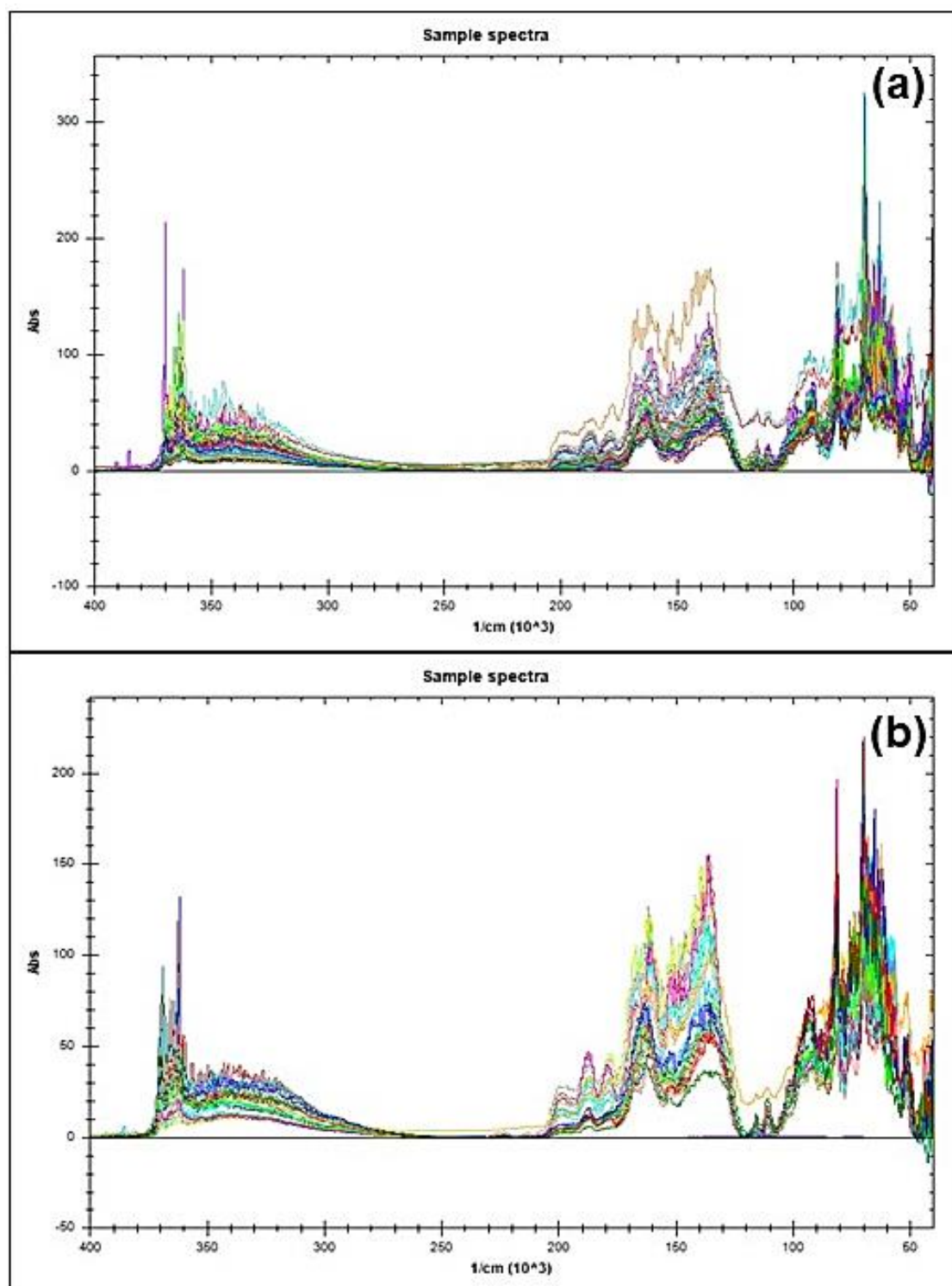


**Tabela 8.** Continuação

| <b>Amostras de 2014 e 2017*</b> |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
|---------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                                 | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> | <b>D</b> | <b>E</b> | <b>F</b> | <b>G</b> | <b>H</b> | <b>I</b> | <b>J</b> | <b>K</b> | <b>L</b> | <b>M</b> | <b>N</b> | <b>O</b> |
| <b>K</b>                        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 2        | 0        | 0        | 1        | 0        |
| <b>L</b>                        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 3        | 1        | 0        | 1        |
| <b>M</b>                        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 1        | 1        | 0        |
| <b>N</b>                        | 1        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 1        | 0        |
| <b>O</b>                        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 1        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 2        |

\*As amostras de 2014 e de 2017 foram analisadas concomitantemente no mesmo conjunto de dados.

Em relação as amostras de solo (Figura 10), as bandas de absorção em 1.740 a 1.698  $\text{cm}^{-1}$  e 1.640 a 1.600  $\text{cm}^{-1}$  indicam a presença de grupos funcionais da matéria orgânica relativamente hidrofílica do solo (Ellerbrock, Gerke & Böhm, 2009). O estiramento de grupos C=O de ácidos carboxílicos e cetonas, por exemplo, ocorre entre 1.740-1.698  $\text{cm}^{-1}$  (van der Marel & Beutelspacher, 1976). A banda a 1.630  $\text{cm}^{-1}$  se refere a grupos C=O ligados a carboxilatos (Celi et al., 1997) e a grupos aromáticos se estiverem conjugados com grupos C=O (cetonas insaturadas, ácidos carboxílicos ou amidas (MacCarthy & Rice, 1985; Hesse et al., 1984). As bandas entre 1.660 e 1.600  $\text{cm}^{-1}$  também podem se referir ao dobramento de grupos OH de moléculas de água em camadas de hidratação de filosilicatos do solo (Mendelovici et al., 1995; Spaccini et al., 2001) (Figura 10).



**Figura 10.** Espectros das amostras de solo de 2014 (a) e 2017 (b) do Brasil analisadas por DRIFT, 64 scans, resolução  $4\text{ cm}^{-1}$ , número de onda entre  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ .

A acurácia da LDA para as amostras de 2014 foi de 87,5% e para as de 2017 foi de 88,00%. Quando analisadas conjuntamente, a acurácia é de 86,41%. Com exceção dos grupos A, D e H, os demais grupos de 2014 tiveram todas as suas amostras corretamente classificadas. Já para os grupos de 2017, os grupos

C, D e F tiveram todas as suas amostras corretamente classificadas (Tabela 9). Os grupos que apresentaram classificações erradas não tiveram um desempenho tão baixo em comparação com a classificação das amostras de *Cannabis* analisadas por DRIFT, possivelmente devido a maior homogeneidade das amostras de solo, e maior número de amostras por grupos, de forma geral, e número de grupos, facilitando a identificação de padrões entre as amostras e entre grupos.

Para fazer a LDA das amostras de solo de 2014 e de 2017 juntas, foi necessário definir que o primeiro grupo de 2017 se identificasse como grupo I, o segundo como J, e assim sucessivamente. Os grupos B, C, D, G, J, K e L tiveram todas as suas amostras corretamente classificadas, enquanto que os demais tiveram poucas amostras classificadas erroneamente (Tabela 9).

**Tabela 9.** Distribuição das amostras de solo do Brasil nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos por DRIFT

| Amostras coletadas em 2014 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                            | A | B | C | D | E | F | G | H | - | - | - | - | - | - |
| A                          | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |
| B                          | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |
| C                          | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |
| D                          | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |
| E                          | 1 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |
| F                          | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |
| G                          | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |   |   |   |   |   |   |
| H                          | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |   |   |   |   |   |   |

| Amostras coletadas em 2017 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                            | A | B | C | D | E | F | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A                          | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| B                          | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| C                          | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| D                          | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| E                          | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| F                          | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 |   |   |   |   |   |   |   |   |

| Amostras coletadas em 2014 e 2017* |   |   |   |   |    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|------------------------------------|---|---|---|---|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                                    | A | B | C | D | E  | F | G | H | I | J | K | L | M | N |
| A                                  | 3 | 0 | 0 | 2 | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| B                                  | 0 | 8 | 0 | 0 | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C                                  | 0 | 0 | 6 | 0 | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| D                                  | 0 | 0 | 0 | 6 | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| E                                  | 1 | 0 | 0 | 0 | 10 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| G                                  | 1 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0 | 5 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| H                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 2  | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**Tabela 9.** Continuação

| <b>Amostras coletadas em 2014 e 2017*</b> |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|   | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> | <b>D</b> | <b>E</b> | <b>F</b> | <b>G</b> | <b>H</b> | <b>I</b> | <b>J</b> | <b>K</b> | <b>L</b> | <b>M</b> | <b>N</b> |
| <b>I</b>                                  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 6        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        |
| <b>J</b>                                  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 3        | 0        | 0        | 0        | 0        |
| <b>K</b>                                  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 3        | 0        | 0        | 0        |
| <b>L</b>                                  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 3        | 0        | 0        |
| <b>M</b>                                  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 2        | 0        |
| <b>N</b>                                  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 5        |

\*As amostras de 2014 e de 2017 foram analisadas concomitantemente no mesmo conjunto de dados.

A maior uniformidade e menor tamanho de partículas das amostras de solo conferiram melhores resultados nas leituras feitas por DRIFT em comparação com as amostras de planta, o que foi evidenciado pelas maiores acurácias da LDA, tendo em vista que esses dois fatores são importantes para a obtenção de espectros na análise de DRIFT (Larkin, 2018). Supõe-se, então, que a acurácia da LDA para as análises de planta aumente se as partículas que compõem as amostras sejam menores e mais uniformes, o que se conseguiria secando as amostras por meio de liofilização, por exemplo. O uso de tal processo de secagem não foi possível na presente tese devido a problemas operacionais.

### **5.1.2 Análise cromatográfica (cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas, LC-MS)**

Em todas as amostras foi possível detectar e quantificar cannabinoide (CBN) entre 0,14 e 46,28 µg/mL (Tabela 10). Nas amostras 98, 105, 106, 107, 110, 111, 112, 113, 117, 118, 119, 122, 123, 124 e extra 3 foi possível observar alta concentração desse canabinoide e baixa concentração de  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC). Como o THC começa a se degradar quando a planta não está mais biologicamente ativa, e com isso forma CBN (Dujourdy & Besacier, 2017), é esperado que nessas amostras em que as concentrações de CBN são mais altas as concentrações de THC sejam mais baixas. A concentração média de CBN nas amostras de 2014 é de 12,27 µg/mL, enquanto que nas de 2017 é de 5,01 µg/mL, o que sugere que a alta temperatura empregada para secar as amostras de 2014 assim como sua idade aumentaram a produção de CBN. Porém, o fato de as amostras de *Cannabis* de ambas apreensões não terem sido

mantidas sob refrigeração também acarretou na degradação das amostras, fazendo com que produzissem CBN.

**Tabela 10.** Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) dos canabinoides detectados em amostras de apreensão de *Cannabis* do Brasil.

| Amostras de 2014 |      |      |      |       | Amostras de 2017 |     |       |       |       |
|------------------|------|------|------|-------|------------------|-----|-------|-------|-------|
| CA               | CPA  | THC  | THCA | CBN   | CA               | CPA | THC   | THCA  | CBN   |
| 94               | 1    | -    | AL   | 1,41  | 151              | 9   | 0,47  | 0,72  | 0,55  |
| 95               | 1    | 0,18 | 0,18 | 6,20  | 152              | 9   | 4,31  | 5,57  | 5,04  |
| 96               | 1    | -    | AL   | 6,90  | 153              | 9   | AL    | 0,29  | 0,14  |
| 98               | n.a. | 0,82 | AL   | 16,22 | 154              | 10  | 16,16 | 4,57  | 9,03  |
| 99               | 2    | AL   | AL   | 2,81  | 155              | 10  | 17,93 | 6,28  | 12,95 |
| 100              | 2    | AL   | AL   | 3,19  | 156              | 10  | 17,13 | 5,22  | 11,39 |
| 101              | 2    | AL   | AL   | 7,22  | 157              | 11  | 7,31  | 7,38  | 5,88  |
| 104              | 3    | 0,36 | -    | 6,97  | 158              | 11  | 5,96  | 5,03  | 3,95  |
| 105              | 3    | 0,55 | -    | 24,31 | 159              | 11  | 12,82 | 10,96 | 5,18  |
| 106              | 4    | 1,29 | -    | 13,98 | 160              | 12  | 10,36 | 5,48  | 3,50  |
| 107              | 4    | 1,69 | AL   | 15,14 | 161              | 12  | 7,12  | 7,13  | 2,91  |
| 110              | 5    | 0,66 | AL   | 12,27 | 162              | 12  | 9,37  | 10,23 | 3,42  |
| 111              | 5    | AL   | AL   | 11,36 | 163              | 13  | 2,96  | 1,05  | 4,38  |
| 112              | 5    | 0,51 | AL   | 9,86  | 164              | 13  | 6,90  | 2,62  | 4,84  |
| 113              | 5    | 0,19 | AL   | 13,01 | 165              | 13  | 3,10  | 2,21  | 5,56  |
| 114              | 5    | -    | -    | 0,99  | 166              | 14  | 7,51  | 2,89  | 3,38  |
| 116              | 6    | -    | -    | 2,51  | 167              | 14  | 6,83  | 1,84  | 2,13  |
| 117              | 6    | 0,16 | AL   | 8,18  | 168              | 14  | 7,17  | 3,07  | 3,72  |
| 118              | 6    | AL   | AL   | 29,62 | 169              | 15  | 12,70 | 6,28  | 8,47  |
| 119              | 7    | 0,15 | AL   | 9,87  | 170              | 15  | 3,56  | 3,08  | 4,10  |
| 121              | 7    | 0,37 | AL   | 6,39  | 171              | 15  | 9,80  | 7,87  | 4,71  |
| 122              | 8    | 5,45 | 0,18 | 21,18 |                  |     |       |       |       |
| 123              | 8    | 2,64 | 0,4  | 46,28 |                  |     |       |       |       |
| 124              | 8    | 0,18 | AL   | 16,05 |                  |     |       |       |       |
| extra 3          | n.a. | 0,10 | AL   | 14,96 |                  |     |       |       |       |

THC:  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol. THCA: ácido-tetrahydrocannabinólico. CBN: cannabiol. CA: código da amostra. CPA: código do ponto amostral (Figura 6).

AL : abaixo do limite de quantificação.

- : não detectado.

n.a.: amostra sem origem geográfica conhecida.

Não foi possível detectar THC em algumas amostras (94, 96, 114, 116 e extra 3), e em outras (99, 100, 101, 111, 118, 153) suas concentrações estavam abaixo do limite de quantificação do método (Tabela 10). As concentrações mais altas de THC foram encontradas nas amostras 154, 155, 156, 159, 160 e 169. As concentrações mais altas de THCA foram encontradas nas amostras 159 e 162. Já nas amostras 94, 96, 98, 99, 100, 101, 107, 110, 111, 112, 113, 117, 118, 119, 121, 124 e extra 3 o THCA foi apenas detectado, e nas amostras 104, 106 e 116 não foi detectado. Nas amostras quantificadas, as concentrações

encontradas de THCA geralmente foram inferiores ou semelhantes as apresentadas para THC. O CBD foi detectado apenas nas amostras 157, 158, 169 e 170, e o CBDA foi detectado nas amostras 123, 152, 154, 155, 156, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169 e 170, mas suas concentrações não eram quantificáveis. De forma geral, amostras provenientes do mesmo ponto amostral apresentaram concentrações semelhantes de canabinoides.

Em relação a percentagem de THC nas amostras, as de 2014 apresentaram valores entre 0,0003 (amostra extra 3) e 0,0182% (amostra 122), e as de 2017 entre 0,0005 (amostra 151) e 0,0179% (amostra 155). O valor médio das percentagens de THC nas amostras de 2014 (0,0032%) é de aproximadamente 10 vezes menor do que o de 2017 (0,0282%), devido a etapa de secagem a alta temperatura, a idade da planta e as condições de armazenamento, fazendo com que o THC sofresse descarboxilação e formasse CBN (Dujourdy & Besacier, 2017), cujos teores percentuais são 0,0033 (amostra 114) e 0,1543% (amostra 123) para as amostras de 2014 e 0,00045 (amostra 153) e 0,0432% (amostra 155) para as de 2017.

Todas as amostras contêm consideravelmente menos que 0,3% de THC em sua composição, então são classificadas como tipo fibra. Contudo, se considerarmos somente a equação proposta por Fetterman et al. (1971), composta pelas concentrações de THC, CBN e CBD para a classificação de *Cannabis* entre tipo droga ou tipo fibra, teríamos duas situações: (a) as amostras não poderiam ser classificadas já que o valor de CBD teria que ser considerado zero, e com isso teríamos uma impossibilidade matemática, ou (b) que todas as amostras seriam classificadas como tipo droga, já que o CBD não estava presente ou não estava presente em quantidades quantificáveis nas amostras de 2014 e de 2017, logo, pode-se especular que o valor de CBD tenderia a zero, e com isso o valor de THC e CBN poderia exceder falsamente o valor estipulado por Fetterman et al. (1971) para considerar uma amostra como fibra, acarretando na sua classificação como droga.

O teste-t (Tabela 11) mostrou que há diferença estatística, a 5% de significância, entre as amostras provenientes das apreensões de 2014 e de 2017 devido às concentrações do THC, THCA e CBN, o que provavelmente se deu por causa das diferentes abordagens para a secagem das plantas, já que em 2014 as plantas foram submetidas a 105 °C por um dia, e as de 2017 a 40 °C

por sete dias, e também pela própria idade e degradação natural das plantas. Outros fatores que podem ter contribuído, mas não têm como ser avaliados por serem desconhecidos, são a variedade das plantas, o tipo de solo, a forma de cultivo, o microclima, a geologia dos locais de coleta, entre outros.

**Tabela 11.** Teste-t das concentrações de canabinoides quantificados por LC-MS a partir de amostras de *Cannabis* do Brasil.

| Variable | T-tests; Grouping: Secagem Group 1: 2014 Group 2: 2017 |              |          |    |          |                 |                 |                  |                  |                      |                |
|----------|--|--------------|----------|----|----------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|----------------------|----------------|
|          | Mean<br>2014   | Mean<br>2017 | t-value  | df | p        | Valid N<br>2014 | Valid N<br>2017 | Std.Dev.<br>2014 | Std.Dev.<br>2017 | F-ratio<br>Variances | p<br>Variances |
| THC      | 0,612  | 8,07         | -7,12157 | 44 | 0,000000 | 25              | 21              | 1,18892          | 5,083383         | 18,281               | 0,000000       |
| THCA     | 0,030  | 4,75         | -7,98101 | 44 | 0,000000 | 25              | 21              | 0,09167          | 2,962085         | 1044,021             | 0,000000       |
| CBN      | 12,275   | 5,01         | 3,17598  | 44 | 0,002728 | 25              | 21              | 10,05451         | 3,169217         | 10,065               | 0,000002       |

Inicialmente foi feita a análise discriminante linear (LDA) das amostras de 2014 e de 2017 separadamente. As amostras 98 e extra 3 foram excluídas por não terem origem geográfica conhecida. A LDA das amostras de 2014 obteve uma acurácia de apenas 39,13%, enquanto que a das amostras de 2017 obteve 80,95%, e quando analisadas juntas, a acurácia baixou para 38,63%. Observa-se que quase todas as amostras de 2014 foram classificadas, incorretamente, como pertencentes a um só grupo, o grupo E (Tabela 12). A mesma tendência foi observada na análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR).

**Tabela 12.** Distribuição das amostras de *Cannabis* do Brasil nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos pela LC-MS.

| Amostras coletadas em 2014 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                            | A | B | C | D | E | F | G | H | - | - | - | - |
| A                          | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |
| B                          | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |   |   |   |   |
| C                          | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |   |   |   |   |
| D                          | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |
| E                          | 1 | 3 | 1 | 1 | 4 | 1 | 2 | 1 |   |   |   |   |
| F                          | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |
| G                          | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |
| H                          | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |   |   |   |   |

| Amostras coletadas em 2017 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                            | A | B | C | D | E | F | G | - | - | - | - | - |
| A                          | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |
| B                          | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |
| C                          | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 |   |   |   |   |   |
| D                          | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |

Tabela 12. Continuação

| Amostras coletadas em 2017         |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                                    | A | B | C | D | E | F | G | - | - | - | - | - | - | - | - |
| E                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| F                                  | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| G                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |
| Amostras coletadas em 2014 e 2017* |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|                                    | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O |
| A                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| B                                  | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| D                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| E                                  | 2 | 3 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| F                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| G                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| H                                  | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| I                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| J                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| K                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| L                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| M                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| N                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 |
| O                                  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |

\*As amostras de 2014 e de 2017 foram analisadas concomitantemente no mesmo conjunto de dados.

Dezessete das 21 amostras (80,95%) de 2017 foram corretamente classificadas, somente uma amostra do grupo C foi alocada no grupo E, uma amostra do grupo D foi para o grupo F, e duas amostras do grupo G, que foram classificadas como pertencentes aos grupos C e E (Tabela 12). Apesar de as amostras de 2017 serem de origens geográficas muito mais próximas do que várias amostras de 2014, o que tenderia a dificultar a sua classificação, quase 81% delas foram corretamente classificadas, o que indica que a metodologia de secagem de amostras de *Cannabis*, assim como sua idade e forma de armazenamento, impacta não somente a sua composição química, mas também a acurácia da LDA. Contudo, isso não impediu que fossem rastreadas utilizando essa análise estatística, somente diminuiu a acurácia do rastreamento, mostrando que a LDA é uma ferramenta confiável e útil para a ciência forense já que é capaz de detectar semelhanças existentes mesmo entre amostras bastante distintas, e classificá-las com acurácia satisfatória.

Quando as amostras de 2014 e de 2017 foram analisadas em conjunto encontrou-se novamente a tendência de as amostras de outros grupos serem

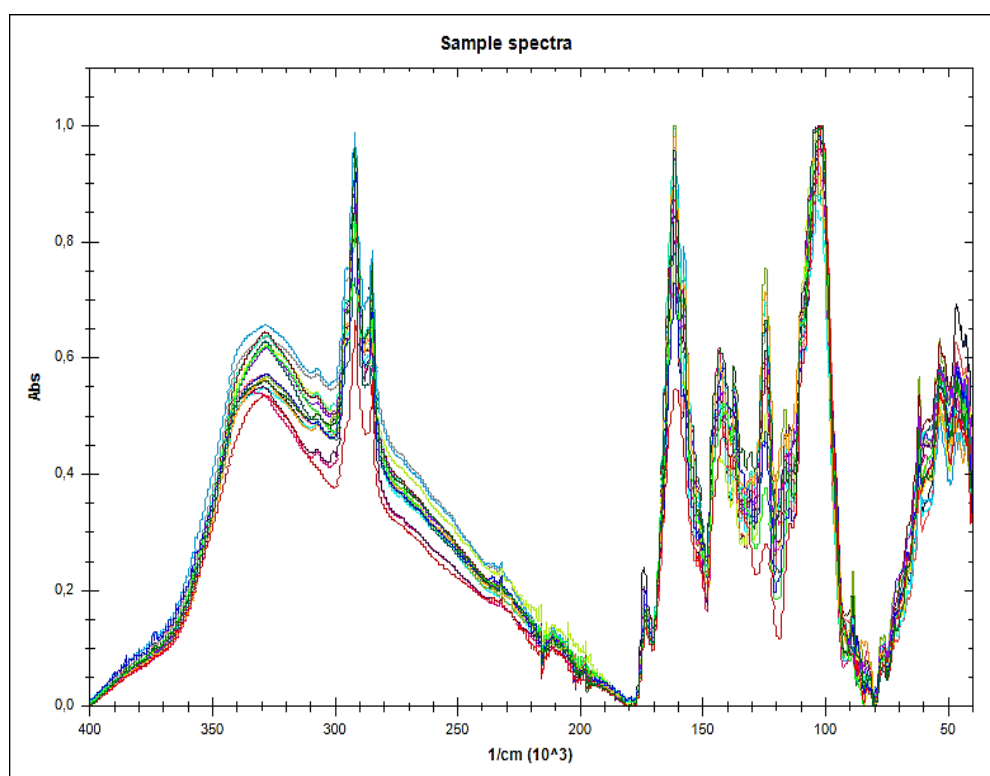


atribuídas ao grupo E. Ademais, somente os grupos E, H, J, K, M, N e O tiveram algumas amostras classificadas corretamente (Tabela 12). Para poder fazer a LDA das amostras de 2014 e de 2017 juntas (Tabela 12) foi necessário identificar as amostras do primeiro grupo de 2017 como grupo I, o segundo grupo como J, e assim por diante.

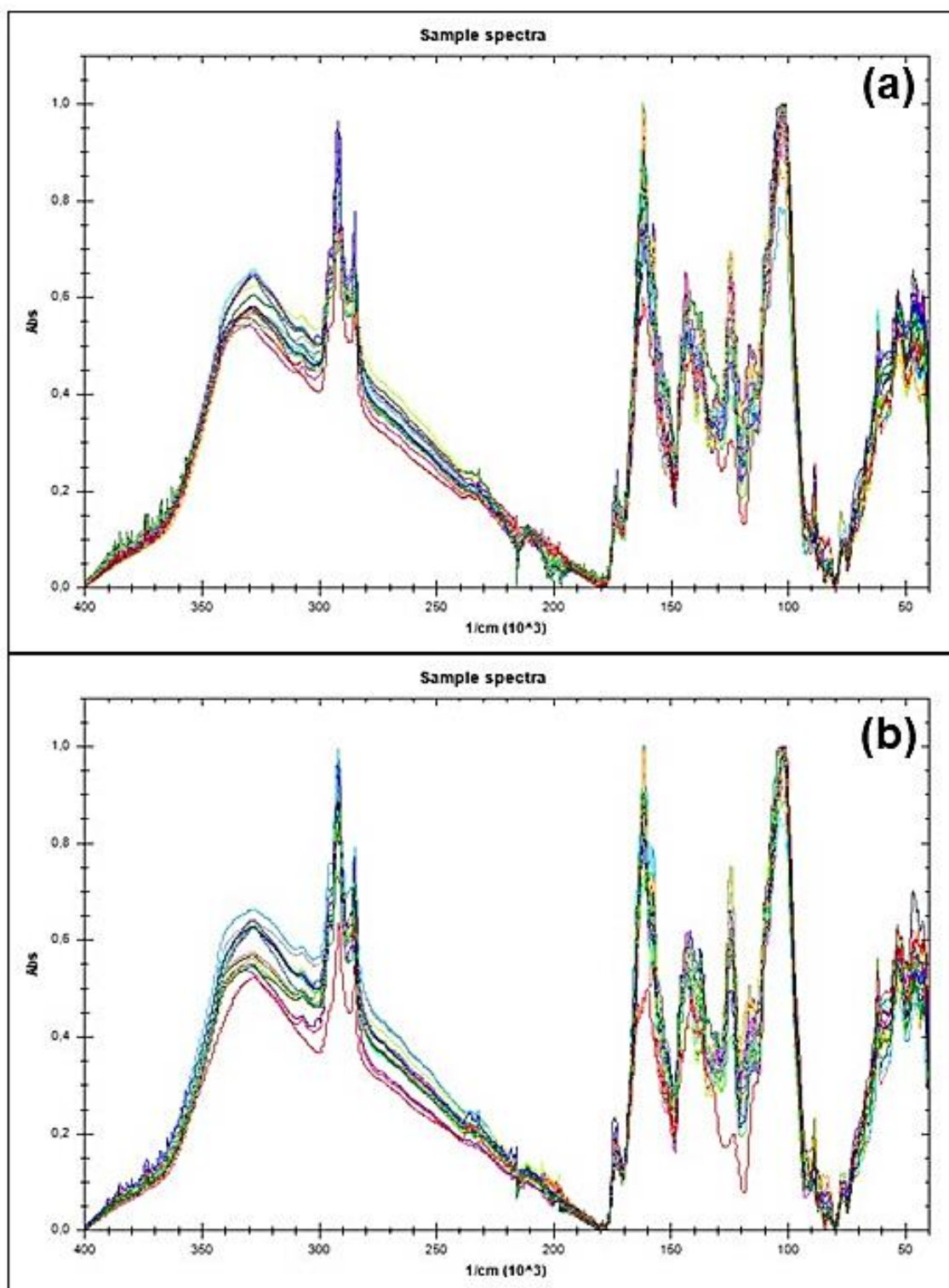
## 5.2 Amostras provenientes dos Estados Unidos da América

### 5.2.1 Análise espectroscópica (espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada - ATR)

Observa-se uma grande diferença de intensidade de absorbância em todos os espectros das análises de planta (Figuras 11 e 12), especialmente entre  $3.500$  e  $3.000\text{ cm}^{-1}$  e  $2.800$  e  $2.400\text{ cm}^{-1}$ , e que a resolução de  $2\text{ cm}^{-1}$  evidenciou mais a presença de ruído entre  $3.900$  e  $3.500\text{ cm}^{-1}$  (Figura 12a). As atribuições dos grupos funcionais encontrados pela análise constam na Tabela 13.



**Figura 11.** Espectros das amostras de *Cannabis* do Colorado analisadas por ATR com 32 scans, resolução  $4\text{ cm}^{-1}$ , número de onda  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 12.** Espectros das amostras de *Cannabis* do Colorado analisadas por ATR com 100 scans, resolução 2 cm<sup>-1</sup> (a) e 100 scans, resolução 4cm<sup>-1</sup> (b), número de onda 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

**Tabela 13.** Atribuição dos principais grupos funcionais encontrados nas amostras de planta do Colorado por ATR.

| <b>Bandas (cm<sup>-1</sup>)</b> | <b>Atribuição</b>  | <b>Grupos</b>   |
|---------------------------------|--|---|
| 3279                            | Estiramento de O-H em ligações de H (e estiramento de N-H se houver abundância de N) | Compostos orgânicos que possuem OH  |
| ~3000                           | Estiramento de C-H de anel aromático   |   |
| 2917                            | Estiramento de C-H   | R-CH <sub>3</sub>   |
| 2848                            | Estiramento de C-H   | R-CH <sub>2</sub> -R ou -C-H terciário  |
| 1733                            | Estiramento de C=O de -COOH e/ou cetonas   |   |
| 1615                            | Estiramento de C=C H de anel aromático   |   |
| 1577                            | Estiramento de N-H de aminas primárias e/ou amidas                                   |   |
| 1516                            | Estiramento de N-H de aminas primárias e/ou amidas                                   |   |
| 1417                            | Dobramento assimétrico de C-H  | R-CH <sub>3</sub>   |
| 1375                            | Dobramento simétrico de C-H  | R-CH <sub>3</sub>   |
| 1245                            | Dobramento C-O de -COOH  |   |
| 1144                            | Dobramento C-O de álcoois ou de éteres alifáticos                                    |   |
| ~1100                           | Dobramento C-O-C, estiramento C-O de polissacarídeos                                 | Pode ser atribuído a carboidratos, ésteres, ácidos carboxílicos,...           |
| 1014                            | Dobramento C-O e/ou Si-O   | Pode ser atribuído a carboidratos, ésteres, ácidos carboxílicos, silicatos... |
| 884                             | Dobramento C-H de aromáticos Fe-OH ou Al-OH  |   |

O teste-t evidenciou que as amostras provenientes das apreensões de 2014 e de 2017 analisadas com 32 scans e resolução 4 cm<sup>-1</sup> diferem estatisticamente, a 5% de significância, nos números de onda 3997,77 cm<sup>-1</sup>, entre 3993,92 e 3986,20 cm<sup>-1</sup>, 1861,00 e 1832,07 cm<sup>-1</sup>, 1828,21 e 1797,36 cm<sup>-1</sup>, 1789,64 e 1785,79 cm<sup>-1</sup>, 798,39 e 781,04 cm<sup>-1</sup>. As amostras analisadas com 100 scans e resolução 2 cm<sup>-1</sup> diferem estatisticamente nos números de onda 2159,91 cm<sup>-1</sup>, 2153,16 e 2152,20 cm<sup>-1</sup>, 2137,74 e 2136,77 cm<sup>-1</sup>, 805,14 e 804,18 cm<sup>-1</sup>, 792,61 a 789,72 cm<sup>-1</sup>, 763,68 a 753,07 cm<sup>-1</sup>, enquanto que as amostras analisadas com 100 scans e resolução 4 cm<sup>-1</sup> diferem nos números de onda 3997,77 a 3991,99 cm<sup>-1</sup>, 3988,13 a 3984,27 cm<sup>-1</sup>, 1857,14 a 1849,43 cm<sup>-1</sup>, 1839,78 a 1832,07 cm<sup>-1</sup>, 1822,43 a 1803,14 cm<sup>-1</sup>, 1797,36 cm<sup>-1</sup>, 1787,71 e 1785,79 cm<sup>-1</sup>, 794,54 a 784,89 cm<sup>-1</sup>.

A análise discriminante linear (LDA) realizada com 32 scans, resolução 4 cm<sup>-1</sup>, número de onda entre 4.000 e 400 cm<sup>-1</sup>, 100 scans, resolução 2 cm<sup>-1</sup>, e 100 scans, resolução 4 cm<sup>-1</sup>, apresentou acurácias de 94,44%, 100% e 94,44%,

respectivamente. Esses resultados assemelham-se àqueles encontrados para as análises por ATR das amostras de planta de 2017 do Brasil, mas não àqueles provenientes das análises de *Cannabis* de 2014, indicando que fatores responsáveis pela degradação da planta, como temperatura de secagem e idade, foram determinantes para a acurácia da LDA. O tamanho de partículas, considerado importante em análises por ATR (Udvardi et al., 2017; Kontopoulos et al., 2018) de todas as amostras tanto do Brasil quanto dos Estados Unidos era muito similar visualmente, logo, esse fator pode ser descartado.

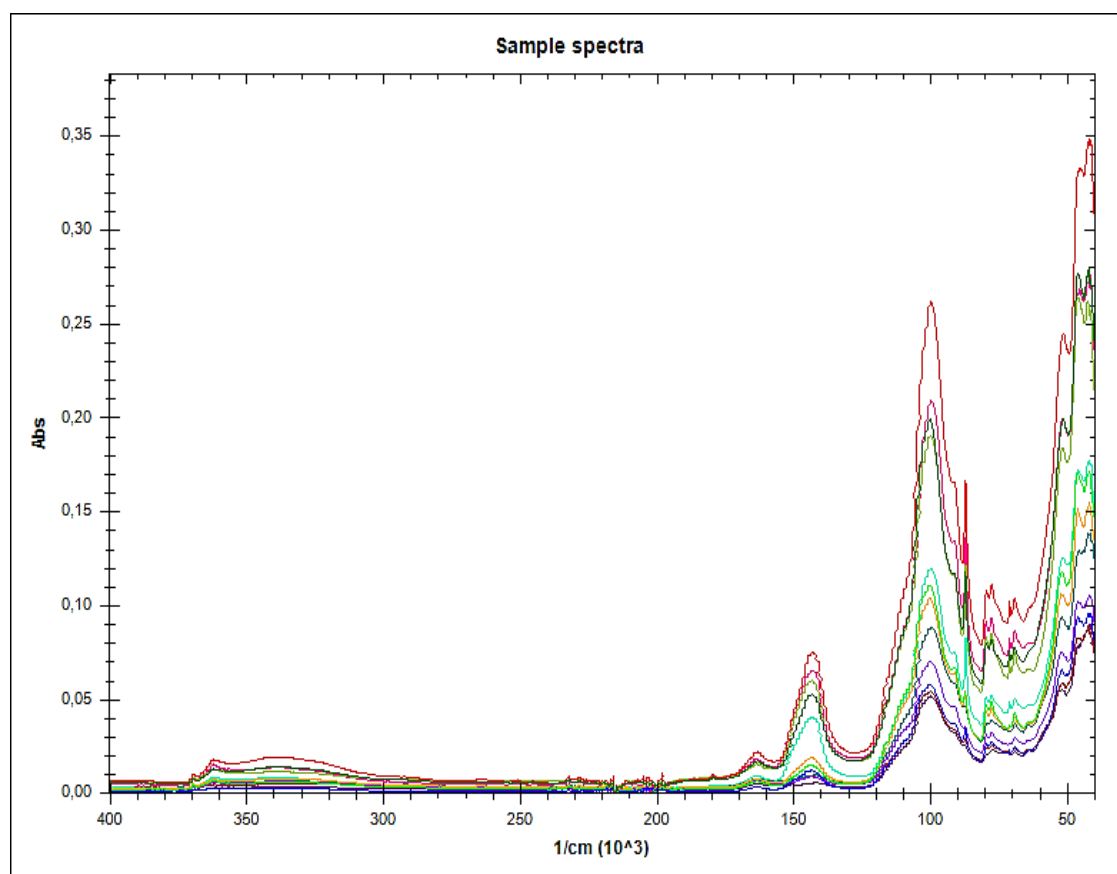
A resolução da análise, aparentemente, foi a variável que definiu o melhor desempenho mostrado pela LDA, sendo um fator chave no rastreamento de *Cannabis* utilizando ATR. O maior número de dados gerados pela maior resolução amplifica a quantidade de informação que será analisada pela LDA, que, por sua vez, detectará padrões entre as amostras e entre grupos mais facilmente.

Na LDA, os grupos B, D e E tiveram todas as suas amostras corretamente classificadas em todas as abordagens testadas para a ATR; somente uma amostra foi mal classificada no grupo A na abordagem utilizando 32 scans, e o grupo C também teve somente uma amostra classificada erroneamente na abordagem com 100 scans e resolução 4 cm<sup>-1</sup> (Tabela 14).

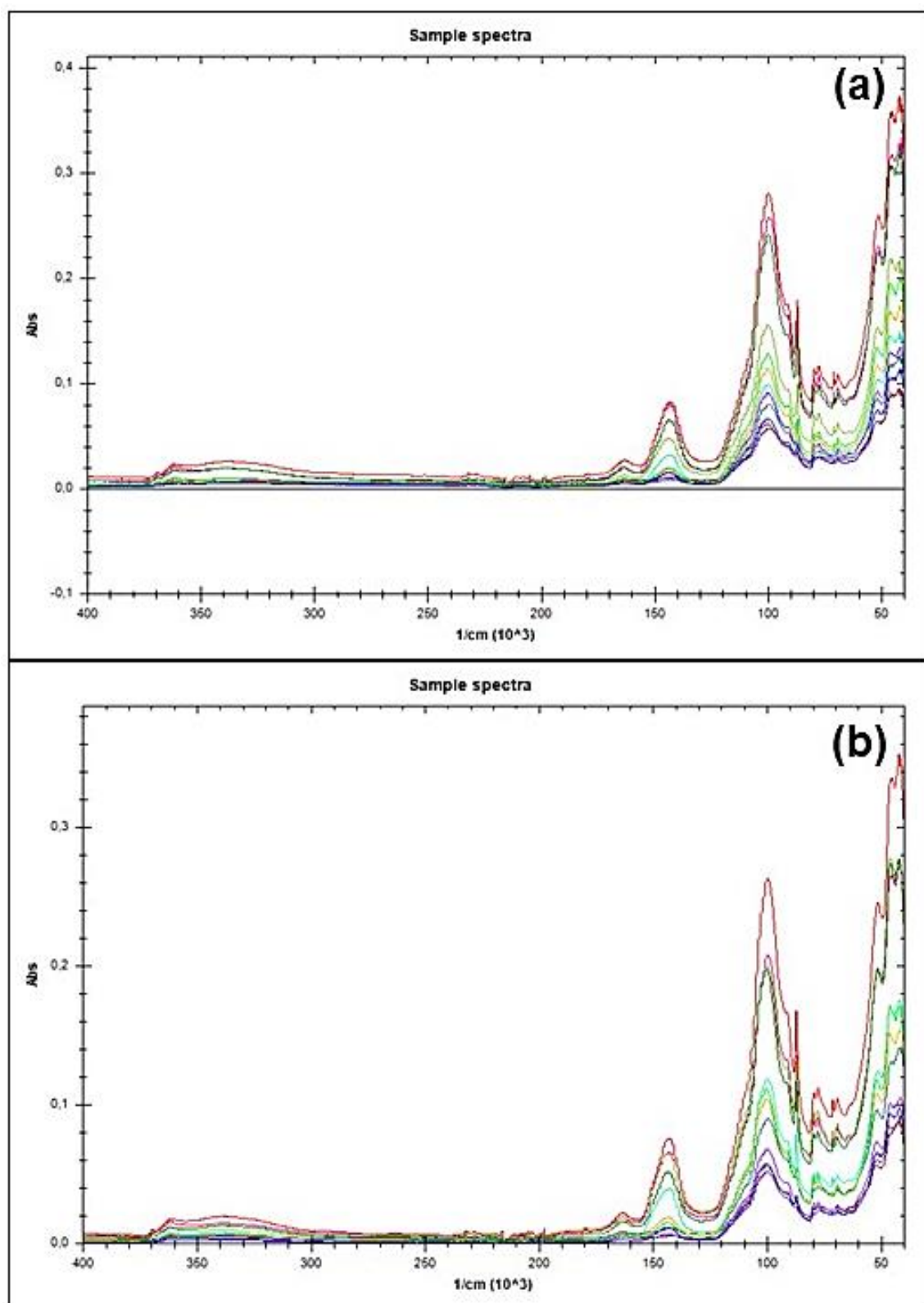
**Tabela 14.** Distribuição das amostras de *Cannabis* do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos por ATR.

| ATR planta 32 scans, resolução 4 cm <sup>-1</sup> , número de onda 4.000 a 400 cm <sup>-1</sup>  |   |   |   |   |   |   |
|--|---|---|---|---|---|---|
|  | A | B | C | D | E |   |
| A  | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| B  | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C  | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| D  | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| E  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| ATR planta 100 scans, resolução 2 cm <sup>-1</sup> , número de onda 4.000 a 400 cm <sup>-1</sup> |   |   |   |   |   |   |
|  | A | B | C | D | E |   |
| A  | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| B  | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C  | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| D  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| E  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| ATR planta 100 scans, resolução 4 cm <sup>-1</sup> , número de onda 4.000 a 400 cm <sup>-1</sup> |   |   |   |   |   |   |
|  | A | B | C | D | E |   |
| A  | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| B  | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| C  | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| D  | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| E  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |

Em relação às amostras de solo (Figuras 13 e 14), observa-se uma grande diferença de intensidade de absorvância em todos os espectros, especialmente na região de *fingerprint*, entre aproximadamente 1.500 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , e que a resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$  fez com que o espectro ficasse mais rugoso, especialmente entre 1.200 e 900  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 14a). As atribuições dos grupos funcionais encontrados pela análise constam na Tabela 15.



**Figura 13.** Espectro das amostras de solo do Colorado analisadas por ATR com 32 scans, resolução 4  $\text{cm}^{-1}$ , número de onda 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 14.** Espectro das amostras de solo do Colorado analisadas por ATR com 100 scans, resolução  $2 \text{ cm}^{-1}$  (a) e 100 scans, resolução  $4 \text{ cm}^{-1}$  (b), número de onda 4000 a  $400 \text{ cm}^{-1}$ .

**Tabela 15.** Atribuição dos principais grupos funcionais encontrados nas amostras de solo do Colorado por ATR.

| <b>Bandas (cm<sup>-1</sup>)</b> | <b>Atribuição</b>                                       | <b>Grupos</b>                     |
|---------------------------------|---|-----------------------------------|
| ~3700                           | Estiramento de O-H                                      | Octaedros em minerais silicatados |
| 1435                            | C=O   | Possivelmente carbonato           |
| 1003                            | Estiramento de Si-O e dobramento assimétrico de Si-O-Si | -                                 |
| 915                             | Dobramento de Al-OH e/ou de Fe-OH                       | -                                 |

As avaliações por LDA a partir dos dados das análises de ATR com 32 scans, resolução 4 cm<sup>-1</sup>, número de onda entre 4.000 e 400 cm<sup>-1</sup>, 100 scans, resolução 2 cm<sup>-1</sup>, número de onda entre 4.000 e 400 cm<sup>-1</sup> e 100 scans, resolução 4 cm<sup>-1</sup>, número de onda entre 4.000 e 400 cm<sup>-1</sup> apresentaram acurácias de 100%, 90,90% e 90,90%, respectivamente.

Diferentemente da análise de *Cannabis* do Colorado por ATR, a resolução não impactou os resultados da LDA, sendo que a análise com somente 32 scans e resolução 4 cm<sup>-1</sup> foi a que teve a maior acurácia, enquanto as demais abordagens apresentaram a mesma acurácia. Somente uma amostra das duas abordagens com 100 scans foi mal classificada, uma amostra do grupo D foi classificada como parte do grupo B (Tabela 16).

**Tabela 16.** Distribuição das amostras de solo do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos por ATR.

| <b>ATR solo 32 scans, resolução 4 cm<sup>-1</sup>, número de onda 4.000 a 400 cm<sup>-1</sup></b>  |          |          |          |          |
|--|----------|----------|----------|----------|
|  | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>D</b> | <b>E</b> |
| <b>A</b>   | 2        | 0        | 0        | 0        |
| <b>B</b>   | 0        | 3        | 0        | 0        |
| <b>D</b>   | 0        | 0        | 3        | 0        |
| <b>E</b>   | 0        | 0        | 0        | 3        |
| <b>ATR solo 100 scans, resolução 2 cm<sup>-1</sup>, número de onda 4.000 a 400 cm<sup>-1</sup></b> |          |          |          |          |
|  | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>D</b> | <b>E</b> |
| <b>A</b>   | 2        | 0        | 0        | 0        |
| <b>B</b>   | 0        | 3        | 1        | 0        |
| <b>D</b>   | 0        | 0        | 2        | 0        |
| <b>E</b>   | 0        | 0        | 0        | 3        |
| <b>ATR solo 100 scans, resolução 4 cm<sup>-1</sup>, número de onda 4.000 a 400 cm<sup>-1</sup></b> |          |          |          |          |
|  | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>D</b> | <b>E</b> |
| <b>A</b>   | 2        | 0        | 0        | 0        |
| <b>B</b>   | 0        | 3        | 1        | 0        |

**Tabela 16.** Continuação

| ATR solo 100 scans, resolução 4 cm <sup>-1</sup> , número de onda 4.000 a 400 cm <sup>-1</sup> |   |   |   |   |
|--|---|---|---|---|
|  | A | B | D | E |
| D  | 0 | 0 | 2 | 0 |
| E  | 0 | 0 | 0 | 3 |

### 5.2.2 Análise cromatográfica (cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos, HPLC-DAD)

O ácido canabidivarínico (CBDVA) se degradou em algumas amostras quando a secagem foi feita na estufa. Isso foi observado, por exemplo, nas amostras 188 e 189, que são originalmente a mesma amostra que foi dividida em duas partes (uma das metades – a 188 - foi seca em estufa e a outra metade – a 189 – foi seca ao ar, como explicado na seção 4. Material e Métodos). A amostra 189 apresentou uma concentração de 5,53 µg/mL enquanto que a amostra 188 apresentou 0,00 µg/mL (Tabela 17). A concentração de cannabidiol (CBD) aumentou mais de 10 vezes em quase todos os casos devido a secagem na estufa. As amostras de planta que são da mesma variedade (variedade *Cherry Wine*), que são provenientes dos pontos de coleta 17 e 18 (Figura 7, Tabela 2), quando secas ao ar apresentam teores de CBD semelhantes às amostras dos demais pontos amostrais, mas quando secas em estufa a concentração desse canabinoide aumenta muito mais do que as amostras secas em estufa do ponto 16, por exemplo, que é de outra variedade. Esse padrão também se repetiu para o cannabigerol (CBG), indicando que a variedade e a proximidade geográfica são fatores que, separadamente ou em conjunto, afetam a concentração de alguns canabinoides se as plantas forem secas ou mantidas em locais a pelo menos 40 °C. Houve formação de cannabicromeno (CBC) e de  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) em todas as amostras secas em estufa, a última sendo explicada pela descarboxilação do ácido- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinólico-A (THCAA), cuja concentração diminuiu com a secagem em estufa.



**Tabela 17.** Concentração de canabinoides nas amostras do Colorado.

|            | <b>CBDVA</b>  | <b>CBDA</b> | <b>CBD</b> | <b>CBGA</b> | <b>CBG</b> | <b>THCAA</b> | <b>THC</b> | <b>CBCA</b> | <b>CBC</b> |
|------------|---------------|-------------|------------|-------------|------------|--------------|------------|-------------|------------|
|            | <b>µg/mL*</b> |             |            |             |            |              |            |             |            |
| <b>174</b> | 0,0           | 3934,8      | 648,2      | 55,4        | 0,0        | 246,1        | 58,9       | 175,6       | 27,0       |
| <b>175</b> | 0,0           | 1660,8      | 530,2      | 0,0         | 0,0        | 85,5         | 24,5       | 56,3        | 18,3       |
| <b>176</b> | 0,0           | 3626,6      | 65,6       | 62,8        | 0,0        | 285,7        | 0,0        | 181,6       | 0,0        |
| <b>177</b> | 0,0           | 3552,1      | 94,0       | 17,3        | 0,0        | 239,6        | 0,0        | 198,8       | 0,0        |
| <b>182</b> | 0,0           | 6827,6      | 1041,1     | 505,6       | 113,4      | 1607,2       | 1352,8     | 231,2       | 84,4       |
| <b>183</b> | 0,0           | 2803,1      | 78,9       | 394,1       | 0,0        | 2447,5       | 50,9       | 325,5       | 0,0        |
| <b>184</b> | 0,0           | 4146,8      | 965,7      | 272,6       | 87,5       | 120,4        | 75,8       | 235,1       | 0,0        |
| <b>185</b> | 0,0           | 3163,3      | 37,2       | 233,0       | 0,0        | 205,5        | 0,0        | 184,0       | 0,0        |
| <b>186</b> | 0,0           | 2237,1      | 1981,2     | 141,9       | 536,6      | 72,9         | 205,9      | 279,1       | 0,0        |
| <b>187</b> | 0,0           | 3848,7      | 131,9      | 224,5       | 0,0        | 306,4        | 0,0        | 513,6       | 0,0        |
| <b>188</b> | 0,0           | 2873,4      | 1746,9     | 60,3        | 52,8       | 41,6         | 140,5      | 224,1       | 336,4      |
| <b>189</b> | 5,5           | 4533,9      | 129,3      | 127,0       | 0,0        | 291,5        | 0,0        | 750,7       | 0,0        |
| <b>193</b> | 0,0           | 3485,3      | 83,7       | 76,9        | 0,0        | 208,7        | 0,0        | 258,5       | 0,0        |
| <b>194</b> | 35,6          | 7482,8      | 282,3      | 279,3       | 0,0        | 436,4        | 0,0        | 375,6       | 0,0        |
| <b>195</b> | 14,9          | 5138,0      | 165,3      | 87,6        | 2,6        | 307,5        | 0,0        | 476,3       | 0,0        |
| <b>199</b> | 4,0           | 6436,5      | 172,6      | 392,9       | 0,0        | 419,5        | 0,0        | 504,0       | 0,0        |
| <b>200</b> | 0,0           | 4624,1      | 181,3      | 273,2       | 0,0        | 267,4        | 0,0        | 294,4       | 0,0        |
| <b>201</b> | 0,0           | 3209,7      | 213,6      | 418,6       | 0,0        | 313,2        | 0,0        | 348,8       | 0,0        |

CBDVA: ácido cannabidivarínico; CBDA: ácido cannabidiólico; CBD: cannabidiol; CBGA: ácido cannabigerólico; CBG: cannabigerol; THCAA: ácido tetrahidrocannabinólico-A; THC: tetrahidrocannabinol; CBCA: ácido cannabicromênico; CBC: cannabicromeno

\*Médias de triplicatas

Os canabinoides ácido tetrahidrocannabidivarínico (THCVA), tetrahidrocannabidivarino (THCV), cannabidivarino (CBDV) e cannabiol (CBN) não foram detectados em nenhuma amostra. A ausência de CBN indica que as amostras foram bem acondicionadas, já que esse canabinoide é formado a partir da degradação do THC quando a planta não está mais biologicamente ativa, e denuncia a ocorrência de condições de armazenamento inadequadas. Ademais, a refrigeração a 7 °C mostrou ser capaz de preservar a composição de canabinoides da planta por períodos de aproximadamente um ano, tempo que as amostras ficaram armazenadas até a análise cromatográfica ser feita.

O teste-t (Tabela 18) mostrou que há diferença estatística, a 5% de significância, entre as duas formas de secagem das amostras (na estufa ou ao ar) devido às concentrações (µg/mL) do CBD, CBG, THC, CBC e CBCA.

**Tabela 18.** Teste-t das concentrações de canabinoides quantificados por HPLC-DAD a partir de amostras de *Cannabis* do Colorado.

| Variable | Mean estufa | Mean ao ar | t-value  | df | p        | T-tests; Grouping: Secagem |                | Std.Dev. estufa | Std.Dev. ao ar | F-ratio Variances | p Variances |
|----------|-------------|------------|----------|----|----------|----------------------------|----------------|-----------------|----------------|-------------------|-------------|
|          |             |            |          |    |          | Group 1: estufa            | Group 2: ao ar |                 |                |                   |             |
| CBDVA    | 0           | 5,006      | -1,1388  | 16 | 0,271551 | 6                          | 12             | 0               | 10,603         | 0                 | 1           |
| CBD      | 1152,218    | 136,305    | 6,08625  | 16 | 0,000016 | 6                          | 12             | 588,039         | 70,208         | 70,15             | 0           |
| CBG      | 131,726     | 0,216      | 2,31152  | 16 | 0,034456 | 6                          | 12             | 203,546         | 0,748          | 74141,73          | 0           |
| CBDA     | 3613,419    | 4325,336   | -0,91053 | 16 | 0,376056 | 6                          | 12             | 1842,463        | 1419,065       | 1,69              | 0,436751    |
| CBGA     | 172,617     | 215,611    | -0,54632 | 16 | 0,592384 | 6                          | 12             | 188,655         | 140,909        | 1,79              | 0,389955    |
| THC      | 309,724     | 4,244      | 2,1201   | 16 | 0,049981 | 6                          | 12             | 515,041         | 14,703         | 1227,02           | 0           |
| CBC      | 77,697      | 0          | 2,13023  | 16 | 0,04902  | 6                          | 12             | 130,492         | 0              | 0                 | 1           |
| THCAA    | 362,277     | 477,404    | -0,37065 | 16 | 0,715762 | 6                          | 12             | 614,014         | 624,471        | 1,03              | 1           |
| CBCA     | 200,21      | 367,647    | -2,28036 | 16 | 0,036631 | 6                          | 12             | 77,839          | 169,156        | 4,72              | 0,09921     |

Como o CBN não foi detectado em nenhuma amostra, excluiu-se esse canabinoide do cálculo proposto pela United Nations Office on Drugs and Crime (2009) para classificação de *Cannabis* e tipo fibra ou tipo droga. As amostras 174, 175, 182, 183 e 184, 186 e 188 apresentaram relação THC/CBD de 0,091, 0,046, 1,299, 0,645, 0,078, 0,104 e 0,080 µg/mL, respectivamente, e as demais apresentaram 0 µg/mL. Com isso, todas essas amostras são classificadas como tipo fibra, com exceção da amostra 182 que apresentou uma relação THC/CBD acima de 1 (1,299), sendo classificada como droga.

Sete das 18 amostras de planta apresentaram percentagens de THC maiores que zero, sendo elas a 174, 175, 182, 183, 184, 186 e 188, as demais amostras têm 0% de THC. Entre essas amostras com teor de THC maior que zero a única que foi seca ao ar é a 183, as restantes foram secas em estufa. Somente a amostra 182 foi classificada como droga já que apresentou 1,35% de THC em sua composição, bastante acima do limite de 0,3%. Coincidentemente, as amostras 182 e 183 são a mesma amostra que foi dividida e cada metade foi seca diferentemente.

A amostra 183, seca ao ar e que “originou” a amostra 182, apresenta apenas 0,05% de THC, mas quando aquecida a 40 °C por sete dias essa concentração passou a ser 1,35%, ultrapassando os limites legais estipulados pelos Estados Unidos, de 0,3%. Se essa planta fosse aquecida para ser consumida por algum usuário, poderia chegar a temperaturas mais altas do que 40 °C e apresentar efeitos alucinógenos causados pelo THC.

Percebe-se então a dificuldade em se produzir alimentos e/ou medicamentos a partir de *Cannabis*, e também de exportar ou importar a planta ou produtos gerados a partir dela, já que cada planta precisaria ter o THC

quantificado, a fim de garantir que todas as plantas são do tipo fibra mesmo quando aquecidas/queimadas. Segundo Gertsch (2018), a padronização de *Cannabis* medicinal é urgente. Além das dificuldades encontradas na qualificação e quantificação dos seus compostos devido às diferentes respostas que diferentes solventes, métodos de secagem e de extração e análise podem ocasionar (Namdar et al., 2018), há ainda diversos e importantes problemas em relação a identificação incorreta de produtos (alterando a variedade da planta, por exemplo), possivelmente visando torná-los mais atraentes aos consumidores. Além disso, há também a ocorrência de concentrações duvidosas de canabinoides apresentadas nos relatórios de laboratórios que analisam esses produtos (Jikomes & Zoorob, 2018).

A análise discriminante linear (LDA) (Tabela 19), que foi feita utilizando as percentagens de cada canabinoide presente nas amostras de *Cannabis*, apresentou 94,44% de acurácia. Observa-se na Tabela 19 que somente uma amostra do grupo E foi erroneamente classificada como parte do grupo B, resultando em uma diminuição na acurácia da LDA para os resultados da análise em HPLC-DAD.

**Tabela 19.** Distribuição das amostras de *Cannabis* do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA a partir dos dados adquiridos pela HPLC-DAD.

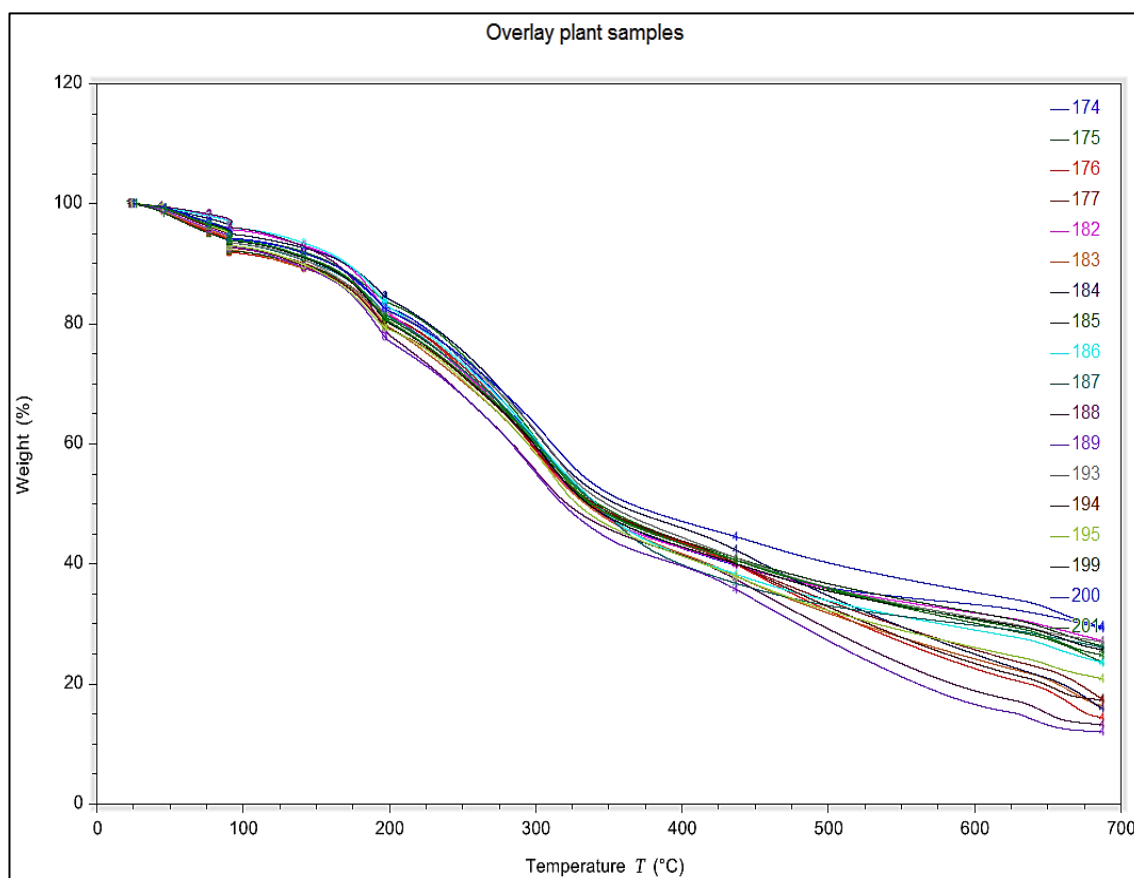
|          | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> | <b>D</b> | <b>E</b> |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <b>A</b> | 4        | 0        | 0        | 0        | 0        |
| <b>B</b> | 0        | 6        | 0        | 0        | 1        |
| <b>C</b> | 0        | 0        | 2        | 0        | 0        |
| <b>D</b> | 0        | 0        | 0        | 3        | 0        |
| <b>E</b> | 0        | 0        | 0        | 0        | 2        |

### 5.2.3 Análise termogravimétrica (TGA)

Em relação as amostras de planta, observa-se um padrão uniforme de resposta à temperatura até atingirem aproximadamente 400 °C (Figura 15), quando, a partir daí, começam a perder massa a diferentes taxas, possivelmente devido à degradação de lignina (Wongsiriamnuay & Tippayawong, 2010). O fato de as amostras estarem relativamente bem separadas na faixa entre 90 e 200 °C indica que a TGA foi consideravelmente sensível para detectar perdas de compostos presentes em baixas quantidades como os canabinoides e terpenos.

Contudo, evidenciou mais claramente as perdas de compostos presentes em concentrações mais altas e que se degradam em aproximadamente 400 °C em diante, como a lignina, cujo teor em plantas jovens é geralmente de 5% e em plantas maduras de até 15% (Carvalho et al., 2010), assim como a celulose e a hemicelulose, que também são grandes responsáveis pela composição da parede das plantas, representando até 15 e 30% da sua massa, respectivamente (Carvalho et al., 2010). A degradação mais tardia da lignina é explicada pela sua natureza relativamente recalcitrante, por ser uma biomolécula aromática com presença de carbono orgânico coloidal não-hidrolizável e ligações C-C entre as unidades fenilpropanoides (Haider & Guggenberger, 2005).

Entre 90 e 200 °C há a degradação/descarboxilação/ponto de fusão de vários canabinoides e terpenos. Na faixa entre 200 e 375 °C ocorre a degradação de celulose, hemicelulose (Wongsiriamnuay & Tippayawong, 2010) e de diversos compostos voláteis (Werle et al., 2019).



**Figura 15.** Resultado da TGA: amostras de *Cannabis* do Colorado agrupadas.

A amostra 176 perdeu menos componentes (10,20%) na faixa 90 a 200 °C, enquanto que a amostra 188 foi a que mais perdeu componentes (16,95%) (Tabela 20) em comparação com as demais amostras. Os compostos perdidos nessa faixa de temperatura podem ser, principalmente, água, canabinoides e terpenos, ou seja, supõe-se que a amostra 188 tivesse maiores concentrações desses compostos em comparação com a amostra 176.

Em relação a faixa entre 200 e 700 °C, a amostra 200 perdeu menos componentes (53,49%) enquanto que a amostra 184 perdeu mais componentes (68,29%) em comparação com as demais amostras (Tabela 20). Considerando que entre 200 e 375 °C há degradação de celulose, hemicelulose (Wongsiriamnuay & Tippayawong, 2010) e perda de compostos voláteis (Werle et al., 2019), e entre 375 e 700 °C há degradação de lignina (Wongsiriamnuay & Tippayawong, 2010), os resultados indicam a possibilidade de verificar quais amostras têm maior teor de fibras, podendo-se selecionar aquelas que preferencialmente seriam utilizadas em indústrias.

**Tabela 20.** Percentagem de perdas de componentes das amostras de *Cannabis* do Colorado entre as faixas de 90 a 200 °C e de 200 a 700 °C.

| <b>Amostra</b> | <b>Perdas entre 90 e 200 °C (%)</b> | <b>Perdas entre 200 e 700 °C (%)</b> |
|----------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 174            | 11,09                               | 54,32                                |
| 175            | 10,31                               | 60,42                                |
| 176            | 10,20                               | 68,12                                |
| 177            | 10,93                               | 63,93                                |
| 182            | 13,14                               | 55,27                                |
| 183            | 12,14                               | 63,75                                |
| 184            | 10,28                               | 68,29                                |
| 185            | 10,80                               | 55,35                                |
| 186            | 12,36                               | 60,13                                |
| 187            | 11,58                               | 55,92                                |
| 188            | 16,95                               | 66,52                                |
| 189            | 14,87                               | 66,52                                |
| 193            | 11,41                               | 55,97                                |
| 194            | 13,21                               | 63,31                                |
| 195            | 13,65                               | 59,30                                |
| 199            | 13,03                               | 55,38                                |
| 200            | 11,56                               | 53,49                                |
| 201            | 12,80                               | 56,58                                |

O teste-t mostrou que há diferença estatística, a 5% de significância, entre as amostras secas ao ar e aquelas secas em estufa somente entre 90 e 200,824

°C. Em relação a análise discriminante linear (LDA), como as análises de TGA resultam em extensas quantidades de dados, foi necessário selecionar faixas de temperatura a fim de reduzir a dimensão desses dados. Observou-se a eficácia dessa abordagem uma vez que a primeira faixa de temperatura, de 90 a 200 °C, tem uma quantidade de dados muito maior do que o restante das faixas devido a redução na rampa de temperatura, o que reduziu a acurácia da LDA. As acurácias encontradas pela LDA para as faixas de temperatura de 90-200 °C, 200-300 °C, 300-400 °C, 400-500 °C, 500-600 °C e 600-700 °C foram de 44,44%, 100%, 94,44%, 83,33%, 72,22%, e 100%, respectivamente. Como a faixa de 200 a 300 °C apresentou 100% de acurácia, abre-se a possibilidade de parar a análise em 300 °C, fazendo com que haja economia de tempo e de gás nitrogênio, enquanto se atinge uma acurácia desejável.

Os resultados de acurácia parecem ter relação com os desvios-padrão dos dados em cada faixa de temperatura, já que quanto maior o desvio-padrão maior a acurácia da LDA para a análise de TGA, com exceção das faixas 90-200 °C e 400-500 °C, que apresentaram os menores desvios-padrão (3,84 e 3,44, respectivamente); no entanto, a faixa 90-200 °C apresentou menor acurácia do que a outra (44,44% e 72,22%, respectivamente).

Os grupos B e C ficam próximos um do outro no gráfico gerado pela LDA (dados não mostrados), enquanto os demais grupos ficam bem separados. Isso era esperado, considerando que esses dois grupos são os mais próximos geograficamente (aproximadamente 15 km de distância entre si), além de a variedade das plantas ser a mesma. Ainda assim, a LDA foi capaz de distinguir os grupos com acurácia de até 100%. Em relação a atribuição das amostras em grupos (Tabela 21), para a faixa de temperatura entre 90 e 200 °C, somente o grupo E teve todas as suas amostras corretamente classificadas, os demais grupos tiveram uma amostra mal classificada.

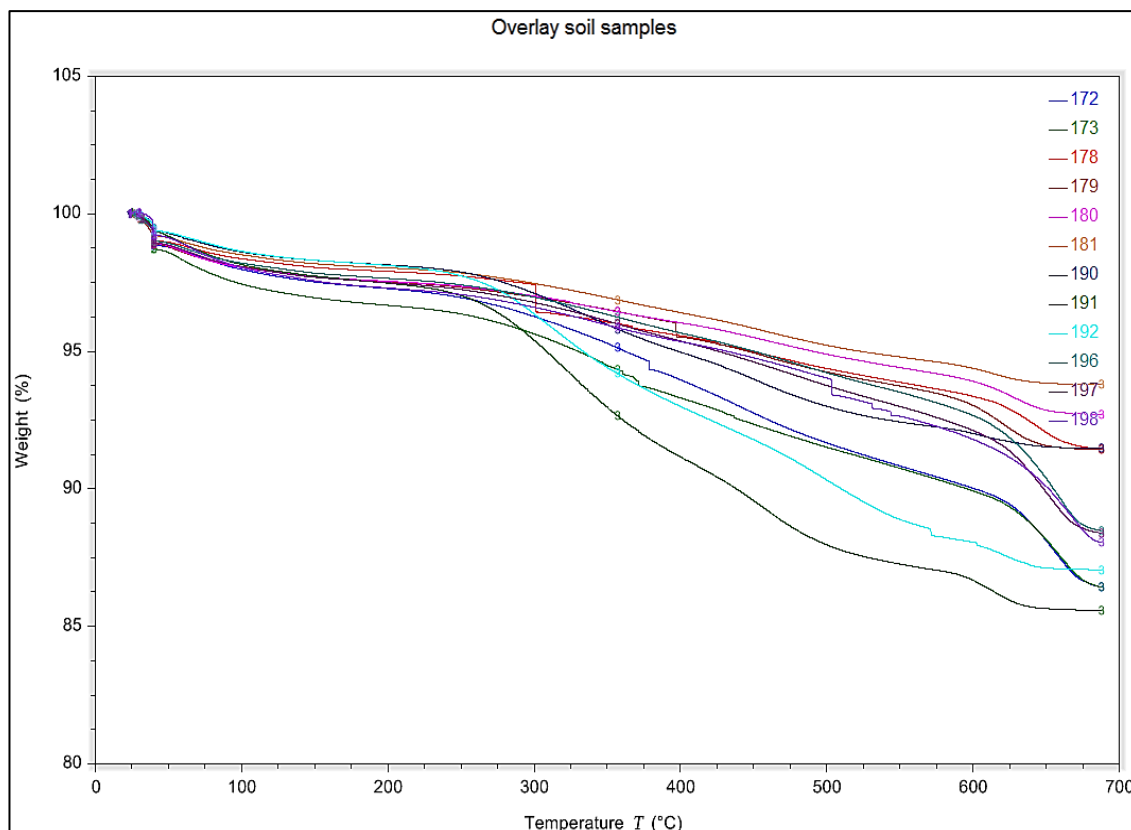
**Tabela 21.** Distribuição das amostras de *Cannabis* do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA.

|          |          | <b>TGA <i>Cannabis</i> 90 a 200 °C</b> |          |          |          |  |
|----------|----------|--|----------|----------|----------|--|
|          | <b>A</b> | <b>B</b>                               | <b>C</b> | <b>D</b> | <b>E</b> |  |
| <b>A</b> | 1        | 0                                      | 0        | 0        | 0        |  |
| <b>B</b> | 3        | 5                                      | 0        | 2        | 3        |  |
| <b>C</b> | 0        | 0                                      | 1        | 0        | 0        |  |
| <b>D</b> | 0        | 1                                      | 1        | 1        | 0        |  |
| <b>E</b> | 0        | 0                                      | 0        | 0        | 0        |  |

**Tabela 21.** Continuação

| <b>TGA Cannabis 200 a 300 °C</b> |          |          |          |          |          |   |
|----------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|---|
|                                  | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> | <b>D</b> | <b>E</b> |   |
| <b>A</b>                         | 4        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0 |
| <b>B</b>                         | 0        | 6        | 0        | 0        | 0        | 0 |
| <b>C</b>                         | 0        | 0        | 2        | 0        | 0        | 0 |
| <b>D</b>                         | 0        | 0        | 0        | 3        | 0        | 0 |
| <b>E</b>                         | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 3 |

Para as amostras de solo (Figura 16), as perdas de massa estão associadas a interações entre os minerais e a matéria orgânica presente no solo. A inflexão que começa no início da análise e termina em aproximadamente 250 °C está associada a desidratação da água adsorvida a superfícies de esmectitas (Jananee, Thangam & Rajalakshmi, 2019). A perda de massa entre aproximadamente 270 e 370 °C pode ter sido causada pela desidroxilação de goethita e pela desidroxilação de caulinita entre 500 e 560 °C (Diko, Ekosse & Ogola, 2016). Adicionalmente, as amostras que perderam grandes quantidades de massa a partir de aproximadamente 275 °C, como as amostras 191 e 192, possivelmente também possuem maior teor de matéria orgânica em comparação com as demais, especialmente com o solo 181, devido a degradação da celulose, hemicelulose e lignina ocorrer a partir dessa temperatura.

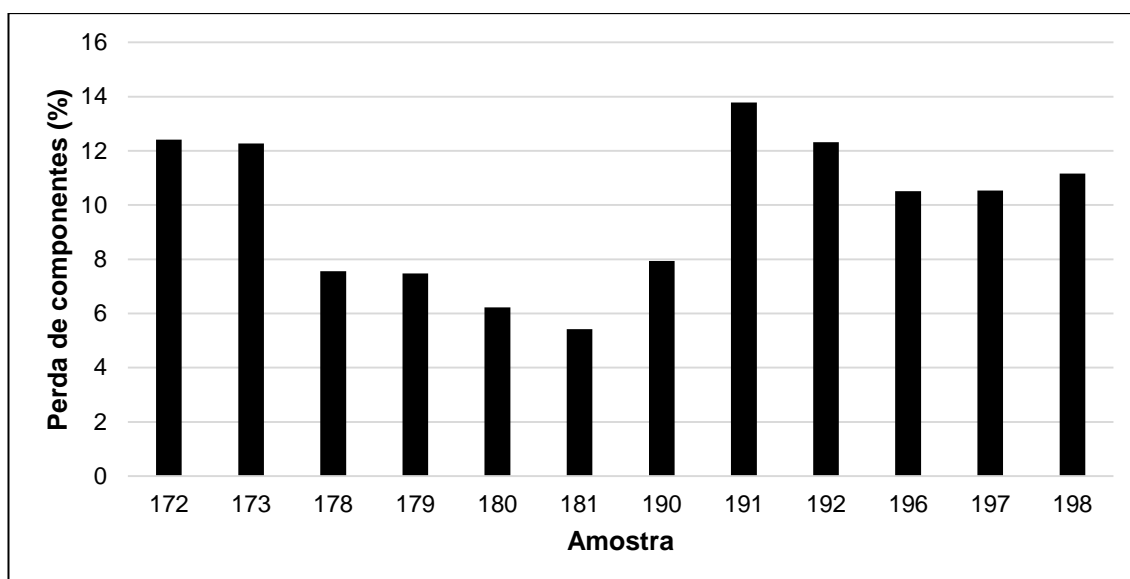


**Figura 16.** Resultado da TGA: amostras de solo do Colorado agrupadas.

As amostras perderam entre 5,42 e 13,78% da sua massa entre 40 e 700 °C (Figura 17). A amostra 181 foi a que perdeu menos componentes (5,42%), enquanto que a amostra 191 foi a que mais perdeu (13,78%). Observa-se uma tendência de perdas de massa similares entre amostras provenientes da mesma origem geográfica, com exceção da amostra 190, que perdeu consideravelmente menos massa do que as amostras 191 e 192, sendo todas provenientes do mesmo local.

As acurácias encontradas na LDA para as faixas de temperatura 40-100 °C, 100-200 °C, 200-300 °C, 300-400 °C, 400-500 °C, 500-600 °C, e 600-700 °C foram 90,91%, 90,91%, 90,91%, 100%, 81,81%, 100% e 100%, respectivamente. Algumas amostras do ponto B e do ponto E tendem a ficar próximas nos gráficos gerados pelas LDAs (dados não mostrados), o que foi confirmado pelos resultados mostrados na Tabela 22, em que uma amostra do grupo E foi classificada como pertencente ao grupo B, e uma amostra do grupo B foi classificada como parte do grupo E. Isso possivelmente se deu por conta de semelhantes teores de determinados minerais e/ou matéria orgânica.





**Figura 17.** Percentagem de perdas de componentes das amostras de solo do Colorado entre 40 e 700 °C.

**Tabela 22.** Distribuição das amostras de solo do Colorado nos grupos referentes à sua localização geográfica feita pela LDA.

| <b>TGA solo 400 a 500 °C</b> |          |          |          |          |   |
|------------------------------|----------|----------|----------|----------|---|
|                              | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>D</b> | <b>E</b> |   |
| <b>A</b>                     | 2        | 0        | 0        | 0        | 0 |
| <b>B</b>                     | 0        | 2        | 0        | 0        | 1 |
| <b>D</b>                     | 0        | 0        | 3        | 0        | 0 |
| <b>E</b>                     | 0        | 1        | 0        | 0        | 2 |
| <b>TGA solo 300 a 400 °C</b> |          |          |          |          |   |
|                              | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>D</b> | <b>E</b> |   |
| <b>A</b>                     | 2        | 0        | 0        | 0        | 0 |
| <b>B</b>                     | 0        | 3        | 0        | 0        | 0 |
| <b>D</b>                     | 0        | 0        | 3        | 0        | 0 |
| <b>E</b>                     | 0        | 0        | 0        | 0        | 3 |

## 6. CONCLUSÕES

A percentagem de THC nas amostras foi determinante para a sua classificação entre tipo droga ou tipo fibra, não sendo possível calcular a razão fenotípica, que considera o teor de CBD, já que esse canabinoide não foi detectado ou não se encontrava em quantidades quantificáveis em muitas amostras, o que não exclui a possibilidade dessas amostras terem ação psicotomimética.

Observou-se acurácias maiores para as amostras de *Cannabis* e de solo do Colorado, Estados Unidos. A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR) e a análise termogravimétrica (TGA) alcançaram acurácias de até 100%, especialmente ao se considerar a pouca disponibilidade de amostras por grupos e poucos grupos.

A análise discriminante linear (LDA) se mostrou uma ferramenta estatística adequada na classificação das amostras do Brasil e dos Estados Unidos, tendo em vista as grandes diferenças existentes nos conjuntos de dados das amostras provenientes desses países.

Considerando-se os resultados obtidos, assim como o tempo de preparação de amostra e de tempo de análise, insumos necessários para realizar as análises e rejeitos gerados (quando aplicável), a ATR é a técnica mais recomendável para o rastreamento de *Cannabis*, já que apresentou acurácias acima de 90% (de forma geral), requer pouca preparação de amostra, não é uma técnica destrutiva, não exige insumos, não gera resíduos, e o custo por análise é muito baixo. A mesma análise é recomendada para o rastreamento de solo, podendo ser empregado na área forense.

Dentro das condições experimentais e os procedimentos e análises realizados, as técnicas avaliadas são capazes de rastrear a origem geográfica de amostras de *Cannabis* e do solo em que essas amostras foram cultivadas no Brasil e nos Estados Unidos da América.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.; BAKER, B. R.; WEARN, R. B. Structure of Cannabinol. III. Synthesis of Cannabinol, 1-Hydroxy-3-n-amy-6,6,9-trimethyl-6-dibenzopyran. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, DC, v. 62, p. 2204-2207, 1940. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja01865a083>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01865a083>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ADAMS, R. *et al.* Structure of cannabidiol. VIII. position of the double bonds in cannabidiol. Marijuana activity of tetrahydro-cannabinols. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, DC, v. 62, p. 2566-2567, 1940. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja01866a510>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01866a510>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ALASKA. Marijuana use in Alaska and the United States. **Data & Statistics**, Apr. 2018. Disponível em: [http://dhss.alaska.gov/dph/Director/Documents/marijuana/MJ\\_AKandUS\\_DataSurveySummary.pdf](http://dhss.alaska.gov/dph/Director/Documents/marijuana/MJ_AKandUS_DataSurveySummary.pdf). Acesso em: 31 jul. 2019.

ALLISON, G. G. Application of Fourier Transform Mid-Infrared Spectroscopy (FTIR) for research into biomass feed-stocks. *In*: NIKOLIC, G. **Fourier transforms: new analytical approaches and FTIR strategies**. Rijeka: InTech, 2011. p. 71–88.

AMBROŽ, M. *et al.* Sesquiterpenes alpha-humulene and beta-caryophyllene oxide enhance the efficacy of 5-fluorouracil and oxaliplatin in colon cancer cells. **Acta Pharmaceutica**, Zagreb, v. 69, p. 121–128, 2019. DOI: <https://doi.org/10.2478/acph-2019-0003>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31259712/>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ANDRE, C. M.; HAUSMAN, J-F.; GUERRIERO, G. *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 1-17, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00019>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.00019/full>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ANJOS, O. *et al.* FTIR-ATR spectroscopy applied to quality control of grape-derived spirits. **Food Chemistry**, London, v. 205, p. 28-35, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.128>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814616302965?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ARGENTINA. Secretaria de Programación para la Prevención de la Drogadicción y la Lucha contra el Narcotráfico. **Uma mirada específica sobre la problemática del consumo y abuso de Marihuana.** [Buenos Aires]: Área de Investigaciones. Observatorio Argentino de Drogas, 2011. Disponível em: <http://www.observatorio.gov.ar/media/k2/attachments/miradaZmarihuana-.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2019.

ARGENTINA. Casa Rosada. Presidencia de la Nación. **Seguridad y narcotráfico.** [Buenos Aires], 2019. Disponível em: <https://www.caserosada.gob.ar/2-uncategorised/39926-seguridad-y-narcotrafico>. Acesso em: 2 jul. 2019.

BARNES, M. P. Sativex®: clinical efficacy and tolerability in the treatment of symptoms of multiple sclerosis and neuropathic pain. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, London, v. 7, p. 607-615, 2006. DOI:<https://doi.org/10.1517/14656566.7.5.607>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14656566.7.5.607>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BATTEN, G. D. Plant analysis using near infrared reflectance spectroscopy: the potential and the limitations. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 38, p. 697–706, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1071/EA97146>. Disponível em: <https://www.publish.csiro.au/an/EA97146>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BEDINI, S. *et al.* *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus* essential oils as novel controltools against the invasive mosquito *Aedes albopictus* and fresh water snail *Physella acuta*. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 85, p. 318–323, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669016301510?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BEN-SHABAT, S. *et al.* An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 353, p. 23–31, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(98\)00392-6](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(98)00392-6). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299998003926?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BERMAN, P. *et al.* A new ESI-LC/MS approach for comprehensive metabolic profiling of phytocannabinoids in *Cannabis*. **Scientific Reports**, London, v.8, p. 1-15, 2018. DOI: [10.1038/s41598-018-32651-4](https://doi.org/10.1038/s41598-018-32651-4). Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-32651-4.pdf> . Acesso em: 4 jul. 2020.

BILIA, A. R. *et al.* Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, v. 2014, [art.] ID 651593, p. [1-14], 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1155/2014/651593>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/651593/>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BLANCOU, J. A history of the traceability of animals and animal products. **Revue Scientifique et Technique de l'O.I.E.**, Paris, v. 20, n. 2, p. 420-425, 2001.

BLASCO-BENITO, S. *et al.* Appraising the “entourage effect”: antitumor action of a pure cannabinoid *versus* a botanical drug preparation in preclinical models of breast cancer. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 157, p. 285-293, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.06.025>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295218302387?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BONN-MILLER, M. O. *et al.* Cannabis and cannabinoid drug development: evaluating botanical versus single molecule approaches. **International Review of Psychiatry**, London, v. 30, p. 277-284, 2018. DOI: 10.1080/09540261.2018.1474730. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09540261.2018.1474730>. Acesso em: 04 jul. 2020.

BOOTH, J. K.; BOHLMANN, J. Terpenes in *Cannabis sativa* – From plant genome to humans. **Plant Science**, Shannon, v. 284, p. 67-72, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.03.022>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945219301190?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BORILLE, B. T. **Caracterização química da planta *Cannabis sativa* L. a partir de sementes apreendidas pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul.** 2016. 230 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

BORILLE, B. T. *et al.* Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Amsterdam, v. 173, p. 318-323, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.09.040>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386142516305583?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BRAND, M. A. *et al.* Thermogravimetric analysis for characterization of the pellets produced with different forest and agricultural residues. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 11, [art.] e20180271, p. [1-10], 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180271>. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782018001100300](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782018001100300). Acesso em: 4 jul. 2020.

BRASIL. Decreto nº 20.930, de 11 de janeiro de 1932. Fiscaliza o emprego e o comércio das substâncias tóxicas entorpecentes, regula a sua entrada no país de acordo com a solicitação do Comitê Central Permanente do Ópio da Liga das Nações, e estabelece penas. **Diário Oficial da União: seção 1**, Rio de Janeiro, RJ, p. 978, 16 jan. 1932. Disponível em:

<https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1930-1939/decreto-20930-11-janeiro-1932-498374-publicacaooriginal-81616-pe.html>. Acesso em: 3 jun. 2019.

BRASIL. Decreto-Lei nº 891, de 25 de novembro de 1938. Aprova a Lei de Fiscalização de Entorpecentes. **Diário Oficial da União: seção 1**, Rio de Janeiro, RJ, p. 23843, 28 nov. 1938. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/declei/1930-1939/decreto-lei-891-25-novembro-1938-349873-publicacaooriginal-1-pe.html>. Acesso em: 3 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, 31 dez. 1998. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1998/prt0344\\_12\\_05\\_1998\\_rep.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1998/prt0344_12_05_1998_rep.html). Acesso em: 3 jun. 2019.

BRASIL. Lei nº 11.343, de 23 de agosto de 2006. Institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas - Sisnad; prescreve medidas para prevenção do uso indevido, atenção e reinserção social de usuários e dependentes de drogas; estabelece normas para repressão à produção não autorizada e ao tráfico ilícito de drogas; define crimes e dá outras providências. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, 24 ago. 2006. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2006/lei-11343-23-agosto-2006-545399-publicacaooriginal-57861-pl.html>. Acesso em: 3 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. Resolução RDC nº 3, de 26 de janeiro de 2015. Dispõe sobre a atualização do Anexo I, Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial, da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998 e dá outras providências. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, n. 19, p. 53, 28 jan. 2015a. Disponível em: [http://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/32132854/do1-2015-01-28-resolucao-rdc-n-3-de-26-de-janeiro-de-2015-32132677](http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/32132854/do1-2015-01-28-resolucao-rdc-n-3-de-26-de-janeiro-de-2015-32132677). Acesso em: 3 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 17, de 6 de maio de 2015. Define os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, n. 86, 8 maio 2015b. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2015/rdc0017\\_06\\_05\\_2015.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2015/rdc0017_06_05_2015.pdf). Acesso em: 3 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução - DC/ANVISA nº 66, de 18 de março de 2016. Dispõe sobre a atualização do Anexo I (Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial) da Portaria

SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998, e dá outras providências. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, n. 54, p. 28, 21 mar. 2016a. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33868/3233596/49+-+RDC+n%C2%BA+66-2016.pdf/8d702e52-45b9-4763-8e4c-1703740de9b8>. Acesso em: 3 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução - RDC nº 130, de 2 de dezembro de 2016. Dispõe sobre a atualização do Anexo I(Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial) da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, n. 232, p. 33, 5 dez. 2016b. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3115436/%281%29RDC\\_130\\_2016\\_.pdf/fc7ea407-3ff5-4fc1-bcfe-2f37504d28b7](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3115436/%281%29RDC_130_2016_.pdf/fc7ea407-3ff5-4fc1-bcfe-2f37504d28b7). Acesso em: 3 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, n. 141, p. 87, 25 jul. 2017. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC\\_166\\_2017\\_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401). Acesso em: 30 jan. 2020.

BROSÉUS, J.; ANGLADA, F.; ESSEIVA, P. The differentiation of fibre- and drug type Cannabis seedlings by gas chromatography/mass spectrometry and chemometric tools. **Forensic Science International**, Limerick, v. 200, p. 87-92, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.03.034>.

BROWNE, R. W.; WHITCOMB, B. W. Procedures for determination of detection limits application to high-performance liquid chromatography analysis of fat-soluble vitamins in human serum. **Epidemiology**, Hagerstown, v. 21, p. S4-9, 2010. Supl. 4. DOI: 10.1097/EDE.0b013e3181ce9a61. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/20220523>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BRUMBACK, T. *et al.* Chapter Two - Effects of marijuana use on brain structure and function: neuroimaging findings from a neurodevelopmental perspective. **International Review of Neurobiology**, New York, v. 129, p. 33-65, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.06.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0074774216301118?via%3Di> hub. Acesso em: 4 jul. 2020.

BURSTEIN, S. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 23, n. 7, p. 1377-1385, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.01.059>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089615000838?via%3Di> hub. Acesso em: 4 jul. 2020.

CAI, J. *et al.* Processing thermogravimetric analysis data for isoconversional kinetic analysis of lignocellulosic biomass pyrolysis: case study of corn stalk.

**Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Oxford, v. 82, 2705–2715, 2018.

CALAKOS, K. C. *et al.* Mechanisms underlying sex differences in cannabis use. **Current Addiction Reports**, [Switzerland], v. 4, p. 439-453, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40429-017-0174-7>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40429-017-0174-7>. Acesso em: 4 jul. 2020.

CANADÁ. Minister of Justice. **Cannabis act**. [Ottawa], 2018. Disponível em: <https://laws-lois.justice.gc.ca/PDF/C-24.5.pdf>. Acesso em: 4 jun. 2019.

CANADÁ. Government of Canada. Canada Border Services Agency. **CBSA seizures**. [Ottawa], 2019a. Disponível em: <https://www.cbsa-asfc.gc.ca/security-securite/seizure-saisie-eng.html>. Acesso em: 2 jul. 2019.

CANADÁ. Government of Canada. **National cannabis survey, first quarter**. [Ottawa], 2019b. Disponível em: <https://www150.statcan.gc.ca/n1/daily-quotidien/190502/dq190502a-eng.htm>. Acesso em: 2 jul. 2019.

CARLINER, H. *et al.* The widening gender gap in marijuana use prevalence in the U.S. during a period of economic change, 2002–2014. **Drug and Alcohol Dependence**, Shannon, v. 170, p. 51-58, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2016.10.042>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0376871616309942?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

CARVALHO, A. M. *et al.* Teores de hemiceluloses, celulose e lignina em plantas de cobertura com potencial para sistema plantio direto no cerrado. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 290). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/75878/1/bolpd-290.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2019.

CELI, L.; SCHNITZER, M.; NÈGRE, M. Analysis of carboxyl groups in soil humic acids by a wet chemical method, Fourier-Transform infrared spectroscopy and solution-state carbon-13 nuclear magnetic resonance: a comparative study. **Soil Science**, Brunswick, v. 162, p. 189–197, 1997.

CHOUDHURY, A. K. R. Object appearance and colour. *In*: CHOUDHURY, A. K. R. **Principles of colour and appearance measurement**. Oxford: Woodhead, 2014. p. 53–102. DOI:10.1533/9780857099242.53. Disponível em: [https://books.google.com.br/books?hl=en&lr=&id=bwKjAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Object+appearance+and+colour+2014&ots=bvMkGbXFtj&sig=YVpt046SLtzfi30AsLWye2Kxo2E&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Object%20appearance%20and%20colour%202014&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=en&lr=&id=bwKjAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Object+appearance+and+colour+2014&ots=bvMkGbXFtj&sig=YVpt046SLtzfi30AsLWye2Kxo2E&redir_esc=y#v=onepage&q=Object%20appearance%20and%20colour%202014&f=false). Acesso em: 4 jul. 2020.

COZZOLINO, D. Near infrared spectroscopy in natural products analysis. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 75, p. 746–756, 2009. DOI: 10.1055/s-0028-1112220. Disponível em: <https://www.thieme->



connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0028-1112220. Acesso em: 4 jul. 2020.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). *In*: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (ed.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 1250-1318.

CUTTLER, C.; MISCHLEY, L. K.; SEXTON, M. Sex differences in cannabis use and effects: a cross-sectional survey of cannabis users. **Cannabis and Cannabinoid Research**, New Rochelle, v. 1, p. 166-175, 2016. DOI: 10.1089/can.2016.0010. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/can.2016.0010>. Acesso em: 4 jul. 2020.

DE LUCA, M. *et al.* Classification of moroccan olive cultivars by linear discriminant analysis applied to ATR-FTIR spectra of endocarps. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 47, n. 6, p. 1286-1292, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.02972.x>. Disponível em: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2012.02972.x>. Acesso em: 4 jul. 2020.

DHYANI, V.; KUMAR, J.; BHASKAR, T. Thermal decomposition kinetics of sorghum straw via thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology**, Barking, v. 245, p. 1122-1129, 2017.

DIKO, M.; EKOSSE, G.; OGOLA, J. Fourier transform infrared spectroscopy and thermal analyses of kaolinitic clays from South Africa and Cameroon. **Acta Geodynamica et Geomaterialia**, Praha, v. 13, n. 2, [art.] 182, p. 149-158, 2016. DOI: 10.13168/AGG.2015.0052. Disponível em: [https://www.irsm.cas.cz/index\\_en.php?page=acta\\_detail\\_doi&id=152](https://www.irsm.cas.cz/index_en.php?page=acta_detail_doi&id=152). Acesso em: 4 jul. 2020.

DUJOURDY, L.; BESACIER, F. A study of cannabis potency in France over a 25 years period (1992–2016). **Forensic Science International**, Limerick, v. 272, p. 72-80, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.01.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073817300129?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

EL-DEFTAR, M. M. *et al.* Evaluation of elemental profiling methods, including laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), for the differentiation of Cannabis plant material grown in different nutrient solutions. **Forensic Science International**, Limerick, v. 251, p. 95-106, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.03.029>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073817300129?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ELLERBROCK, R. H.; GERKE, H. H.; BÖHM, C. *In situ* DRIFT characterization of organic matter composition on soil structural surfaces. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, n. 2, p. 531–540, 2009. DOI: 10.2136/sssaj2008.0103. Disponível em:

<https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2136/sssaj2008.0103>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ELSOHLY, M. A.; GUL, W. Constituents of *Cannabis sativa*. In: PERTWEE, R. G. (ed.). **Handbook of cannabis**. New York: Oxford University, 2014. p. 3-22.

EUROPEAN MONITORING CENTRE FOR DRUGS AND DRUG ADDICTION. **Cannabis legislation in Europe: an overview**. Luxembourg: Office of the European Union, 2018. Disponível em: <http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/4135/TD0217210ENN.pdf>. Acesso em: 20 out. 2019.

FANG, S. *et al.* Geographical origin traceability of Keemun black tea based on its non-volatile composition combined with chemometrics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 99, n. 15, p. 6937-6943, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9982>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.9982>. Acesso em: 4 jul. 2020.

FARAG, S.; KAYSER, O. The *Cannabis* plant: botanical aspects. In: PREEDY, V. R. (ed.). **Handbook of cannabis and related pathologies: biology, pharmacology, diagnosis, and treatment**. London: Academic Press, 2017. cap. 1, p. 3-12. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800756-3.00001-6>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128007563000016?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

FELLERMEIER, M.; ZENK, M. H. Prenylation of olivetolate by a hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 427, n. 2, p. 283-285, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00450-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00450-5). Disponível em: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/S0014-5793%2898%2900450-5>. Acesso em: 4 jul. 2020.

FETTERMAN, P. S. *et al.* Mississippi-grown *Cannabis sativa* L. Preliminary observation on chemical definition of phenotype and variations in tetrahydrocannabinol content versus age, sex and plant part. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, New York, v. 60, p. 1246-1249, 1971. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.2600600832>. Disponível em: [https://jpharmsci.org/article/S0022-3549\(15\)38033-3/pdf](https://jpharmsci.org/article/S0022-3549(15)38033-3/pdf). Acesso em: 4 jul. 2020.

FISCHEDICK, J. T. *et al.* Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. **Phytochemistry**, London, v. 71, p. 2058-2073, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.10.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003194221000381X?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

FRANKE, A. A. *et al.* Oxytocin analysis from human serum by LCMS after derivatization. **Drug Testing and Analysis**, v. 11, n. 1, p. [1-23], 2018.

FREEMAN, D. *et al.* How cannabis causes paranoia: using the intravenous administration of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC) to identify key cognitive mechanisms leading to paranoia. **Schizophrenia Bulletin**, Budapest, v. 41, p. 391-399, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/schbul/sbu098>. Disponível em: <https://academic.oup.com/schizophreniabulletin/article/41/2/391/2526091>. Acesso em: 4 jul. 2020.

GAGNE, S. J. *et al.* Identification of olivetolic acid cyclase from *Cannabis sativa* reveals a unique catalytic route to plant polyketides. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 31, p. 12811-12816, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1200330109>. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/109/31/12811>. Acesso em: 4 jul. 2020.

GALATA, M.; SARKER, L. S.; MAHMOUD, S. S. Transcriptome profiling, and cloning and characterization of the main monoterpene synthases of *Coriandrum sativum* L. **Phytochemistry**, London, v. 102, p. 64-73, 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.02.016>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942214001009?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

GERTSCH, J. Analytical and pharmacological challenges in cannabis research. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 84, n. 4, [art.] 213, 2018. DOI: 10.1055/s-0044-101051. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29466823/>. Acesso em: 4 jul. 2020.

GIROUD, C. *et al.* Hemp tea versus hemp milk: behavioral, physiological effects, blood, urine, saliva and sweat cannabinoids levels following ingestion by two groups of six healthy volunteers. **Problems of Forensic Sciences**, Kraków, v. 42, p. 102-110, 2000.

GRACE, M. H. *et al.* Simultaneous LC-MS quantification of anthocyanins and non-anthocyanin phenolics from blueberries with widely divergent profiles and biological activities. **Food Chemistry**, London, v. 277, p. 336-346, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.101>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814618318764?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

GRIFFITHS, P. R.; HASETH, J. A. **Fourier transform infrared spectrometry**. 2nd ed. Hoboken: John Wiley, 2006. DOI:10.1002/047010631X. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/047010631X>. Acesso em: 4 jul. 2020.

GROENEWOUD, W. M. Thermogravimetry. *In*: GROENEWOUD, W. M. **Characterisation of polymers by thermal analysis**. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. p. 61-76. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-044450604-7/50003-0>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444506047500030?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

GROTENHERMEN, F.; RUSSO, E. *In*: GROTENHERMEN, F.; RUSSO, E. (ed.). **Cannabis and cannabinoids: pharmacology, toxicology, and therapeutic potential**. New York: The Haworth Integrative Healing Press, 2002. p. xxviii.

GRÜNWALD-GRUBER, C.; ALTMANN, F. LC-MS analysis of (glyco-)proteins of *Pichia pastoris*. *In*: GASSER B.; MATTANOVICH, D. (ed.). **Recombinant protein production in yeast: methods in molecular biology**. New York: Humana Press, 2019. P. 351-360. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9024-5\\_18](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9024-5_18). Disponível em: [https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-9024-5\\_18](https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-9024-5_18). Acesso em: 4 jul. 2020.

GULLUNI, N. *et al.* Cannabis essential oil: a preliminary study for the evaluation of the brain effects. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, v. 2018, [art.] ID 1709182, [p. 1-11], 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/1709182>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2018/1709182/>. Acesso em: 4 jul. 2020.

GUGLIANDOLO, A. *et al.* In vitro model of neuroinflammation: efficacy of cannabigerol, a non-psychoactive cannabinoid. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 19, n. 7, [art.] 1992, 2018. DOI: 10.3390/ijms19071992. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/7/1992>. Acesso em: 4 jul. 2020.

HAIDER, K. M.; GUGGERBERGER, G. Organic matter: genesis and formation. *In*: HILLEL, D. (ed.). **Encyclopedia of soils in the environment**. Oxford: Elsevier, 2005. p. 93-101. DOI: <https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00510-5>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0123485304005105?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

HAZEKAMP, A. An evaluation of the quality of medicinal grade cannabis in the Netherlands. **Cannabinoids**, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 1-9, 2006.

HAZEKAMP, A. *et al.* Cannabis tea revisited: a systematic evaluation of the cannabinoid composition of cannabis tea. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 113, p. 85-90, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.05.019>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874107002401?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

HESSE, M.; MEIER, H.; ZEEH, B. **Spectroscopic methods in organic chemistry**. Stuttgart: Georg Thieme, 1984.

HILL, R. J. Marijuana, Cannabis sativa L. Moraceae, Cannaboideae. **Regulatory Horticulture**, Harrisburg, v. 9, n. 1/2, p. 57-66, 1983.

HILLIG, K. W.; MAHLBERG, P. G. A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in Cannabis (Cannabaceae). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 91, p. 966-975, 2004. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.91.6.966>. Disponível em: <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3732/ajb.91.6.966>. Acesso

em: 4 jul. 2020.

HUCK, C. Infrared spectroscopy technologies for the quality control of herbal medicines. *In*: MUKHERJEE, P. K. **Evidence-based validation of herbal medicine**. Amsterdam: Elsevier, 2015. p. 477–493.

INNAMORATO, V. *et al.* Tracing the geographical origin of Lentils (*Lens culinaris* Medik.) by infrared spectroscopy and chemometrics. **Food Analytical Methods**, New York, v. 12, n. 3, p. 773-779, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1406-8>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12161-018-1406-8>. Acesso em: 4 jul. 2020.

IWASAKI, K. *et al.* Anticancer effect of linalool via cancer-specific hydroxyl radical generation in human colon cancer. **World Journal of Gastroenterology**, Pleasanton, v. 22, p. 9765-9774, 2016. DOI:10.3748/wjg.v22.i44.9765. Disponível em: <https://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v22/i44/9765.htm>. Acesso em: 4 jul. 2020.

JANANEE, B.; THANGAM, V.; RAJALAKSHMI, A. Investigation of soils by thermal and spectroscopic analysis. **Chemical Engineering Communications**, New York, p. 1-10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/00986445.2019.1680370>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00986445.2019.1680370>. Acesso em: 4 jul. 2020.

JIKOMES, N.; ZOOROB, M. The cannabinoid content of legal cannabis in washington state varies systematically across testing facilities and popular consumer products. **Scientific Reports**, London, v. 8, n. 1, [art.] 4519, p. [1-15], 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-22755-2. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-22755-2>. Acesso em: 4 jul. 2020.

KASPRZYK, I. *et al.* FTIR-ATR spectroscopy of pollen and honey as a tool for unifloral honey authentication. The case study of rape honey. **Food Control**, Kidlington, v. 84, p. 33-40, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.07.015>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713517303626?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

KÖK, M. V.; VARFOLOMEEV, M. A.; NURGALIEV, D. K. Crude oil characterization using TGA-DTA, TGA-FTIR and TGA-MS techniques. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, Amsterdam, v. 154, p. 537-542, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2016.12.018>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0920410516312931?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

KOMIYAMA, S. *et al.* A single-photon detector in the far-infrared range. **Nature**, London, v. 403, p. 405–407, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1038/35000166>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/35000166>. Acesso em: 4 jul. 2020.

KONTOPOULOS, I. *et al.* Preparation of bone powder for FTIR-ATR analysis: the particle size effect. **Vibrational Spectroscopy**, Amsterdam, v. 99, p. 167-177, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.09.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924203118302340?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

LARKIN, P. J. Instrumentation and sampling methods. *In*: LARKIN, P. J. (ed.). **Infrared and raman spectroscopy: principles and spectral interpretation**. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2018. p. 29-62.

LEO, A.; RUSSO, E.; ELIA, M. Cannabidiol and epilepsy: rationale and therapeutic potential. **Pharmacological Research**, Amsterdam, v. 107, p. 85-92, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.03.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661816301797?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

LORENZETTI, V. *et al.* Gross morphological brain changes with chronic, heavy cannabis use. **The British Journal of Psychiatry**, London, v. 206, p. 77-78, 2015. DOI: [10.1192/bjp.bp.114.151407](https://doi.org/10.1192/bjp.bp.114.151407). Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/the-british-journal-of-psychiatry/article/gross-morphological-brain-changes-with-chronic-heavy-cannabis-use/EAF90DEEAA689A62EBBF1378A54996CC>. Acesso em: 4 jul. 2020.

MA, G. *et al.* Determining the geographical origin of Chinese green tea by linear discriminant analysis of trace metals and rare earth elements: taking *Dongting Biluochun* as an example. **Food Control**, Kidlington, v. 59, p. 714-720, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.037>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713515300669?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

MACCALLUM, C. A.; RUSSO, E. B. Practical considerations in medical cannabis administration and dosing. **European Journal of Internal Medicine**, Amsterdam, v. 49, p. 12-19, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.01.004>. Disponível em: [https://www.ejinme.com/article/S0953-6205\(18\)30004-9/fulltext](https://www.ejinme.com/article/S0953-6205(18)30004-9/fulltext). Acesso em: 4 jul. 2020.

MACCARTHY, P.; RICE, J. A. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functions in humic substances. *In*: AIKEN, G.R. *et al.* (ed.). **Humic substances in soil, sediment, and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: Wiley Interscience, 1985. p. 527-559.

MARSHAL, C. R. The active principle of Indian hemp: a preliminary communication. **The Lancet**, New York, v. 149, p. 235-238, 1897. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)95658-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)95658-2). Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(01\)95658-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(01)95658-2/fulltext). Acesso em: 4 jul. 2020.

MATEO, I. *et al.* Recurrent stroke associated with cannabis use. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, London, v. 76, p. 435-437, 2005.

DOI: 10.1136/jnnp.2004.042382. Disponível em:  
<https://jnnp.bmj.com/content/76/3/435>. Acesso em: 4 jul. 2020.

MENDELOVICI, E. *et al.* The 1640 cm<sup>-1</sup> infrared band, monitor for the gain and thermal stability of water produced in ground kaolinites. **Clay Minerals**, London, v. 30, p. 307–313, 1995.

MÉXICO. Secretaría de Salud. Comisión Nacional contra las Adicciones. **Informe sobre la situación del consumo de drogas en México y su atención integral**. Ciudad de México, 2019. Disponível em:  
[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/477564/Informe\\_sobre\\_la\\_situacion\\_de\\_las\\_drogas\\_en\\_Mexico.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/477564/Informe_sobre_la_situacion_de_las_drogas_en_Mexico.pdf). Acesso em: 10 mar. 2020.

MICHIGAN. Michigan Department of Health & Human Services. **Marijuana use and perception of risk among high school students**. [Lansing], 2015. Disponível em:  
[https://www.michigan.gov/documents/mdch/Marijuana\\_perceived\\_risk\\_and\\_use\\_05-08-15\\_488947\\_7.pdf](https://www.michigan.gov/documents/mdch/Marijuana_perceived_risk_and_use_05-08-15_488947_7.pdf). Acesso em: 1º ago. 2019.

MIRGHAED, A. T.; GHELICHPOUR, M.; HOSEINI, S. M. Myrcene and linalool as new anesthetic and sedative agents in common carp, *Cyprinus carpio* - Comparison with eugenol. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 464, p. 165–170, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.028>. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848616303325?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

MISHRA, R. K.; MOHANTY, K. Pyrolysis kinetics and thermal behavior of waste sawdust biomass using thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology**, Barking, v. 251, p. 63-74, 2018.

MIYAZAWA, T.; MATSUMOTO, A.; MIYAHARA, Y. Determination of cellular vitamin C dynamics by HPLC-DAD. **Analyst**, Cambridge, v. 144, p. 3483-3487, 2019. DOI:10.1039/c8an02240b. Disponível em:  
<https://pubs.rsc.org/tr/content/articlelanding/2019/an/c8an02240b#!divAbstract>. Acesso em: 4 jul. 2020.

MOHSIN, M. A. A.; IANNUCCI, L.; GREENHALGH, E. S. Fibre-volume-fraction measurement of carbon fibre reinforced thermoplastic composites using thermogravimetric analysis. **Heliyon**, London, v. 5, [art.] e01132, p. [1-15], 2019.

MORENO-SANZ, G. Can you pass the acid test? Critical review and novel therapeutic perspectives of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinolic acid A. **Cannabis and Cannabinoid Research**, New Rochelle, v. 1, n. 1, p. 124-130, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1089/can.2016.0008>. Disponível em:  
<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/can.2016.0008>. Acesso em: 4 jul. 2020.

MORI, L. **Como o uso de maconha medicinal tem crescido no Brasil**. BBC Brasil, São Paulo, 29 maio 2018. Disponível em:  
<https://www.bbc.com/portuguese/geral-44283537>. Acesso em: 30 jul. 2019.

NALLATHAMBI, R. *et al.* Identification of synergistic interaction between cannabis-derived compounds for cytotoxic activity in colorectal cancer cell lines and colon polyps that induces apoptosis-related cell death and distinct gene expression. **Cannabis and Cannabinoid Research**, New Rochelle, v. 3, p. 120-135, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1089/can.2018.0010>. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/can.2018.0010>. Acesso em: 4 jul. 2020.

NAMDAR, D. *et al.* Variation in the compositions of cannabinoid and terpenoids in *Cannabis sativa* derived from inflorescence position along the stem and extraction methods. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 113, p. 376-382, 2018. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.01.060. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092666901830061X> . Acesso em: 4 jul. 2020.

NGUYEN, L. T. *et al.* The inhibitory effects of beta-caryophyllene, beta-caryophyllene oxide and alpha-humulene on the activities of the main drug-metabolizing enzymes in rat and human liver in vitro. **Chemico-Biological Interactions**, Limerick, v. 278, p. 123-128, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2017.10.021>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000927971730491X?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

NUUTINEN, T. Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 157, p. 198-228, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.076>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0223523418306408?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

OHLSSON, A. *et al.* Cannabinoid constituents of male and female *Cannabis sativa*. **Bulletin on Narcotics**, New York, v. 23, p. 29–32, 1971.

OLDFIELD, E.; LIN, F-Y. Terpene biosynthesis: modularity rules. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 51, p. 1124-1137, 2012. DOI: 10.1002/anie.201103110. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/anie.201103110>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ÖZSIN, G.; PÜTÜN, A. E. TGA/MS/FT-IR study for kinetic evaluation and evolved gas analysis of a biomass/PVC co-pyrolysis process. **Energy Conversion and Management**, Amsterdam, v. 182, p. 143-153, 2019.

PATEL, S.; GOGNA, P. Tapping botanicals for essential oils: progress and hurdles in cancer mitigation. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 76, p. 1148-1163, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.024>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669015303265?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PEETS, P. *et al.* Identification and classification of textile fibres using ATR-FT-IR spectroscopy with chemometric methods. **Spectrochimica Acta Part A:**



**Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Amsterdam, v. 173, p. 175-181, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.09.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386142516305236?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PELZ, M. C. *et al.* Assessing the role of serotonergic receptors in cannabidiol's anticonvulsant efficacy. **Epilepsy & Behavior**, San Diego, v. 73, p. 111-118, 2017.

PEREIRA, I. *et al.* Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 171, p. 566-578, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776518305253?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PÉREZ-REYES, M. *et al.* A Comparison of the pharmacological activity in man of intravenously administrated  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol, cannabinal, and cannabidiol. **Experientia**, Basel, v. 29, p. 1368-1369, 1973. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01922823>. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01922823>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PERVEEN, S. Introductory chapter: terpenes and terpenoids. *In*: PERVEEN, S.; AL-TAWHEEL, A. **Terpenes and terpenoids**. London: IntechOpen, 2018. p. 1-12. DOI: 10.5772/intechopen.79683. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/terpenes-and-terpenoids/introductory-chapter-terpenes-and-terpenoids>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PESCHEL, W.; POLITI, M.  $^1\text{H}$  NMR and HPLC/DAD for Cannabis sativa L. chemotype distinction, extract profiling and specification. **Talanta**, Amsterdam, v. 140, p. 150-165, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.02.040>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914015001228?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PETIT, T.; PUSKAR, L. FTIR spectroscopy of nanodiamonds: methods and interpretation. **Diamond and Related Materials**, Amsterdam, v. 89, p. 52-66, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2018.08.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925963517307045?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PETROVIĆ, J.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M. Terpene core in selected aromatic and edible plants: natural health improving agents. *In*: FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L. (ed.). **Advances in food and nutrition research**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 423-451. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043452619300245?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PISCITELLI, F. Endocannabinoidomics: "omics" approaches applied to endocannabinoids and endocannabinoid-like mediators. *In*: DI MARZO, V.;

WANG, J. (ed.). **The endocannabinoidome**: the world of endocannabinoids and related mediators. Londo: Academic Press, 2015. p. 137-152. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420126-2.00009-2>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124201262000092?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

PITT, J. J. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. **The Clinical Biochemist Reviews**, Mountt Lawley, v. 30, n. 1, p. 19-34, 2009.

POLITI, M. *et al.* Direct NMR analysis of cannabis water extracts and tinctures and semi-quantitative data on  $\Delta^9$ -THC and  $\Delta^9$ -THC-acid. **Phytochemistry**, London, v. 69, p. 562-570, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.018>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942207004955?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

POTTER, D. **The propagation, characterization and optimisation of *Cannabis sativa* L. as a phytopharmaceutical**. 2009. Thesis (Doctoral) - Department of Pharmaceutical Science Research, King's College London, London, 2009.

RAVICHANDRAN, C. *et al.* Review of toxicological assessment of d-limonene, a food and cosmetics additive. **Food and Chemical Toxicology**, Exeter, v. 120, p. 668-680, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.052>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691518304976?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

RIOUX, B. *et al.* Determination of eumelanin and pheomelanin in melanomas using solid-phase extraction and high performance liquid chromatography-diode array detection (HPLC-DAD) analysis. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 1113, p. 60-68, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.03.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S157002321831821X?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

RUFINO, A. T. *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 750, p. 141–150, 2015. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.01.018>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299915000412?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SABOGAL-GUÁQUETA, A. M.; OSORIO, E.; CARDONA-GÓMEZ, G. P. Linalool reverses neuropathological and behavioral impairments in old triple transgenic Alzheimer's mice. **Neuropharmacology**, Oxford, v. 102, p. 111-120, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.11.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0028390815301660?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SALLEY, M. **Marijuana use in Colorado rises for adults, stays the same for kids**. Denver, Colorado: Department of Public Health and Environment, 2018. Disponível em: <https://www.colorado.gov/pacific/cdphe/marijuana-use-2017>. Acesso em: 2 ago. 2019.

SAMPAIO, T. L. *et al.* Nephroprotective effects of (–)- alpha-bisabolol against ischemic-reperfusion acute kidney injury. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 23, p. 1843–1852, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2016.11.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711316302124?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SCHACHTSIEK, J. *et al.* Current perspectives on biotechnological cannabinoid production in plants. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 84, p. 214-220, 2018. DOI:10.1055/s-0043-125087. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0043-125087>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SHI, Z. *et al.* Friedel's salt profiles from thermogravimetric analysis and thermodynamic modelling of Portland cement-based mortars exposed to sodium chloride solution. **Cement and Concrete Composites**, Oxford, v. 78, p. 73-83, 2017.

SHIBUYA, E. K. *et al.* Carbon and nitrogen stable isotopes as indicative of geographical origin of marijuana samples seized in the city of São Paulo (Brazil). **Forensic Science International**, Limerick, v. 167, p. 8-15, 2007a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.06.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073806003562?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SHIBUYA, E. K. *et al.* Sourcing Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, Limerick, v. 160, p. 35-43, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.08.011>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073805004603?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SHIBUYA, E. K. *et al.* Multivariate classification based on chemical and stable isotopic profiles in sourcing the origin of marijuana samples seized in Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 18, p. 205-214, 2007b. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532007000100024>. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-50532007000100024&lng=en&nrm=iso&tlng=en](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532007000100024&lng=en&nrm=iso&tlng=en). Acesso em: 4 jul. 2020.

SINGH, B.; SHARMA, R. A. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. **3 Biotech**, Berlin, v. 5, p. 129–151, 2015. DOI: 10.1007/s13205-014-0220-2. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-014-0220-2>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SIRIKANTARAMAS, S. *et al.* The gene controlling marijuana psychoactivity: molecular cloning and heterologous expression of  $\Delta^1$ -tetrahydrocannabinolic acid synthase from *Cannabis sativa* L. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 279, p. 39767-39774, 2004. DOI:10.1074/jbc.M403693200. Disponível em: <https://www.jbc.org/content/279/38/39767/F6.expansion.html>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SIRIKANTARAMAS, S. *et al.* Recent advances in cannabis sativa research: biosynthetic studies and its potential in biotechnology. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, Boca Raton, v. 8, n. 4, p. 237-243, 2007. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920107781387456>. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/59701/article>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SIRIKANTARAMAS, S. *et al.* Tetrahydrocannabinolic acid synthase, the enzyme controlling marijuana psychoactivity, is secreted into the storage cavity of the glandular trichomes. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 46, p. 1578-1582, 2005. DOI:10.1093/pcp/pci166. Disponível em: <https://academic.oup.com/pcp/article/46/9/1578/1812749>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SIRVEN, J. I. Medical marijuana for epilepsy: winds of change. **Epilepsy & Behavior**, San Diego, v. 29, p. 435-436, 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.09.004>. Disponível em: [https://www.epilepsybehavior.com/article/S1525-5050\(13\)00465-4/fulltext](https://www.epilepsybehavior.com/article/S1525-5050(13)00465-4/fulltext). Acesso em: 4 jul. 2020.

SMALL, E.; BECKSTEAD, H. D. Cannabinoid phenotypes in *Cannabis sativa*. **Nature**, London, v. 245, p. 147-148, 1973. DOI:10.1038/245147a0. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/245147a0>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SMERIGLIO, A. *et al.* Inhibition of aldose reductase activity by *Cannabis sativa* chemotypes extracts with high content of cannabidiol or cannabigerol. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 127, p. 101-108, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.02.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X17317598?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SOWELL, E. R. *et al.* *In vivo* evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. **Nature Neuroscience**, New York, v. 2, p. 859-861, 1999. DOI:10.1038/13154. Disponível em: [https://www.nature.com/articles/nn1099\\_859](https://www.nature.com/articles/nn1099_859). Acesso em: 4 jul. 2020.

SPACCINI, R. *et al.* Decomposition of maize straw in three European soils as revealed by DRIFT spectra of soil particle fractions. **Geoderma**, Amsterdam, v. 99, n. 3/4, p. 245-260, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(00\)00073-2](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(00)00073-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016706100000732?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

SRIDHARAN, K. The electromagnetic spectrum. *In*: SRIDHARAN, K. (ed.) **Spectral methods in transition metal complexes**. Chennai: Elsevier, 2016. p. 1-12.

STEFANIDOU, M. *et al.* The cannabinoid content of marijuana samples seized in Greece and its forensic application. **Forensic Science International**, Limerick, v. 95, p. 153-162, 1998. DOI: 10.1016/S0379-0738(98)00083-8. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073898000838>. Acesso em: 4 jul. 2020.

STOUT, J. M. *et al.* The hexanoyl-CoA precursor for cannabinoid biosynthesis is formed by an acyl-activating enzyme in *Cannabis sativa* trichomes. **The Plant Journal**, Oxford, v. 71, n. 3, p. 353-365, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.04949.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-313X.2012.04949.x>. Acesso em: 4 jul. 2020.

TAPIA, A. *et al.* Chemical characterization of diesel and hydrotreated vegetable oil (HVO) soot after reactive gas probing using diffuse reflectance FTIR spectroscopy (DRIFTS). **Environmental Science and Pollution Research**, Berlin, v. 24, n. 8, p. 7534-7543, 2017. DOI:10.1007/s11356-017-8436-4. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11356-017-8436-4.pdf>. Acesso em: 04 jul. 2020.

TAURA, F. *et al.* Phytocannabinoids in *Cannabis sativa*: recent studies on biosynthetic enzymes. **Chemistry and Biodiversity**, Zurich, v. 4, p. 1649-1663, 2007a. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.200790145>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.200790145>. Acesso em: 4 jul. 2020.

TAURA, F. *et al.* Production of Delta(1)-tetrahydrocannabinolic acid by the biosynthetic enzyme secreted from transgenic *Pichia pastoris*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 361, p. 675-680, 2007b. DOI:10.1016/j.bbrc.2007.07.079. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X07015665>. Acesso em: 4 jul. 2020.

THARWAT, A. *et al.* Linear discriminant analysis: a detailed tutorial. **AI Communications: the European journal on artificial intelligence**, Amsterdam, v. 30, n. 2, p. 169-190, 2017. DOI:10.3233/AIC-170729. Disponível em: <https://content.iospress.com/articles/ai-communications/aic729>. Acesso em: 4 jul. 2020.

THOMAS, B. F.; ELSOHLY, M. A. Biosynthesis and pharmacology of phytocannabinoids and related chemical constituents. *In*: THOMAS, B. F.; ELSOHLY, M. A. (ed.) **The analytical chemistry of cannabis: quality assessment, assurance, and regulation of medicinal marijuana and cannabinoid preparations**. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 27-41.

TÜRKER-KAYA S, HUCK C. A review of mid-infrared and near-infrared imaging: principles, concepts and applications in plant tissue analysis.

**Molecules: a journal of synthetic chemistry and natural product chemistry**, Basel, v. 22, n. 1, [art.] 168, 2017. DOI:

<https://doi.org/10.3390/molecules22010168>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1420-3049/22/1/168>. Acesso em: 4 jul. 2020.

UDVARDI, B. *et al.* Effects of particle size on the attenuated total reflection spectrum of minerals. **Applied Spectroscopy**, Thousand Oaks, v. 71, n. 6, p. 1157-1168, 2017. DOI: 10.1177/0003702816670914. Disponível em:

<https://www.osapublishing.org/as/abstract.cfm?uri=as-71-6-1157>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ULUSOY, S. *et al.* Trace analysis of quercetin in tea samples by HPLC-DAD system by means of a new nanocomposite including magnetic core-shell.

**Separation Science and Technology**, New York, v. 55, n. 11, p. 2025-2036, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1623254>. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01496395.2019.1623254>. Acesso em: 4 jul. 2020.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. **Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products**. New York: UNODC, 2009.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. **World drug report 2019**. Vienna: UNODC, 2019. (Cannabis and Hallucinogens, 5). Disponível em:

[https://wdr.unodc.org/wdr2019/prelaunch/WDR19\\_Booklet\\_5\\_CANNABIS\\_HALLUCINOGENS.pdf](https://wdr.unodc.org/wdr2019/prelaunch/WDR19_Booklet_5_CANNABIS_HALLUCINOGENS.pdf). Acesso em: 20 dez. 2019.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. **World drug report 2018**. Vienna: UNODC, 2018.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. **Delincuencia organizada transnacional en centroamérica y el Caribe: una evaluación de las amenazas**. Vienna: UNODC, 2012. Disponível em:

[https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/Studies/TOC\\_Central\\_America\\_and\\_the\\_Caribbean\\_spanish.pdf](https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/Studies/TOC_Central_America_and_the_Caribbean_spanish.pdf). Acesso em: 16 ago. 2019.

URUGUAI. Lei n° 19.172, de 20 de dezembro de 2013. Regulacion y control del cannabis. **Registro Nacional de Leyes y Decretos**, [s.l.], tomo 2, p. 2250, 7 jan. 2014. Disponível em: <https://www.impo.com.uy/bases/leyes/19172-2013>. Acesso em: 4 jul. 2020.

URUGUAI. **Encuesta nacional en hogares sobre consumo de drogas:**

informe de investigación. 6. ed. [S. l.]: Observatorio Uruguayo de Drogas. Junta Nacional de Drogas, 2016. Disponível em: [https://www.gub.uy/junta-nacional-drogas/sites/junta-nacional-drogas/files/documentos/publicaciones/201609\\_VI\\_encuesta\\_hogares\\_OUD\\_ultima\\_rev.pdf](https://www.gub.uy/junta-nacional-drogas/sites/junta-nacional-drogas/files/documentos/publicaciones/201609_VI_encuesta_hogares_OUD_ultima_rev.pdf). Acesso em: 31 jul. 2019.

VAN DER MAREL, H. W.; BEUTELSPACHER, H. **Atlas of infrared spectroscopy of clay minerals and their admixtures**. Amsterdam: Elsevier, 1976.

VERGARA, V. M. *et al.* The impact of combinations of alcohol, nicotine, and cannabis on dynamic brain connectivity. **Neuropsychopharmacology**, London, v. 43, p. 877-890, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/npp.2017.280>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/npp2017280>. Acesso em: 4 jul. 2020.

VERHOECKX, K. C. M. *et al.* Unheated Cannabis sativa extracts and its major compound THC-acid have potential immune-modulating properties not mediated by CB1 and CB2 receptor coupled pathways. **International Immunopharmacology**, Amsterdam, v. 6, p. 656-665, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2005.10.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576905002882?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

VILELA, L. R. *et al.* Anticonvulsant effect of cannabidiol in the pentylentetrazole model: pharmacological mechanisms, electroencephalographic profile, and brain cytokine levels. **Epilepsy & Behavior**, San Diego, v. 75, p. 29-35, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.07.014>. Disponível em: [https://www.epilepsybehavior.com/article/S1525-5050\(17\)30322-0/fulltext](https://www.epilepsybehavior.com/article/S1525-5050(17)30322-0/fulltext). Acesso em: 4 jul. 2020.

WARNER, M. L. *et al.* Comparative analysis of freshly harvested cannabis plant weight and dried cannabis plant weight. **Forensic Chemistry**, Amsterdam, v. 3, p. 52-57. DOI: [10.1016/j.forc.2017.02.001](https://doi.org/10.1016/j.forc.2017.02.001). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468170916300868>. Acesso em: 4 jul. 2020.

WANG, G. *et al.* Terpene biosynthesis in glandular trichomes of hop. **Plant Physiology**, Rockville, v. 148, p. 1254-1266, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.108.125187>. Disponível em: <http://www.plantphysiol.org/content/148/3/1254>. Acesso em: 4 jul. 2020.

WANG, X.; HARRINGTON, P. B.; BAUGH, S. F. Effect of preprocessing high-resolution mass spectra on the pattern recognition of *Cannabis*, hemp, and liquor. **Talanta**, Amsterdam, v. 180, p. 229-238, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.12.032>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914017312341?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

WERLE, S. *et al.* Energy crops for sustainable phytoremediation – fuel characterization. **Energy Procedia**, Oxford, v. 158, p. 867-872, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.01.223>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876610219302334?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

WESTON-GREEN, K. The united chemicals of cannabis: beneficial effects of cannabis phytochemicals on the brain and cognition. *In*: COSTAIN, W. J. (ed.).

**Recent advances in cannabinoid research.** London: IntechOpen, 2018. p. 83-100.

WITTEN, I. H. *et al.* Data transformations. *In: WITTEN, I. H. et al. Data mining.* San Francisco: Morgan Kaufmann, 2017. p. 285–334. DOI:10.1016/b978-0-12-804291-5.00008-8. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Chapter-8-%E2%80%93Data-transformations-Witten/2fa13a9c328f1a2166cbba2dd0cd64cc1960c064>. Acesso em: 4 jul. 2020.

WOLLNER, H. J. *et al.* Isolation of a physiologically active tetrahydrocannabinol from Cannabis Sativa resin. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, DC, v. 64, p. 26-29, 1942. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja01253a008>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01253a008>. Acesso em: 4 jul. 2020.

WONGSIRIAMNUAY, T.; TIPPAYAWONG, N. Non-isothermal pyrolysis characteristics of giant sensitive plants using thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology**, Barking, v. 101, n. 14, p. 5638-5644, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.037>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852410003093?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

WOOD, T. B.; SPIVEY, W. T. N.; EASTERFIELD, T. H. III. Cannabinol. Part I. **Journal of the Chemical Society. Transactions**, London, v. 75, p. 20-36, 1899. DOI:10.1039/CT8997500020. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1899/ct/ct8997500020#!divAbstract>. Acesso em: 4 jul. 2020.

WUNDERLICH, B. Thermal analysis. *In: BUSCHOW, K. H. J. et al. Encyclopedia of materials: science and technology.* 2nd ed. Oxford: Pergamon, 2001. p. 9134-9141. DOI: <https://doi.org/10.1016/B0-08-043152-6/01648-X>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B008043152601648X?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

YADAV, N.; YADAV, R.; GOYAL, A. Chemistry of terpenoids. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, Bangalore, v. 27, n. 2, p. 272-278, 2014.

ZAGER, J. J. *et al.* Gene networks underlying cannabinoid and terpenoid accumulation in cannabis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 180, p. 1877–1897, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.18.01506>. Disponível em: <http://www.plantphysiol.org/content/180/4/1877>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ZHANG, X. *et al.* Geographical origin traceability and species identification of three scallops (*Patinopecten yessoensis*, *Chlamys farreri*, and *Argopecten irradians*) using stable isotopic analysis. **Food Chemistry**, London, v. 299, [art.] 125107, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125107>. Disponível em:



<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814619312129?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ZHANG, Y.; NIELSEN, J.; LIU, Z. Engineering yeast metabolism for production of terpenoids for use as perfume ingredients, pharmaceuticals and biofuels. **FEMS Yeast Research**, Oxford, v. 17, n. 8, [art.] fox080, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsyr/fox080>. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsyr/article/17/8/fox080/4582882>. Acesso em: 4 jul. 2020.

ZHAO, H.; ZHANG, S.; ZHANG, Z. Relationship between multi-element composition in tea leaves and in provenance soils for geographical traceability. **Food Control**, Kidlington, v. 76, p. 82-87, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713517300166?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jul. 2020.

## 8. APÊNDICES

**Tabela 23.** Códigos das amostras, tipo de amostra e coordenadas geográficas dos pontos de coletas das amostras provenientes do Brasil. C= código do grupo de amostras de mesma origem geográfica; CA=código da amostra; PA=parte aérea; SR=solo rizosférico; SNR=solo não-rizosférico.

| C                             | CA | PA | SR | SNR | Coordenadas geográficas do ponto de coleta |              |
|-------------------------------|----|----|----|-----|--|--------------|
|                               |    |    |    |     | Sul (S)                                    | Oeste (W)    |
| <b>Primeira coleta (2014)</b> |    |    |    |     |  |              |
| 1                             | 1  |    | X  |     |  |              |
|                               | 2  |    | X  |     | 8°46'59.50"                                | 39°42'26.60" |
|                               | 4  |    | X  |     |  |              |
| 2                             | 6  |    | X  |     |  |              |
|                               | 7  |    | X  |     | 10° 5'2.10"                                | 42°22'1.00"  |
|                               | 8  |    | X  |     |  |              |
|                               | 9  |    | X  |     |  |              |
| 3                             | 10 |    | X  |     |  |              |
|                               | 11 |    | X  |     | 9°21'11.14"                                | 40°19'27.12" |
|                               | 12 |    | X  |     |  |              |
| 4                             | 13 |    | X  |     |  |              |
|                               | 14 |    | X  |     | 8°20'32.40"                                | 40°40'2.40"  |
|                               | 15 |    | X  |     |  |              |
|                               | 16 |    | X  |     |  |              |
| 5                             | 17 |    | X  |     |  |              |
|                               | 18 |    | X  |     |  |              |
|                               | 19 |    | X  |     |  |              |
|                               | 20 |    | X  |     | 8°35'20.82"                                | 39°29'30.66" |
|                               | 21 |    | X  |     |  |              |
|                               | 22 |    | X  |     |  |              |
| 6                             | 23 |    | X  |     |  |              |
|                               | 24 |    | X  |     | 8°33'28.02"                                | 39°25'53.58" |
|                               | 25 |    | X  |     |  |              |
| 7                             | 26 |    | X  |     | 8°30'21.00"                                | 39°39'12.78" |
|                               | 27 |    | X  |     |  |              |
| 8                             | 29 |    | X  |     |  |              |
|                               | 30 |    | X  |     | 8°36'7.86"                                 | 39°32'5.10"  |
|                               | 31 |    | X  |     |  |              |
|                               |    |    |    |     |  |              |
| 1                             | 32 |    |    | X   |  |              |
|                               | 35 |    |    | X   | 8°46'59.50"                                | 39°42'26.60" |
| 2                             | 37 |    |    | X   |  |              |
|                               | 38 |    |    | X   |  |              |
|                               | 39 |    |    | X   | 10° 5'2.10"                                | 42°22'1.00"  |
|                               | 40 |    |    | X   |  |              |
| 3                             | 41 |    |    | X   |  |              |
|                               | 42 |    |    | X   | 9°21'11.14"                                | 40°19'27.12" |
|                               | 43 |    |    | X   |  |              |
| 4                             | 44 |    |    | X   |  |              |
|                               | 45 |    |    | X   |  |              |
|                               | 46 |    |    | X   | 8°20'32.40"                                | 40°40'2.40"  |
|                               | 47 |    |    | X   |  |              |

**Tabela 23.** Continuação

|                              |     |   |   |                 |                 |
|------------------------------|-----|---|---|-----------------|-----------------|
|                              | 48  |   | X |                 |                 |
|                              | 49  |   | X |                 |                 |
| 5                            | 50  |   | X | 8°35'20.82"     | 39°29'30.66"    |
|                              | 51  |   | X |                 |                 |
|                              | 52  |   | X |                 |                 |
|                              | 53  |   | X |                 |                 |
| 6                            | 54  |   | X | 8°33'28.02"     | 39°25'53.58"    |
|                              | 55  |   | X |                 |                 |
|                              | 56  |   | X |                 |                 |
| 7                            | 57  |   | X | 8°30'21.00"     | 39°39'12.78"    |
|                              | 58  |   | X |                 |                 |
|                              | 59  |   | X |                 |                 |
| 8                            | 60  |   | X | 8°36'7.86"      | 39°32'5.10"     |
|                              | 61  |   | X |                 |                 |
|                              | 62  |   | X |                 |                 |
| 1                            | 94  | X |   | 8°46'59.50"     | 39°42'26.60"    |
|                              | 95  | X |   |                 |                 |
|                              | 96  | X |   |                 |                 |
| -                            | 98  | X |   | na              | na              |
|                              | 99  | X |   |                 |                 |
| 2                            | 100 | X |   | 10° 5'2.10"     | 42°22'1.00"     |
|                              | 101 | X |   |                 |                 |
| 3                            | 104 | X |   | 9°21'11.14"     | 40°19'27.12"    |
|                              | 105 | X |   |                 |                 |
| 4                            | 106 | X |   | 8°20'32.40"     | 40°40'2.40"     |
|                              | 107 | X |   |                 |                 |
|                              | 110 | X |   |                 |                 |
|                              | 111 | X |   |                 |                 |
| 5                            | 112 | X |   | 8°35'20.82"     | 39°29'30.66"    |
|                              | 113 | X |   |                 |                 |
|                              | 114 | X |   |                 |                 |
|                              | 115 | X |   |                 |                 |
| 6                            | 116 | X |   | 8°33'28.02"     | 39°25'53.58"    |
|                              | 117 | X |   |                 |                 |
|                              | 118 | X |   |                 |                 |
| 7                            | 119 | X |   | 8°30'21.00"     | 39°39'12.78"    |
|                              | 121 | X |   |                 |                 |
|                              | 122 | X |   |                 |                 |
| 8                            | 123 | X |   | 8°36'7.86"      | 39°32'5.10"     |
|                              | 124 | X |   |                 |                 |
| <b>Segunda coleta (2017)</b> |     |   |   |                 |                 |
| 9                            | 125 | X | X | 8°11' 23.74080" | 38°46'10.92720" |
|                              | 127 | X | X |                 |                 |
|                              | 128 | X | X |                 |                 |
| 15                           | 129 | X | X | 8°18'05.40000"  | 38°52'19.80120" |
|                              | 130 | X | X |                 |                 |
|                              | 131 | X | X |                 |                 |
|                              | 132 |   | X |                 |                 |
| 9                            | 133 |   | X | 8°11' 23.74080" | 38°46'10.92720" |
|                              | 134 |   | X |                 |                 |
|                              | 135 |   | X |                 |                 |
| 10                           | 136 |   | X | 8°38'55.83480"  | 39°37'47.41680" |
|                              | 137 |   | X |                 |                 |
|                              | 138 |   | X |                 |                 |
|                              | 139 |   | X |                 |                 |
| 11                           | 140 |   | X | 8°35'11.73480"  | 39°29'01.26240" |
|                              | 141 |   | X |                 |                 |

**Tabela 23.** Continuação

|    |     |   |   |                 |                 |
|----|-----|---|---|-----------------|-----------------|
| 13 | 142 |   | X | 8°33'16.25760"  | 39°20'21.91200" |
|    | 143 |   | X |                 |                 |
|    | 144 |   | X |                 |                 |
| 14 | 145 |   | X | 8°33'28.54440"  | 39°17'44.45160" |
|    | 146 |   | X |                 |                 |
|    | 147 |   | X |                 |                 |
| 15 | 148 |   | X | 8°18'05.40000"  | 38°52'19.80120" |
|    | 149 |   | X |                 |                 |
|    | 150 |   | X |                 |                 |
| 9  | 151 | X |   | 8°11' 23.74080" | 38°46'10.92720" |
|    | 152 | X |   |                 |                 |
|    | 153 | X |   |                 |                 |
| 10 | 154 | X |   | 8°38'55.83480"  | 39°37'47.41680" |
|    | 155 | X |   |                 |                 |
|    | 156 | X |   |                 |                 |
| 11 | 157 | X |   | 8°35'11.73480"  | 39°29'01.26240" |
|    | 158 | X |   |                 |                 |
|    | 159 | X |   |                 |                 |
| 12 | 160 | X |   | 8°32'14.60040"  | 39°25'16.74840" |
|    | 161 | X |   |                 |                 |
|    | 162 | X |   |                 |                 |
| 13 | 163 | X |   | 8°33'16.25760"  | 39°20'21.91200" |
|    | 164 | X |   |                 |                 |
|    | 165 | X |   |                 |                 |
| 14 | 166 | X |   | 8°33'28.54440"  | 39°17'44.45160" |
|    | 167 | X |   |                 |                 |
|    | 168 | X |   |                 |                 |
| 15 | 169 | X |   | 8°18'05.40000"  | 38°52'19.80120" |
|    | 170 | X |   |                 |                 |
|    | 171 | X |   |                 |                 |

**Tabela 24.** Códigos das amostras, tipo de amostra e coordenadas geográficas dos pontos de coletas das amostras provenientes dos Estados Unidos da América. C= código do grupo de amostras de mesma origem geográfica; CA=código da amostra; PA=parte aérea; SNR=solo não-rizosférico.

| C  | CA  | PA | SNR | Coordenadas geográficas do ponto de coleta |              |
|----|-----|----|-----|--|--------------|
|    |     |    |     | Norte (N)                                  | Oeste (W)    |
| 16 | 172 |    | X   | 296 I Street, Penrose, CO                  |              |
|    | 173 |    | X   |  |              |
|    | 174 | X  |     |  |              |
|    | 175 | X  |     |  |              |
|    | 176 | X  |     |  |              |
|    | 177 | X  |     |  |              |
| 17 | 178 |    | X   | 38°05'53,2"                                | 103°50'57,3" |
|    | 179 |    | X   |  |              |
|    | 180 |    | X   |  |              |
| 18 | 181 |    | X   | 38°07'26,3"                                | 104°01'23,7" |
| 17 | 182 | X  |     | 38°05'53,2"                                | 103°50'57,3" |
|    | 183 | X  |     |  |              |
|    | 184 | X  |     |  |              |
|    | 185 | X  |     |  |              |
|    | 186 | X  |     |  |              |
|    | 187 | X  |     |  |              |

**Tabela 24.** Continuação

|    |     |   |                               |              |
|----|-----|---|-------------------------------|--------------|
| 18 | 188 | X | 38°07'26,3"                   | 104°01'23,7" |
|    | 189 | X |                               |              |
| 19 | 190 |   | 38°31'38,0"                   | 106°02'44,9" |
|    | 191 | X |                               |              |
|    | 192 | X |                               |              |
|    | 193 | X |                               |              |
|    | 194 | X |                               |              |
|    | 195 | X |                               |              |
| 20 | 196 | X | 320 34 road Palisade CO 81526 |              |
|    | 197 | X |                               |              |
|    | 198 | X |                               |              |
|    | 199 | X |                               |              |
|    | 200 | X |                               |              |
|    | 201 | X |                               |              |

**Tabela 25.** Distância aproximada entre os pontos amostrais do Brasil e dos Estados Unidos da América. PA=pontos amostrais; DA=distância aproximada.

| Brasil |         | Estados Unidos da América |         |
|--------|---------|---------------------------|---------|
| PA     | DA (km) | PA                        | DA (km) |
| 1 - 2  | 323,7   | 16 - 17                   | 107,9   |
| 1 - 3  | 90,2    | 16 - 18                   | 91,8    |
| 1 - 4  | 115,9   | 16 - 19                   | 90,2    |
| 1 - 5  | 32,2    | 16 - 20                   | 302,7   |
| 1 - 6  | 40,3    | 17 - 18                   | 15,3    |
| 1 - 7  | 32,2    | 17 - 19                   | 196,5   |
| 1 - 8  | 27,4    | 17 - 20                   | 410,6   |
| 1 - 9  | 122,4   | 18 - 19                   | 182,0   |
| 1 - 10 | 17,7    | 18 - 20                   | 396,1   |
| 1 - 11 | 33,8    | 19 - 20                   | 214,2   |
| 1 - 12 | 41,9    |                           |         |
| 1 - 13 | 48,3    |                           |         |
| 1 - 14 | 51,5    |                           |         |
| 1 - 15 | 106,3   |                           |         |
| 2 - 3  | 239,9   |                           |         |
| 2 - 4  | 268,9   |                           |         |
| 2 - 5  | 357,5   |                           |         |
| 2 - 6  | 363,9   |                           |         |
| 2 - 7  | 346,2   |                           |         |
| 2 - 8  | 352,7   |                           |         |
| 2 - 9  | 447,7   |                           |         |
| 2 - 10 | 339,8   |                           |         |
| 2 - 11 | 357,5   |                           |         |
| 2 - 12 | 367,1   |                           |         |
| 2 - 13 | 373,6   |                           |         |
| 2 - 14 | 376,8   |                           |         |
| 2 - 15 | 431,6   |                           |         |
| 3 - 4  | 115,9   |                           |         |
| 3 - 5  | 122,4   |                           |         |
| 3 - 6  | 130,4   |                           |         |
| 3 - 7  | 117,6   |                           |         |
| 3 - 8  | 119,2   |                           |         |
| 3 - 9  | 212,6   |                           |         |
| 3 - 10 | 106,3   |                           |         |
| 3 - 11 | 124,0   |                           |         |

**Tabela 25.** Continuação

|         |       |  |
|---------|-------|--|
| 3 - 12  | 132,0 |  |
| 3 - 13  | 138,5 |  |
| 3 - 14  | 141,7 |  |
| 3 - 15  | 194,8 |  |
| 4 - 5   | 132,0 |  |
| 4 - 6   | 136,9 |  |
| 4 - 7   | 112,7 |  |
| 4 - 8   | 127,2 |  |
| 4 - 9   | 207,7 |  |
| 4 - 10  | 117,6 |  |
| 4 - 11  | 132,0 |  |
| 4 - 12  | 138,5 |  |
| 4 - 13  | 146,5 |  |
| 4 - 14  | 151,4 |  |
| 4 - 15  | 196,5 |  |
| 5 - 6   | 6,4   |  |
| 5 - 7   | 19,3  |  |
| 5 - 8   | 4,8   |  |
| 5 - 9   | 90,2  |  |
| 5 - 10  | 16,1  |  |
| 5 - 11  | 0,8   |  |
| 5 - 12  | 8,1   |  |
| 5 - 13  | 16,1  |  |
| 5 - 14  | 20,9  |  |
| 5 - 15  | 74,1  |  |
| 6 - 7   | 24,2  |  |
| 6 - 8   | 11,3  |  |
| 6 - 9   | 82,1  |  |
| 6 - 10  | 24,2  |  |
| 6 - 11  | 6,4   |  |
| 6 - 12  | 2,6   |  |
| 6 - 13  | 9,7   |  |
| 6 - 14  | 14,5  |  |
| 6 - 15  | 67,6  |  |
| 7 - 8   | 16,1  |  |
| 7 - 9   | 103,1 |  |
| 7 - 10  | 14,5  |  |
| 7 - 11  | 19,3  |  |
| 7 - 12  | 24,2  |  |
| 7 - 13  | 33,8  |  |
| 7 - 14  | 38,6  |  |
| 7 - 15  | 88,6  |  |
| 8 - 9   | 95,0  |  |
| 8 - 10  | 11,3  |  |
| 8 - 11  | 4,8   |  |
| 8 - 12  | 12,9  |  |
| 8 - 13  | 20,9  |  |
| 8 - 14  | 25,8  |  |
| 8 - 15  | 78,9  |  |
| 9 - 10  | 106,3 |  |
| 9 - 11  | 88,6  |  |
| 9 - 12  | 80,5  |  |
| 9 - 13  | 74,1  |  |
| 9 - 14  | 69,2  |  |
| 9 - 15  | 16,1  |  |
| 10 - 11 | 16,1  |  |
| 10 - 12 | 25,8  |  |

**Tabela 25. Continuação**

|         |      |  |
|---------|------|--|
| 10 - 13 | 32,2 |  |
| 10 - 14 | 37,0 |  |
| 10 - 15 | 91,8 |  |
| 11 - 12 | 8,1  |  |
| 11 - 13 | 16,1 |  |
| 11 - 14 | 20,9 |  |
| 11 - 15 | 74,1 |  |
| 12 - 13 | 8,1  |  |
| 12 - 14 | 12,9 |  |
| 12 - 15 | 66,0 |  |
| 13 - 14 | 4,8  |  |
| 13 - 15 | 58,0 |  |
| 14 - 15 | 54,8 |  |