



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIELE CRISTINA CORDEIRO

JEAN CARLOS VENERA JUNIOR

ESTUDO SOBRE A EFICÁCIA DO MÉTODO DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR) QUANDO COMPARADO À CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-MS) EM AMOSTRAS DE *Cannabis sativa* L. APREENDIDAS NO ESTADO DO PARANÁ EM 2021.

Curitiba

2021

GABRIELE CRISTINA CORDEIRO

JEAN CARLOS VENERA JUNIOR

ESTUDO SOBRE A EFICÁCIA DO MÉTODO DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR) QUANDO COMPARADO À CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-MS) EM AMOSTRAS DE *Cannabis sativa* L. APREENDIDAS NO ESTADO DO PARANÁ EM 2021.

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao curso de graduação em Biomedicina, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Wagner

Co-orientador: Perito Criminal Luis Henrique Ferreira de Moraes

Curitiba

2021

TERMO DE APROVAÇÃO

GABRIELE CRISTINA CORDEIRO

JEAN CARLOS VENERA JUNIOR

UM ESTUDO SOBRE A EFICÁCIA DO MÉTODO DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR) QUANDO COMPARADO À CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-MS) EM AMOSTRAS DE *Cannabis sativa* L. APREENDIDAS NO ESTADO DO PARANÁ EM 2021.

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao curso de Graduação em Biomedicina, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Prof. Dr. Ricardo Wagner

Orientador - Departamento de Análises Clínicas - UFPR

Luís Henrique Ferreira de Moraes

Co-orientador - Instituto de Criminalística do Paraná

Dra. Isabella Ferreira Mello

Instituto de Criminalística do Paraná

Prof. Dr. Wesley Maurício de Souza

Departamento de Análises Clínicas - UFPR

Curitiba, 20 de dezembro de 2021.

Dedico este trabalho de conclusão de curso à minha família.

Isso não seria possível sem vocês.

Gabriele

Dedico este trabalho aos amigos e familiares que me ofereceram ajuda e suporte nesse período.

Jean

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar vida e saúde para a elaboração deste trabalho, mesmo em meio a um período histórico triste e de muitas incertezas.

À minha família, que não poupou esforços para que eu desenvolvesse a escrita deste projeto no maior conforto possível. Obrigada por me proporcionarem tudo - mesmo aquilo que não mereço.

Ao meu namorado, Gabriel, pelo apoio ao longo de toda a graduação, pelo ouvido amigo, pelos momentos de descontração, pelo auxílio na correção gramatical e por sempre pensar em tudo!

Ao professor Ricardo, que, mesmo lotado em um departamento diferente, topou orientar este trabalho com muita disposição.

Ao perito criminal e co-orientador deste trabalho, Luís, que plantou a primeira sementinha com a ideia de um projeto escrito por nós a partir dos dados gerados no laboratório.

Aos demais peritos do laboratório de Química Forense do Instituto de Criminalística do Paraná, que cederam parte de suas amostras para que este estudo pudesse ser desenvolvido.

Aos colegas estagiários do laboratório de Química: Beatriz, Duda, Jéssica, Jean e Nina. As manhãs foram muito mais leves e divertidas com vocês!

Aos meus amigos de coração, Letícia, Luiz e Paulinha, grandes presentes que a UFPR me deu! Prestaram um ombro amigo e me deram conselhos e forças para aguentar mais uma aula, mais uma semana, mais um semestre.

À UFPR, meu maior xodó e orgulho, pela graça de estudar em uma universidade pública, gratuita e de altíssima qualidade.

Gabriele

Gostaria de prestar meus agradecimentos primordiais a minha família, dentre esses, meus pais Sandra e Jean, que afirmo com toda certeza, que não mediram esforços para me manter em outra cidade de outro estado, para que eu pudesse concluir, não só um curso, mas, um sonho.

Aos demais como amigos e colegas de curso que não tão somente contribuíram de forma técnica mas emocional, o que nesse período o qual escrevo essas palavras é de suma importância, pois ainda não há que se falar em normalidade nem em fim da pandemia, temos apenas esperança, que é regada pelo amor daqueles que nos cercam. Bárbara, Bruna e Maria Marta, obrigado por tanto.

Ao professor Ricardo, agradeço pela paciência e confiança, ainda que fosse de outro departamento e que não tenhamos tido contato que não fosse de forma virtual, não hesitou em nos conceder tamanha responsabilidade.

Ao perito criminal, co-orientador e atual chefe do Instituto de Criminalística do Estado do Paraná, meu respeito e gratidão, não somente pela contribuição técnica, a qual tem vasto domínio, mas pelo exemplo de dedicação e profissionalismo.

Agradeço aos demais peritos do laboratório de química forense, por confiarem suas amostras, em especial a Isabella Melo, a qual tenho profunda admiração, pela pessoa excelente e transformadora que é.

Não poderia, em tempo algum, deixar de agradecer aquelas que hoje em primeiro lugar ocupam posição de amigas, e em segundo, parceiras de estágio, Beatriz, Gabriele, Maria Carolina e Maria Eduarda. Vocês foram luz de conforto, quando em meio a pandemia, e só me encontrei em Curitiba, isso não tem preço ou agradecimento que possa corresponder.

Por fim, deixo aqui minha declaração conturbada de amor e ódio para aquela que me fez chorar, rir, festejar, mas que por fim, me deu um bem inestimável, o conhecimento! UFPR marcou minha história, me concedeu amores mil, e é sob a luz desse ensino público, que luta todos os dias para sobreviver, e que defenderei, que vivemos na esperança de um futuro melhor para o Brasil.

Jean

Alice perguntou: Gato Cheshire... pode me dizer qual o caminho que eu devo tomar?

Isso depende muito do lugar para onde você quer ir – disse o Gato.

Eu não sei para onde ir! – disse Alice.

Se você não sabe para onde ir, qualquer caminho serve.

(Lewis Carroll - Alice no país das maravilhas)

RESUMO

A maconha é uma das drogas ilícitas mais utilizadas e traficadas no Brasil e no mundo, sendo esse uso decorrente do consumo ilícito recreativo, amplamente disseminado no país. Entretanto devido a suas inúmeras propriedades químicas, a mesma apresenta alta prestabilidade, como por exemplo no emprego terapêutico, função essa que confere essa dualidade quando se fala atualmente sobre os atributos da *Cannabis sativa*. Entretanto não se pode negar que a mesma está relacionada a inúmeras disfunções biológicas, podendo ser associada a condições de vulnerabilidade, crimes e riscos à saúde. As substâncias delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), e ácido tetrahydrocannabinólico são as que mais se destacam na área forense, sendo encontradas nas folhas e flores secas (inflorescência) em maiores concentrações. Encontrada comumente na forma prensada em blocos, a maconha é utilizada por meio de vias respiratória (fumada), atuando como perturbadoras do sistema nervoso central. Portanto, essas características conferem caráter de alvo para as substâncias supracitadas, na análise desse tipo de substância ilícita, podendo gerar perfis de acordo com as diferentes concentrações encontradas em amostras apreendidas de *Cannabis sativa*. As metodologias utilizadas em análises forenses são diversas, utilizando como base a química analítica quantitativa e qualitativa, por meio da implantação de técnicas instrumentais já estabelecidas, que visam a otimização de fatores analíticos como, tempo, eficiência e dano na amostra. Dessa forma por meio do uso da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), com módulo ATR, é uma alternativa de fácil manuseio e de pouco custo, permitindo otimizar as perícias, deixando de lado técnicas que demandam mais tempo e material, como a microscopia vegetal. A padronização da metodologia buscou facilitar a análise pericial das amostras, a fim de se obter o melhor resultado possível.

Palavras chave: *Cannabis sativa*, maconha, infravermelho, metodologia

ABSTRACT

Marijuana is one of the most used and trafficked illicit drugs in Brazil and in the world, and this use is due to recreational illicit consumption, widely spread in the country. However, due to its innumerable chemical properties, it is highly useful, for example, in its therapeutic use, a function that confers this duality when one speaks today about the attributes of *Cannabis sativa*. However, it cannot be denied that it is related to numerous biological dysfunctions, and can be associated with conditions of vulnerability, crime, and health risks. The substances delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) and tetrahydrocannabinolic acid are the most prominent in the forensic area, being found in the leaves and dried flowers (inflorescence) in highest concentrations. Commonly found in the block-pressed form, marijuana is used through the respiratory tract (smoked), acting as a disrupter of the central nervous system. Therefore, these characteristics confer target character to the aforementioned substances in the analysis of this type of illicit substance, and can generate profiles according to the different concentrations found in seized samples of *Cannabis sativa*. The methodologies used in forensic analysis are diverse, using quantitative and qualitative analytical chemistry as a basis, through the implementation of established instrumental techniques, which aim to optimize analytical factors such as time, efficiency, and damage to the sample. Thus, through the use of Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), with ATR module, is an alternative of easy handling and low cost, allowing to optimize the expertise, leaving aside techniques that require more time and material, such as plant microscopy. The standardization of the methodology sought to facilitate the expert analysis of the samples, in order to obtain the best possible result.

Keywords: *Cannabis sativa*, marijuana, infrared, methodology

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	—	ORGANOGRAMA SIMPLIFICADO DA DIVISÃO DE SETORES DA POLÍCIA CIENTÍFICA.....	1
FIGURA 2	—	ESQUEMA DE REPRESENTAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE Δ^9 -THCA	3
FIGURA 3	—	MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA O TESTE DE SAL DE AZUL B	4
FIGURA 4	—	RESULTADO DA REAÇÃO ENTRE COMPOSTO FENÓLICO E SAL DE FAST BLUE.....	5
FIGURA 5	—	FLUXOGRAMA SIMPLIFICADO DA ROTA DE BIOSÍNTESE DOS TERPENOS (ISOPRENO).....	10
FIGURA 6	—	FLUXOGRAMA DETALHADO DA ROTA DE BIOSÍNTESE DOS TERPENOS ISOPRENOS	11
FIGURA 7	—	ESTRUTURA QUÍMICA DO Δ^9 -THC (Δ^9 -TETRAHIDROCANNABINOL).....	12
FIGURA 8	—	ESTRUTURA QUÍMICA DO THCA (ÁCIDO TETRA-HIDROCANABINÓLICO)	14
FIGURA 9	—	ESTRUTURA QUÍMICA DO 11-OH- Δ^9 -THC.....	15
FIGURA 10	—	ESPECTRO DE Δ^9 -THC POR INFRAVERMELHO	17
FIGURA 11	—	INJETOR COM DIVISOR PARA CROMATOGRAFIA COM FASE GASOSA EM COLUNA CAPILAR.....	22
FIGURA 12	—	ESPECTRÔMETRO DE MASSAS QUADRUPOLO.....	25
FIGURA 13	—	CROMATOGRAMA TÍPICO DE AMOSTRAS DE <i>Cannabis s</i>	29
FIGURA 14	—	ESQUEMA DEMONSTRATIVO DE ANÁLISE EM EQUIPAMENTO DE INFRAVERMELHO.....	33

FIGURA 15	—	ILUSTRAÇÃO DA TABELA DE MONTAGEM DAS LISTAS NA CG-EM.....	37
FIGURA 16	—	RESULTADO DE UMA ANÁLISE EM FT-IR.....	41
FIGURA 17	—	PARTE DOS RESULTADOS OBTIDOS NO FT-IR E NA CG-EM. NENHUMA AMOSTRA TOTALMENTE NEGATIVA NO FT-IR.....	42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	—	VALOR MÍNIMO, MÁXIMO, MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELOS MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE ANÁLISE.....	38
----------	---	--	----

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	—	GRÁFICO DO TIPO BOX PLOT DE TODOS OS VALORES DE HIGH QUALITY DE Δ 9-THC, THCA-A E 11-OH- Δ 9-THC.....	39
-----------	---	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Δ 9-THC	—	delta-9-tetrahidrocannabinol
11-OH- Δ 9-THC	—	11-hidroxi-delta-9-tetrahidrocanabinol
CBD	—	Canabidiol
CBN	—	Canabinol
CG-MS massas	—	Cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas
CL-MS massas	—	Cromatografia líquida acoplada à espectroscopia de massas
DCT	—	Detector por condutividade térmica
ECD	—	Detector por captura de elétrons
FID	—	Detector por ionização em chama
FT-IR Fourier	—	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
IPP	—	Isopentenil difosfato
MEP	—	Metileritritol fosfato
MVA	—	Ácido mevalônico
RPM	—	Rotações por minuto
SNC	—	Sistema nervoso central
THC	—	Tetrahidrocanabinol
THCA	—	Ácido tetra-hidrocanabinólico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	OBJETIVOS.....	8
1.1.1	Objetivo geral.....	8
1.1.2	Objetivos específicos.....	8
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1	Fitoquímica da <i>Cannabis sativa</i> L.....	9
2.2	Classe dos terpeno fenóis.....	10
2.2.1	Terpeno fenóis de interesse da <i>Cannabis sativa</i> L. no FT-IR: Δ9-THC.....	12
2.2.2	Terpeno fenóis de interesse da <i>Cannabis sativa</i> L. no FT-IR: THCA.....	14
2.2.3	Terpeno fenóis de interesse da <i>Cannabis sativa</i> L. no FT-IR: 11-OH-Δ9-THC.....	15
2.3	A espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FT-IR).....	16
2.4	A metodologia de FT-IR aplicada às análises de <i>Cannabis sativa</i> L.....	20
2.5	A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	21
2.6	Espectrômetro de massas.....	25
2.7	A metodologia de CG-MS aplicada às análises de <i>Cannabis sativa</i> L.....	28
2.8	Comparação entre as análises experimentais de CG-EM e FT-IR.....	30

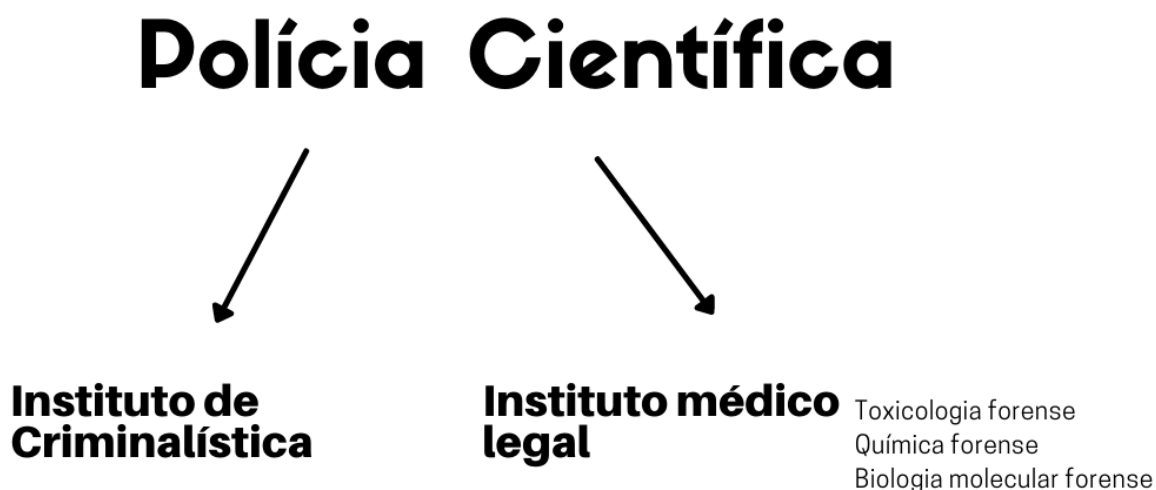
2.9	Análise da eficácia do método de FT-IR em relação à CG-EM.....	31
3.	METODOLOGIA.....	32
3.1	Triagem do material e amostragem.....	32
3.2	Coleta de dados e análise em FT-IR.....	33
3.3	Coleta de dados e análise em CG-EM.....	36
3.4	Análise estatística.....	38
4.	RESULTADOS E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
	REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

A Polícia Científica do Paraná, instituição de parceria na elaboração desta monografia, abriga a seção de Criminalística, responsável pela “elucidação de crimes quando houver vestígios, conforme estabelecido pelo Código de Processo Penal, através da Ciência Forense” (POLÍCIA CIENTÍFICA, [s.d.]

A seção de Criminalística é composta por três grandes departamentos: Toxicologia Forense, Biologia Molecular Forense e Química Forense, conforme ilustra o organograma simplificado da Polícia Científica na FIGURA 1.

FIGURA 1. ORGANOGRAMA SIMPLIFICADO DA DIVISÃO DE SETORES DA POLÍCIA CIENTÍFICA



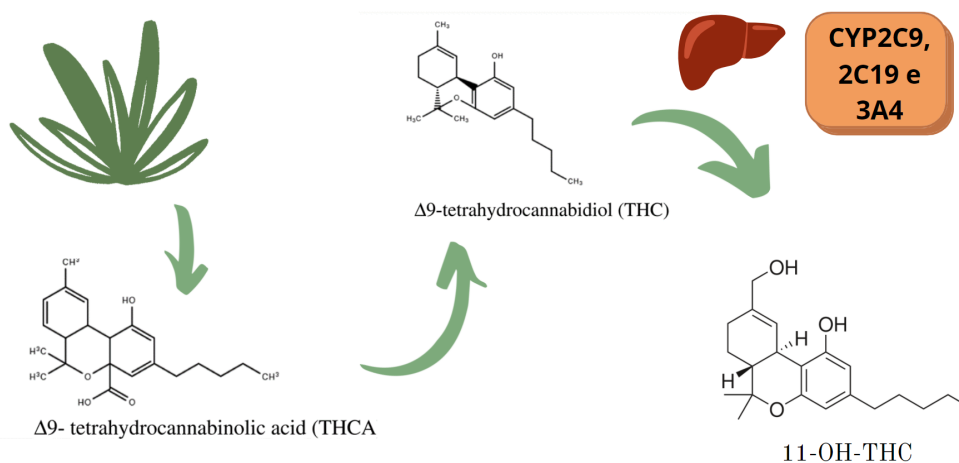
FONTE: Os autores (2021)

Destes setores, o de Química Forense é o que realiza a análise das provas materiais para a justiça, através do exame de substâncias como drogas lícitas e ilícitas, venenos, resíduos de incêndio e de disparo de armas de fogo, explosivos e combustíveis (ROMÃO et al., 2011).

A análise de drogas de abuso, objeto de estudo deste trabalho, é uma área que desperta o interesse das comunidades leiga e científica por conta do combate ao narcotráfico, especialmente da droga que provém da planta *Cannabis sativa* L., popularmente conhecida como “maconha”, e do aumento expressivo de dependentes químicos, particularmente os menores de idade (ROMÃO et al., 2011).

A *Cannabis sativa* L. é uma espécie de planta quimicamente complexa e sua atividade psicoativa é determinada principalmente pela concentração de um composto químico denominado Δ 9-THC encontrado em maiores concentrações nas folhas e nas inflorescências femininas do vegetal (ELSOHLY et al., 2017). O número de compostos naturais, divididos em canabinoides e não canabinoides, encontrados e isolados vem aumentando. Em 1980, a literatura citava 423 compostos, como compostos nitrogenados, aminoácidos, proteínas, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, açúcares, terpenos e vitaminas, número que expandiu para 490 em 2005 e 565 atualmente (HONÓRIO, 2006).

O Δ 9-THCA é o ácido precursor do Δ 9-THC, e é encontrado em concentrações elevadas no organismo vegetal, sendo a sua descarboxilação resultado de secagem ou queima da planta.(GASTON, 2017). A farmacocinética é uma das mais bem estudadas, e sua absorção é dependente da via de administração, sendo bem distribuído pelo corpo por ser altamente lipofílico, ligando-se a proteínas, e podendo ser armazenado em tecido adiposo, sendo liberado lentamente no sangue. No fígado ocorre a hidroxilação pelas isoformas CYP2C9, 2C19 e 3A4 em 11-OH-THC como exemplificado no esquema da FIGURA 2, este por sua vez pode se transformar em mais de 30 metabólitos. A glucuronidação é responsável pelo metabolismo de fase II do Δ 9-THC, onde 65% é excretado pelas fezes e 25% na urina (GASTON, 2017).

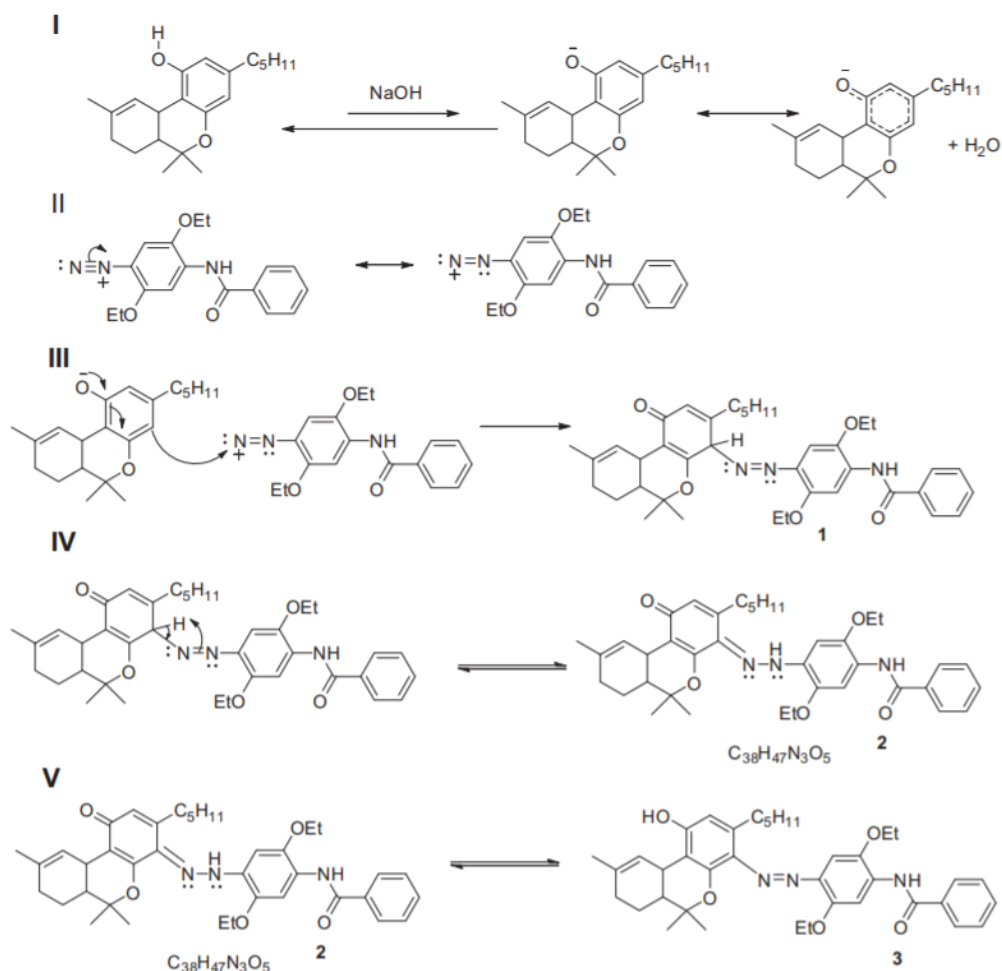
FIGURA 2. ESQUEMA DE REPRESENTAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE Δ^9 -THCA

FONTE: Adaptado de Gaston et al (2017).

A análise quantitativa e qualitativa das amostras de *Cannabis sativa* L. apreendidas de usuários e traficantes permite a caracterização do perfil fitocanabinoide da planta, além de encontrar possíveis adulterantes e realizar um rastreio de fornecedores e locais de plantio do entorpecente. Nesse sentido, o setor de Química Forense exerce um fator decisivo nas análises criminalísticas, através da identificação dos principais componentes de uma amostra de droga com o auxílio dos recursos da química analítica (RAMOS et al., 2021).

Nos laboratórios de Química Forense, as amostras de *Cannabis sativa* L. passam primeiramente por uma avaliação de triagem com métodos colorimétricos, como o sal de azul B, ou reação de Fast Blue B, em que o extrato de caráter fenólico da planta, seja ele etéreo ou alcóolico, participa de uma reação com o sal de Fast Blue B, como indicado na FIGURA 3 e dá origem a um produto de cor avermelhada solúvel em fase orgânica, indicando resultado positivo para maconha, como está ilustrado na FIGURA 4.

FIGURA 3. MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA O TESTE DE SAL DE AZUL B.



FONTE: Santos et al (2016)

O mecanismo da reação é proposto em 4 etapas, na primeira temos uma reação ácido-base, onde o grupo fenólico do Δ^9 -THC ;e convertido em íon fenolato através da reação em meio básico produzindo uma molécula de água (I). O ânion fenolato tem sua carga estabilizada por ressonância, então os elétrons do ânion fenolato de Δ^9 -THC atacam o eletrófilo do grupo diazo da molécula de fast blue B em um passo lento de reação, produzindo um intermediário aromático, identificado na FIGURA 3 como a reação (II) , este por meio de reações de tautomerização vai se transformar nos compostos das reações (III), (IV) e (V) (SANTOS et al., 2016)

FIGURA 4. RESULTADO DA REAÇÃO ENTRE COMPOSTO FENÓLICO E SAL DE FAST BLUE



FONTE: Os autores (2021)

Depois de passar pelo método de triagem, a amostra é dirigida aos métodos da química analítica.

A química analítica é a área de conhecimento que estuda e avalia os métodos de análise química, mais conhecidos como métodos analíticos ou métodos instrumentais de análise. Os métodos analíticos são constituídos por um conjunto de técnicas que mostram quais são os compostos (por análise qualitativa) e em quais quantidades eles são encontrados em determinadas substâncias (por análise quantitativa) (GONDIM et al., 2011). A verificação dos analitos, substâncias que são quantificadas e qualificadas, se dá por meio de propriedades físicas da matéria, como condutividade elétrica, absorção ou emissão de luz e fluorescência. Para tanto, a escolha do método analítico mais adequado deve levar em consideração a sua eficiência, complexidade e tempo de análise, além da avaliação dos riscos de dano ao material e a validação do método (GOES JUNIOR et al., 2019). Dos recursos analíticos mais empregados atualmente nos laboratórios forenses, a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR - do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) e a cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas (CG-EM) são os que merecem destaque por sua precisão e sensibilidade (GIUDICE, 2017).

A FT-IR é baseada na dissociação da curva em seus comprimentos de onda e respectivas intensidades (GIUDICE, 2017). A amostra é colocada entre o interferômetro e o detector de tal modo que o interferograma gerado é a subtração entre o espectro da fonte e o da amostra, a partir da absorção dos comprimentos de onda (HARRIS, 2012, p. 501). Como todo método, o FT-IR também possui suas especificidades, já que é restrito a amostras que possuem pequenas variações de energia entre seus estados de vibração, podendo ser uma desvantagem em alguns casos.

Já a cromatografia gasosa é considerada um método bastante sensível, por ser capaz de fazer a determinação das substâncias a partir de amostras muito pequenas, e está fundamentada na distribuição da amostra com base em fases estacionária e móvel (MOTA; DI VITTA, 2016). Contudo, a CG-EM exige a utilização de reagentes e vidrarias, além do extenso intervalo de tempo necessário para fazer a devida leitura das amostras e da alta demanda de exames feitos pela Polícia Científica no estudo de *Cannabis sativa* L., o que faz dessa estratégia um processo

bastante demorado e não tão viável, apesar de muito consolidado no mercado e nos laboratórios (GIUDICE, 2017).

Vale lembrar que cada substância a ser analisada tem um método específico com fluxo de gás, coluna e temperaturas de forno diferentes, e que para cada análise diferente é necessário o ajuste destas variáveis antes, o que demanda um tempo de estabilização do equipamento.

Desta forma, para a aplicação de um método novo que permita uma maior otimização na rotina de trabalho e que permita obter resultados confiáveis, o laboratório de Química Forense desenvolveu uma metodologia de análise por FT-IR para *Cannabis sativa* L. O levantamento bibliográfico de artigos científicos que comparam estas duas metodologias (FT-IR e CG-EM) no estudo de *Cannabis sativa* L. é bastante escasso, fato que ressalta a importância da avaliação dessas técnicas e a otimização dos estudos na área da Química Forense, dando a devida importância e relevância deste trabalho de conclusão de curso.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Analisar a eficácia do método de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) quando comparado à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando amostras de *Cannabis sativa* apreendidas no estado do Paraná em 2021.

1.2.1 Objetivos específicos

Apresentar o método analítico de espectrometria por infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR);

Compreender o funcionamento da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, metodologia mais empregada atualmente na análise de *Cannabis sativa*;

Estudar e avaliar os compostos canabinoides em amostras de *Cannabis sativa* no método de espectrometria por infravermelho com transformada de Fourier e na cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas;

Comparar os resultados das análises e a eficácia do método de FT-IR em relação à CG-EM.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fitoquímica da *Cannabis sativa* L.

A maconha (*Cannabis sativa* Linnaeus) foi classificada pela primeira vez em 1753 por Carl Von Linnè. Acredita-se que ela tenha sido introduzida no Brasil pelos escravos africanos, devido à sua ampla utilização na forma fumada em ritos do candomblé (FARIAS, 2007).

A *Cannabis sativa* L. é uma espécie de planta da família *Cannabaceae*, dicotiledônia, herbácea, com dimorfismo sexual e com aspecto arbustivo, encontrada em diferentes locais do mundo, desde regiões ao nível do mar até locais como o pico da cordilheira do Himalaia. Existem registros que indicam o cultivo de *Cannabis* desde seis mil anos atrás, o que dificulta a precisão de sua origem (ELSOHLY et al., 2017). As flores ou inflorescências produzem uma resina com alto teor de Δ 9-THC, responsável por evitar a desidratação da planta. Suas características permitem que a planta seja cultivada tanto em ambientes fechados (*Indoor cultivation*) quanto em ambientes externos (*Outdoor cultivation*), manipulando condições de fotoperíodo, floração e maturação.

Dentre as substâncias encontradas na *Cannabis sativa* L., os terpeno fenóis são os que merecem destaque, pois estes são os que geram os efeitos psíquicos, sejam eles psicoativos, como o Δ 9-THC e seu metabólito 11-OH- Δ 9-THC, ou não-psycoativos, como o canabidiol (RIBEIRO et al., 2005). Além desses, existe ainda o ácido tetrahydrocannabinólico (THCA), precursor do tetrahydrocannabinol (THC), um dos principais componentes da planta.

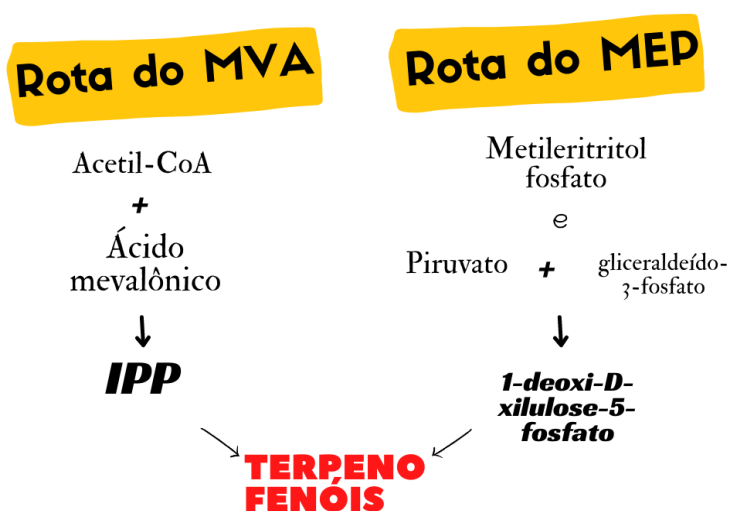
Quimicamente, a *Cannabis sativa* L. tem uma estrutura bastante complexa, pois possui um grande número de metabólitos secundários. Nesse sentido, as análises químicas quantitativas e qualitativas podem ser utilizadas para determinar o perfil fitocanabinoide da planta e auxiliar a esclarecer substâncias próprias das adulterantes (ELSOHLY et al., 2017).

2.2 Classe dos terpeno fenóis

Os terpenos podem ser classificados como alcenos naturais, pois se tratam de compostos hidrocarbonetos com duplas ligações carbono-carbono. Eles são utilizados em diversas funções do metabolismo, desde moléculas muito pequenas até hormônios e pigmentos celulares (BORGES; AMORIM, 2020).

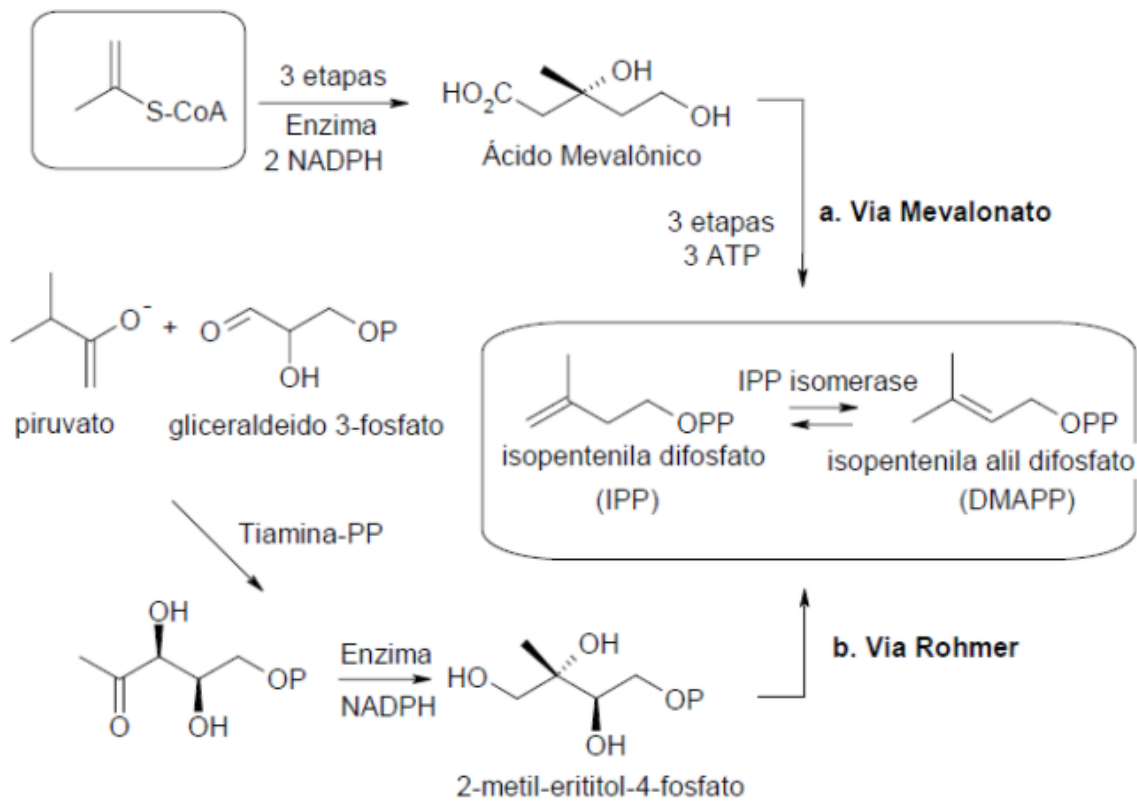
Os terpeno fenóis são sintetizados a partir de metabólitos primários, através das rotas do ácido mevalônico (MVA) e do metileritritol fosfato (MEP), conforme ilustram as FIGURA 5 e 6. Na rota do MVA, o ácido é formado a partir de três moléculas de Acetil-CoA; então, depois de um processo de pirofosforilação, descarboxilação e desidratação, é formado o composto base para a construção dos terpenos, o isopentenil difosfato (IPP). Já na rota do MEP, há a junção de dois átomos de carbono provenientes do piruvato com a molécula de gliceraldeído-3-fosfato, formando o 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato como composto intermediário, que será responsável pela síntese dos terpenos (BORGES; AMORIM, 2020).

FIGURA 5. FLUXOGRAMA SIMPLIFICADO DA ROTA DE BIOSSÍNTESE DOS TERPENOS (ISOPRENO)



FONTE: Os autores (2021)

FIGURA 6. FLUXOGRAMA DETALHADO DA ROTA DE BIOSÍNTESE DOS TERPENOS ISOPRENOS

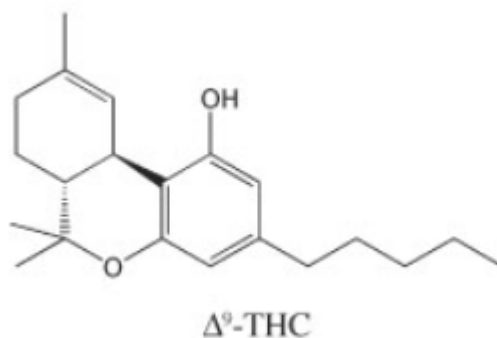


FONTE: Kashiwaqui et al (2019)

2.2.1 Terpeno fenóis de interesse da *Cannabis sativa* L. no FT-IR: Δ^9 -THC

O Δ^9 -THC, cuja estrutura química está representada na FIGURA 7, é considerado o principal componente da maconha responsável pelas propriedades psicoativas mais conhecidas. Sua concentração na planta é diretamente proporcional à potência do seu efeito no sistema nervoso central (SNC). No entanto, sua concentração na planta varia de 0,5% a 40% e depende de diversos fatores de cultivo, como clima, regime de chuvas, fertilidade do solo, temperatura etc (HONÓRIO et al, 2006).

FIGURA 7. ESTRUTURA QUÍMICA DO Δ^9 -THC (Δ^9 -TETRAHIDROCANNABINOL)



FONTE: Honório et al (2006)

Por conter substâncias que atuam no Sistema Nervoso Central, a maconha tem um grande potencial para o bem e para o mal. Ela é composta de diversos tipos de canabinoides - os mais conhecidos são o Tetrahydrocannabinol (THC) e o Canabidiol (CBD). O THC se destaca para o mal: é responsável pelos efeitos psicoativos e neurotóxicos. Já o CBD funciona para o bem: possui diversas possibilidades terapêuticas e até efeitos protetores contra os danos do próprio THC, incluindo efeitos antipsicóticos

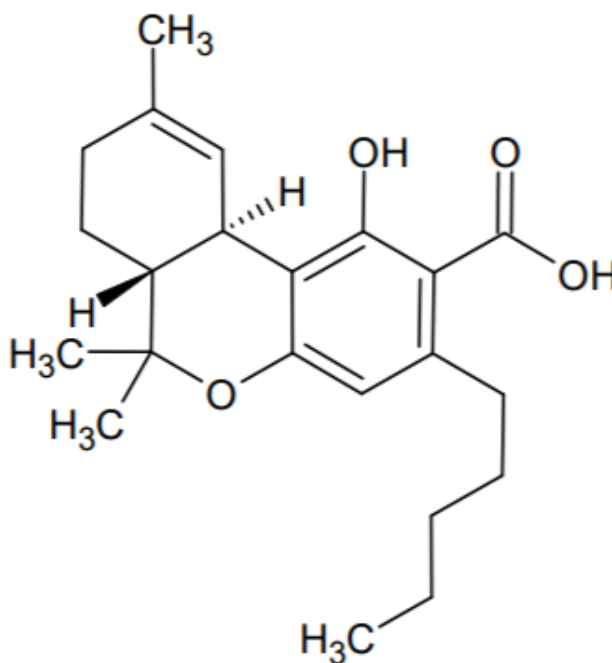
Já existe permissão de uso baseado em decisões judiciais, mas como tornar a planta comercial? Isso é possível através da alteração da concentração do THC por hemi síntese alterando seu efeito psicoativo. De acordo com Borille (2016),

existem três quimiotipos para a planta, conforme a proporção da concentração de THC e CBD. Ela é considerada tipo droga, quando a concentração de THC é predominante está no intervalo entre 2 - 8%. Já o tipo intermediário se trata da planta que possui concentrações equivalentes de THC e CBD, e o tipo fibra é a planta que possui menor concentração de THC (algo em torno de 0,3%) e o CBD passa a ser predominante, com concentrações aproximadas de 10%.

2.2.2 Terpeno fenóis de interesse da *Cannabis sativa* L. no FT-IR: THCA

A planta *Cannabis sativa* L. passa por diferentes reações e gera variados metabólitos secundários, como os canabinoides terpenofenólicos (CARVALHO et al., 2020). Dentro dessa categoria, o composto majoritário é o ácido tetrahidrocanabinólico (THCA), representado quimicamente na FIGURA 8.

FIGURA 8. ESTRUTURA QUÍMICA DO THCA (ÁCIDO TETRA-HIDROCANABINÓLICO)



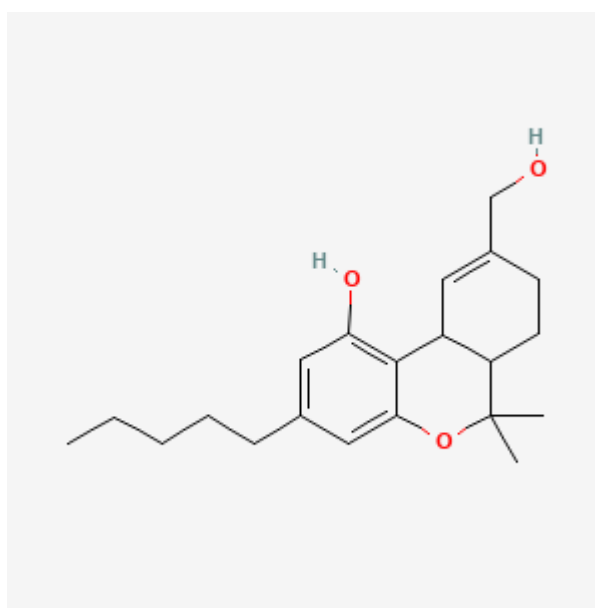
FONTE: SWGDRUG ([s.d])

O THCA é uma matéria-prima importante no desenvolvimento dos extratos medicinais da *Cannabis*. Ao passar pelos processos de aquecimento, o THCA sofre descarboxilação e retoma sua forma neutra, o THC (CARVALHO et al, 2020).

2.2.3 Terpeno fenóis de interesse da Cannabis sativa L. no FT-IR: 11-OH- Δ 9-THC

A biotransformação do THC é bastante complexa e gera em torno de 20 metabólitos, dos quais o 11-OH- Δ 9-THC, composto mais psicoativo, é um dos mais importantes, ilustrado na sua estrutura química na FIGURA 9 (TURNER, 1990).

FIGURA 9. ESTRUTURA QUÍMICA DO 11-OH- Δ 9-THC



FONTE: PubChem ([s.d])

Este metabólito secundário possui propriedades e efeitos muito semelhantes aos efeitos do THC, diferindo de forma que compostos como o Δ 9-THC tem afinidade significativa com as lipoproteínas no plasma, já o 11-OH- Δ 9-THC teria uma afinidade com a albumina plasmática (SCHOU, 1977). Essa diferença estaria relacionada à biodisponibilidade de um composto e facilidade para atravessar mais rapidamente a barreira hematoencefálica (GONÇALVES; SCHLICHTING, 2014).

2.3 A espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FT-IR)

Os métodos analíticos na Química Forense são responsáveis por utilizar técnicas matemáticas e estatísticas capazes de converter dados complexos cromatográficos em informações matemáticas para que a interpretação do dado ocorra de forma mais intuitiva e simplificada (WANG; LIM, 2012).

Embora existam métodos bem estabelecidos nos laboratórios de análise de Química Forense, como a cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas, muitas vezes essas técnicas são demoradas, especificamente no método de análise de *Cannabis sativa* L. utilizado pela Polícia Científica do Paraná, e exigem instrumentos e estudos mais finos e caros. Por outro lado, a espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier é uma técnica bastante simples, rápida e mais barata, capaz de fornecer uma espécie de impressão digital da amostra (WANG; LIM, 2012).

O infravermelho é considerado um tipo de energia eletromagnética cujas ondas se encontram na faixa entre 14290 e 200 cm^{-1} (BARBOSA, 2007, p. 13). A natureza das ondas eletromagnéticas é de comportamento dual: ela tem características ondulatórias e corpusculares simultaneamente. Dentro da teoria corpuscular, Planck, Bohr e Einstein apontaram em seus trabalhos que a radiação eletromagnética é formada por pacotes de energia, denominados fótons. Esses fótons incidem sobre a molécula e causam variação em sua energia (BARBOSA, 2007, p. 15).

É importante salientar que quando ocorre uma radiação de onda eletromagnética em uma amostra orgânica, esta não absorverá todos os comprimentos de onda. A absorção ocorre somente quando as moléculas fazem a transição de um estado de menor energia para outro de maior energia (BARBOSA, 2007, p. 17).

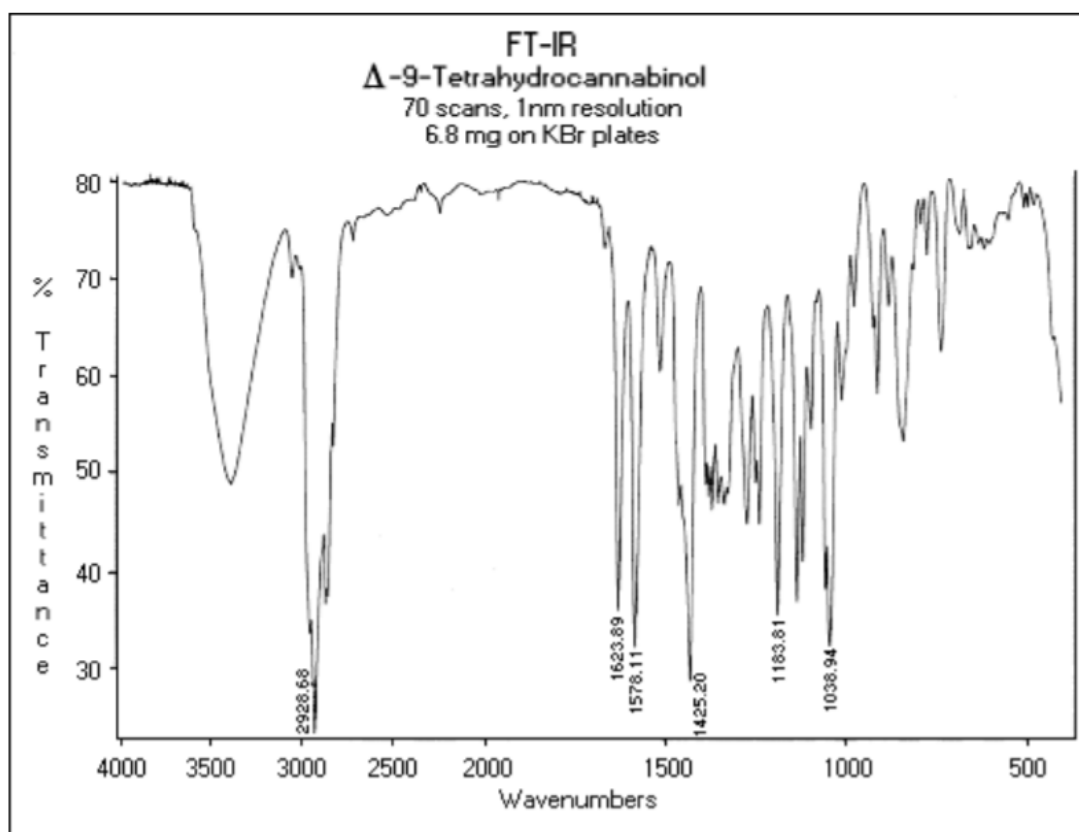
A energia eletromagnética na região do infravermelho possui maior comprimento de onda e menor energia, o que faz com que sua interação com moléculas orgânicas não provoque desintegração do composto, mas uma alteração na sua conformação vibracional e rotacional, ao contrário da radiação na região do ultravioleta, que é capaz de desintegrar amostras orgânicas pois possui menor

comprimento de onda e maior energia (BARBOSA, 2007, p. 17). Sendo assim, o espectro na região de 4000 a 400 cm^{-1} é a região mais importante na caracterização de compostos orgânicos e apresenta bandas de absorção ao invés de linhas porque cada mudança de nível vibracional está relacionada a mudanças rotacionais da molécula, embora a interpretação dos espectros não dependa de todas as bandas possíveis, mas sim, das mais características (BARBOSA, 2007, p. 17).

A ideia geral de um espectro do infravermelho está ilustrada na FIGURA 10. O espectro é um gráfico representado por bandas no qual o eixo das abscissas indica a posição de máxima absorbância e o eixo das ordenadas, a porcentagem de transmitância. A região hachurada em vermelho indica a banda A; a área delimitada em verde corresponde à banda B do espectro.

paragrafo explicando as bandas

FIGURA 10. ESPECTRO DE Δ 9-THC POR INFRAVERMELHO



FONTE: SWGDRUG ([s.d])

Para que a vibração causada pela radiação da onda eletromagnética resulte em absorção, é preciso que tal vibração modifique o momento dipolo da molécula analisada, seja nas modificações de estiramento de suas ligações ou de variação em seus ângulos, especialmente quando se trata de compostos que contenham grupamento -OH em suas estruturas, as absorções ocorrem mais comumente através do estiramento e de deformação angular da ligação O-H (BARBOSA, 2007, p. 23).

As vibrações de estiramento costumam resultar em bandas de absorção mais intensas que as obtidas pelas deformações angulares. Nesse sentido, é possível afirmar que determinados grupos funcionais, como carbonila e hidroxila apresentam bandas de absorção mais intensas devido a, principalmente, formação de grupos funcionais com átomos com grande diferença de eletronegatividade (BARBOSA, 2007, p. 23).

Para que o espectro através do infravermelho com a transformada de Fourier seja obtida, a amostra é colocada entre o interferômetro e o detector. Então, a amostra absorverá alguns comprimentos de onda e, conseqüentemente, diminuirá a intensidade deles (BARBOSA, 2007, p. 27). Esses dados brutos passam por um procedimento matemático chamado de Transformada de Fourier, em que há a transformação desses interferogramas em espectros no domínio da frequência, condição com a qual os profissionais e laboratórios estão acostumados (BARBOSA, 2007, p. 28). Assim, a subtração desses dois espectros fornece como resultado o espectro de absorção da amostra, como o visto na FIGURA 8.

Os espectros no infravermelho são obtidos a partir de amostras nos estados sólido, líquido e gasoso. É importante destacar que a qualidade da análise e do espectro depende fundamentalmente do preparo da amostra para a produção de resultados de boa qualidade.

Segundo Ferreira, (2016), o método de análise do FT-IR é capaz de verificar a vibração conforme a variação de energia da molécula sem que ocorra dano ao material, fato extremamente positivo dentro das perícias forenses, nas quais a preservação do material é de extrema importância. Por fim, o espectro gerado é comparado com os espectros já inseridos na biblioteca do equipamento e, a partir

disso, o equipamento é capaz de fornecer uma análise da composição química do composto e a quantidade parcial de substâncias.

Como já fora comentado, um espectro do infravermelho apresentará diversas bandas e sua interpretação pode ser feita, de modo geral, de duas grandes formas.

O primeiro caso ocorre quando o analista imagina e sabe de qual composto se trata e deseja apenas confirmar a identidade dessa amostra. Para isso, o profissional observa algumas bandas características do espectro de determinado grupo funcional e a ausência de outras. Então, a análise é feita através da comparação do espectro obtido com o da biblioteca da literatura ou do próprio equipamento, tanto das posições das bandas quanto das suas intensidades relativas (BARBOSA, 2007, p. 47).

A segunda situação é quando se trata de um composto totalmente desconhecido. Nesse caso, é necessária uma fina interpretação das bandas a fim de obter o maior número de informações possível. A espectroscopia auxilia na obtenção de informações sobre determinados grupos funcionais, mas outros métodos analíticos são necessários para elucidar de que composto se trata (BARBOSA, 2007, p. 47).

Para fins de análise, o espectro de infravermelho é dividido em 3 regiões: região 1, situada entre 4000 e 1300 cm^{-1} , região 2, localizada entre 1300 a 900 cm^{-1} , e região 3, entre 900 e 500 cm^{-1} (BARBOSA, 2007, p. 48).

A região 1 é denominada região dos grupos funcionais. Nessa região geralmente não há muitas bandas de absorção, que se referem principalmente aos estiramentos de ligação dos principais grupos funcionais, como OH, NH e de carbonila (BARBOSA, 2007, p. 48). Por outro lado, a região 3 comumente apresenta bandas fortes nos casos de compostos aromáticos e alquenos. Já a região 2, capaz de detectar estiramentos específicos, como de álcoois, fenóis, éteres e ésteres, é chamada de impressão digital da amostra, pois é ela que será utilizada para determinar de fato a identidade do composto, já que nessa faixa de absorção até mesmo isômeros apresentarão diferenças na faixa de ondas (BARBOSA, 2007, p. 49).

2.4 A metodologia de FT-IR aplicada às análises de *Cannabis sativa* L.

Em relação à análise química e forense de *Cannabis sativa* através do método de FT-IR, existem poucos artigos na literatura que abordam simultaneamente os estudos quali e quantitativos de canabinoides, como os que mencionam a utilização desse recurso metodológico para discriminar o tipo de droga e de fibra da *Cannabis sativa* dentro de um espectro de folhas (HEINRICH; WILSON, 2006), assim como os que estudam a composição dos diferentes canabinoides em amostras de *Cannabis sativa* e apontam o método de infravermelho como uma alternativa mais simples, desenvolvida e precisa que a análise tradicional feita pela CG-EM (CALLADO et al., 2018).

Heinrich e Wilson (2006) mostram que quando a *Cannabis* é analisada por FT-IR, a qualidade da análise é bastante elevada, visto que, segundo os autores, esse método é o ideal para a correta identificação e qualidade do material vegetal. Ademais, o estudo por FT-IR demonstrou que o modelo de análise através dessa metodologia é bastante robusto e preciso, principalmente para distinguir entre as formas com THC “alto” e “baixo”.

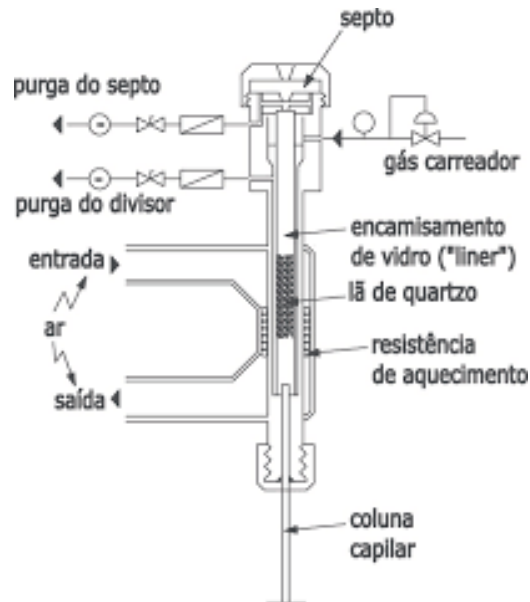
2.5 A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

O princípio cromatográfico desta técnica se baseia na separação de determinados componentes em uma amostra por meio de uma distribuição dela em duas fases, estacionária e móvel. Esse processo ocorre em uma coluna, que irá compor a fase estacionária, de forma que os compostos com maior “afinidade” pela fase ficarão proporcionalmente mais retidos, aparecendo posteriormente nos cromatogramas, enquanto os menos retidos são empurrados pela fase móvel, neste caso um gás inerte, aparecendo antes no cromatograma. A escolha de uma fase estacionária, com compatibilidade considerável pelo analito, faz com que o determinante da ordem de eluição, seja o ponto de ebulição do eluente, componente da fase móvel. O processo de eluição em cromatografia gasosa, consiste no arraste da amostra pela fase móvel, sendo esta um gás inerte quimicamente, que de acordo com Giudice (2017) tem sua vazão controlada por um regulador de pressão no cilindro e um outro regulador de pressão no cromatógrafo.

O gás utilizado para o arraste comumente é hélio, no entanto pode ocorrer variação dependendo de fatores como disponibilidade, pureza e o detector utilizado (MENDHAM 2021, p 160). O fornecedor do gás é ligado ao sistema por meio da conexão com injetor e detector, que possuem funções de regulação da entrada, como volume e velocidade, consequentemente regulam a vazão para controlar e medir o fluxo de gás. Dessa forma, previne-se para que não ocorra um alargamento de sinal devido à entrada descontrolada de amostra. O sistema de injeção pode ser diverso, variando de acordo com as características da amostra, mas geralmente envolvem a introdução de amostras líquidas com uma microseringa. A injeção com divisão de fluxo (*split*) é a mais usada e pode ser visualizada na FIGURA 11, nela a agulha da microseringa atravessa o septo de borracha de silicone auto-selante, injetando de 0,1 a 1,0 μL de amostra em um injetor aquecido, este último possui uma superfície interna recoberta com vidro, onde ocorre a vaporização da amostra e mistura com o gás de arrasto (MENDHAM 2021, p 161). Existem duas formas de injeção, *Split* - na qual somente uma parte da amostra, sendo a proporção de 1 a 10%, vaporizada e depois transferida para a coluna, já na *Splitless*, temos a utilização para substâncias menos concentradas (HARRIS, 2012, p. 618). Na *Splitless* ocorre uma injeção com volume maior (0,5 e 5 μL) em velocidade menor, condições que permitem a condensação do solvente nos primeiros milímetros da

coluna e a concentração das moléculas da amostra, dessa forma essa forma de injeção é mais usada em amostras com pequenas concentrações da molécula de interesse.

FIGURA 11. INJETOR COM DIVISOR PARA CROMATOGRAFIA COM FASE GASOSA EM COLUNA CAPILAR



FONTE: Aquino Neto (2010)

De acordo com Holler (2009) tem-se dois tipos de colunas cromatográficas, a recheada e capilar. As mais utilizadas atualmente, segundo eles, são as capilares, que podem ser divididas em capilar com parede recoberta e capilar com suporte recoberto, pois possuem diferenças na capacidade de amostra. Atualmente as mais usadas são as colunas capilares com parede recoberta à base de sílica, mais resistentes, flexíveis e com pouca interação com os componentes da amostra. A coluna tem suas paredes recobertas por uma fase estacionária, este comumente é um líquido viscoso, com ponto de ebulição elevado, inerte e estável.

Existem fatores de controle importantes e que contribuem de forma significativa para a escolha da coluna desejada. O tamanho da coluna, tem relação positiva com a resolução, quanto maior o trajeto percorrido pela molécula, melhor será a resolução da coluna, porém, vale lembrar que o tempo de eluição aumenta,

assim como o custo, não sendo vantajoso nos casos onde a substância analisada não é complexa (MENDHAM 2021, p 164). Outro fator que tem que ser levado em consideração é a temperatura da coluna, que vai interferir diretamente na resolução de análise do equipamento, assim é criada uma escala de aumento de temperatura que ocorre gradualmente. Conforme a análise das amostras, essa escala tem o intuito de alterar a afinidade de uma substância pela fase móvel, permitindo a saída dos compostos ligados à fase estacionária para saírem no cromatograma, sem que ocorra prejuízo na resolução dos sinais dos compostos mais voláteis (HARRIS, 2012, p. 614).

Posterior ao processo de passagem pela coluna, os componentes da amostra chegam até os detectores, para então serem registrados. O papel do detector, que tem sua posição localizada ao final da coluna, é registrar e medir as quantidades de moléculas que foram separadas na coluna e levadas pelo fluxo de gás (ref livro1). Existem diversos detectores que podem ser utilizados, sendo que cada um possui características cabíveis para determinadas análises. Assim temos o Detector por ionização em chama (FID), condutividade térmica (DCT), captura de elétrons (ECD) e massas (EM). (SKOOG, 2015. p 884)

No FID temos o efluente da coluna sendo direcionado para uma chama de ar e hidrogênio, que vai causar a ionização dos compostos. Dessa forma os íons resultantes dessa reação, vão gerar uma corrente elétrica, que é detectada pelo eletrodo sobre a chama. A análise se mostra bastante eficaz, com alta sensibilidade para uma gama alta de compostos. Entretanto ocorre a destruição da amostra pós pirólise. (SKOOG, 2015. p 885)

Em detectores de condutividade térmica, um filamento de metal é aquecido eletricamente e sua condutividade é dependente do gás que o envolve. Quando o efluente passa por esse filamento, aquele faz baixar a condutividade no filamento, resultando em aumento da temperatura, que é medido no detector. Dessa forma, como os gases utilizados (hélio e hidrogênio) possuem condutividade muito maior que a de compostos orgânicos, pequenas quantidades são o suficiente para que ocorra a detecção. Entretanto, essa detecção é considerada relativamente baixa, enquanto que uma vantagem é a preservação da amostra, sendo o oposto direto do FID. (SKOOG, 2015. p 885)

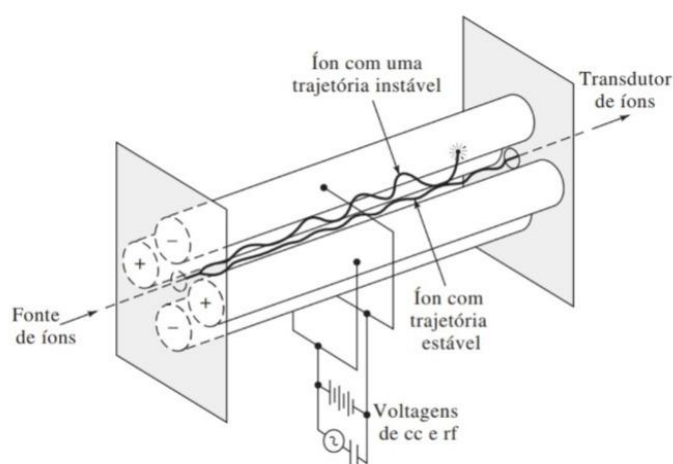
Os detectores por captura de elétrons, são específicos para compostos orgânicos halogenados, nos quais uma fonte de partículas radioativas do tipo beta, emite elétrons que vão ionizar o gás de arraste, gerando uma corrente de fundo que fica fixa entre um par de eletrodos, de forma constante, até que ocorra a interferência dessa corrente por conta de espécies eletronegativas, por meio da captura de elétrons. (SKOOG, 2015. p 887)

2.6 Espectrômetro de massas.

Ao final da coluna podemos ter um espectrômetro de massas, que é um equipamento capaz de analisar e separar substâncias por meio da ionização da amostra e separação dos íons resultantes desse processo, por meio de um campo elétrico, de forma que se tem uma relação massa/carga (m/z). A forma de acoplar a espectrometria ao cromatógrafo gasoso, é muito utilizada, principalmente por não sobrecarregar o sistema de vácuo. (SKOOG, 2015. p 887)

Sobre as formas de ionização da amostra, podemos citar a ionização por impacto de elétrons, que são emitidos por um filamento aquecido de tungstenio e acelerados por um potencial imposto entre o filamento e um anodo como esquematizado na FIGURA 12. As moléculas do analito absorvem essa energia, são direcionados para o analisador e ionizam, formando o íon molecular. Essa interação pode ser capaz de, muitas das vezes, fragmentar a molécula. Assim o espectro de massa pode ser nulo ou de sinal baixo (HARRIS, 2012, p. 541).

FIGURA 12. ESPECTRÔMETRO DE MASSAS QUADRUPOLO.



FONTE: Skoog (2015), p 802.

Os filtros de massa de quadrupolo possuem características benéficas como o tamanho, menor e mais robusto que outros, e o valor, bem mais atrativo. Como visto

na FIGURA 12, o esquema é composto por 4 cilindros de metal paralelos, disposto em pares, em que são aplicados um combinação de voltagens (MENDHAM 2021, p 410). Os cilindros de lados opostos são ligados a fontes elétricas positivas e negativas, fazendo com que a trajetória dos íons seja errática em relação ao centro do quadrupolo. Os íons mais leves sofrem deflexões e acabam por colidir com os cilindros metálicos, enquanto que os mais pesados sofrem deflexões menores, e com o auxílio dos potenciais tendem a passar ilesos, funcionando como um filtro de massas

Outra forma seria a de ionização química, na qual a câmara de ionização é preenchida com determinado gás. Este é convertido por meio de interações com elétrons acelerados e como resultado temos radicais reativos, que diferente da ionização de elétrons, não fragmentam tanto as moléculas da amostra. Outra facilidade está no uso de quadrupolos de transmissão, que funcionam como um filtro de interação, no qual essas quatro hastes metálicas irão sofrer um potencial elétrico de forma constante e um potencial de radiofrequência oscilante. Os íons então defletem quando em direção ao detector, e a variação dos potenciais elétricos permite que íons com massas diferentes, cheguem ao detector (HOLLER et al, 2009, p. 301).

Para a detecção temos que os tipos mais utilizados nos espectrômetros de massas, são as multiplicadoras de elétrons, aqui, podemos citar o dispositivo de dinodo discreto, onde o processo de funcionamento ocorre de maneira que um feixe de íons atinge uma superfície de Cobre/Berílio, provocando a ejeção de elétrons, estes são acelerados por um potencial alto atingindo uma segunda placa, que no caso é o dinodo, provocando a emissão de um número maciço de elétrons secundários (MENDHAM 2021, p 413). O processo descrito no parágrafo anterior é o referente à separação por analisadores magnéticos, nos casos de filtros de quadrupolo, o feixe de íons deve passar por um dinodo de conversão, com potencial de até 20kV.

Os dados gerados saem do equipamento em forma de espectro de massa normalizado, onde há um pico base, com intensidade correspondente, e é com relação a esse pico que os demais serão comparados. Entretanto são necessários cuidados para que não ocorra interferência nas leituras, como por exemplo a

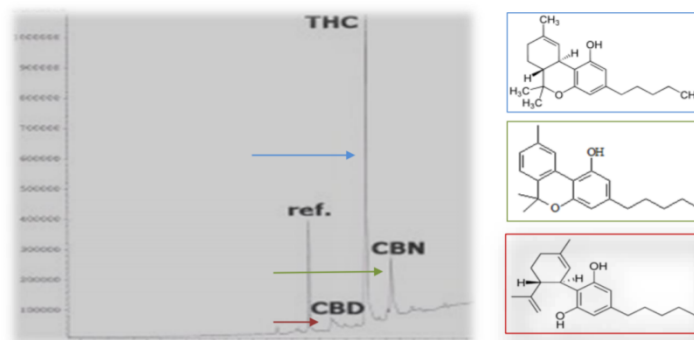
calibração dos eixos das massas. Outro importante fator é a medição da intensidade do pico base, se esta não estiver de acordo, todas as análises serão comprometidas.(MENDHAM 2021, p 414)

2.7 A metodologia de CG-EM aplicada às análises de *Cannabis sativa* L.

De acordo com a literatura mais recente, sabe-se que os compostos canabinoides possuem efeitos biológicos de grande importância e interesse como descrito por Tzadok et al. (2016), que cita como o uso de medicamentos baseados nesse composto podem ser alternativas promissoras nos tratamentos de epilepsia, principalmente nos casos onde o paciente desenvolve resistência aos medicamentos comuns.. Os processos científicos de análise de *Cannabis* estão a cada dia se tornando mais abrangentes, para que ocorra o controle de substâncias exógenas, bactérias e presença de metais,(GIUDICE, 2017) em países onde há legalização, mas, para que também pesquisas de produtos exógenos sejam realizadas, tanto para aplicação em saúde, como para o uso no controle e identificação da droga em países onde não se tem legalização. Estes compostos podem ser analisados por meio de diferentes métodos analíticos como cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), detector por ionização em chama, cromatografia líquida associada acoplada ao massas (CL-EM) entre outros. Estudos indicam que a sensibilidade do CL-MS é menor quando comparada ao CG-EM (GIUDICE, 2017). Contudo, o uso da cromatografia gasosa, ainda pode ser revisto, pois devido a alta temperatura do injetor e detector, ocorre um processo de descarboxilação de ácidos canabinóides, levando a um prejuízo das análises. Contudo existem técnicas laboratoriais que podem auxiliar na redução desses erros, por exemplo um estudo de Cardenia et al., (2018), propôs um modelo de padronização de análise, onde a amostra era previamente derivatizada, por método de sililação. Após derivatização a amostra foi analisada em fast CG-EM, que demonstrou inúmeras vantagens ao processo como redução do tempo de análise, sem que ocorresse prejuízos a sensibilidade, resolução, repetibilidade e reprodutibilidade. A derivatização já tem sido utilizada nas análises de *Cannabis* em situações adversas, o que traz como consequência o aumento do tempo de análise, devido a preparação prévia do material. Em uma situação de rotina, onde se tem uma demanda considerável de amostras, e uma pluralidade nos tipos de amostras, levando ao aumento da competitividade pelo uso do equipamento, esse fator pode ser fatal no atraso de análises.

Até o ano de elaboração dessa pesquisa, essa teria sido a primeira vez que um grupo realizou a determinação de canabinóides com auxílio de CG-EM, relacionando diferentes reagentes de derivatização. Entretanto, em 2011, pesquisas foram realizadas na Universidade Federal do Amazonas por Leal (2012), com intuito de determinar produtos da “maconha”, de amostras apreendidas no estado do Amazonas. Neste trabalho, foi possível encontrar um cromatograma típico, de amostras que continha THC, CBN e CBD, com os tempos de retenção fixados em 11,432; 12,608; 12,880 minutos respectivamente, como visto na FIGURA 13, (LEAL, 2012).

FIGURA 13. CROMATOGRAMA TÍPICO DE AMOSTRAS DE *Cannabis s.*



FONTE:Leal (2012)

2.8 Comparação entre as análises experimentais de CG-EM e FT-IR

Do ponto de vista instrumental, os problemas e as principais dificuldades são as diferenças nas taxas de fluxo, pressão e sensibilidade entre os dois métodos, o que permite escolhas tão contraditórias ou semelhantes em diferentes aspectos e critérios de escolha (LACROIX, 1989).

A baixa taxa de fluxo das colunas capilares da cromatografia gasosa surge como um ponto negativo do método citado e favorece o recurso menos destrutivo ao material, empregado na análise feita por infravermelho (LACROIX, 1989).

Segundo Lacroix (1989), é possível utilizar dos conhecimentos de forma simultânea entre a CG-EM e o FT-IR através da elaboração de softwares de correlação cruzada capazes de extrair as melhores análises de cada metodologia.

É importante ressaltar também que uma diferença relevante entre os dois métodos é o tamanho das bibliotecas de espectros, haja visto que a biblioteca da CG-EM é, aproximadamente, dez vezes maior que a da FT-IR, o que faz com que alguns autores acreditem que o infravermelho pode funcionar como uma espécie de filtro de espectro de grupamento funcional, além da sua capacidade resolutiva para casos de isomeria (LACROIX, 1989).

2.9 Análise da eficácia do método de FT-IR em relação à CG-EM

Para as análises de canabinoides, algumas ressalvas podem ser feitas a respeito de ambas as técnicas e suas peculiaridades. Ambas as técnicas possuem limitações, no infravermelho a aplicação é limitada a moléculas que possuem pequenas diferenças de energia entre os estados vibracionais, e que no momento em que absorvem radiação, sofrem variação do tipo dipolo, durante o movimento rotacional ou vibracional (HOLLER et al., 2009, p. 445).

Na cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas, existe de fato uma maior sensibilidade quando comparado ao FT-IR; em contrapartida, a elevada temperatura no momento da volatilização da amostra pode levar, principalmente, à descarboxilação de alguns ácidos canabinóides, o que implicaria diretamente na análise, podendo mascarar esses compostos.

3 METODOLOGIA

3.1 Triagem do material e amostragem

Todo material utilizado nas análises que prescreveram o presente trabalho, foi fornecido através da instituição da Polícia Científica do Estado do Paraná, que conferiu suporte legal de autorização dos subprodutos, para o uso científico na pesquisa, visando contribuir com o crescimento do conhecimento da área.

O material escolhido era proveniente de apreensões em flagrante realizadas por agentes de segurança pública, dentro do estado do Paraná. As amostras foram inicialmente separadas pelo agente responsável pela abordagem, em quantidade suficiente para possibilidade de análise. Esse material a partir do primeiro momento em que se é coletado faz parte de um processo denominado cadeia de custódia, que, de acordo com o Artigo 158A do Decreto Lei nº 3.689 de 03 de Outubro de 1941 é

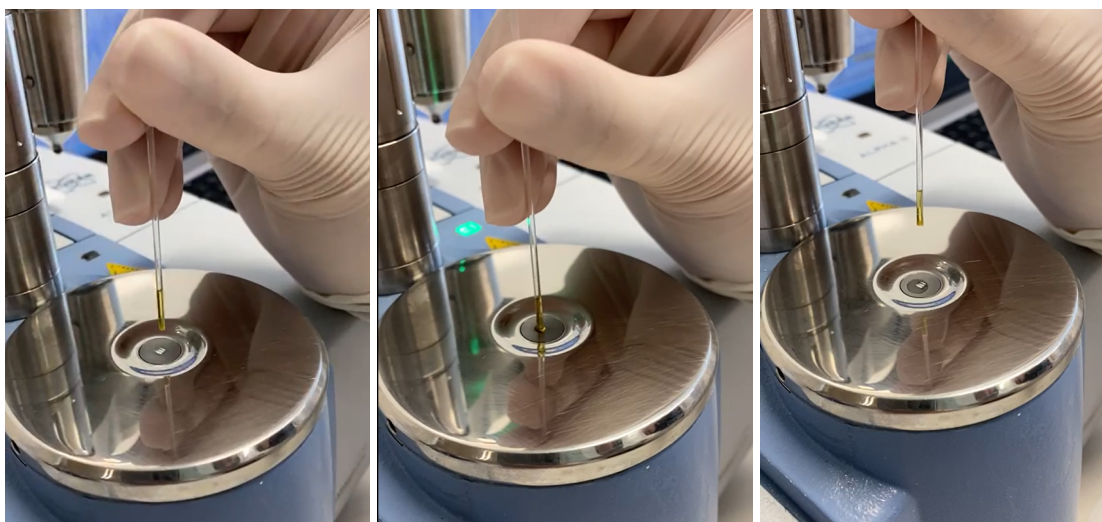
Considera-se cadeia de custódia o conjunto de todos os procedimentos utilizados para manter e documentar a história cronológica do vestígio coletado em locais ou em vítimas de crimes, para rastrear sua posse e manuseio a partir de seu reconhecimento até o descarte. (Incluído pela Lei nº 13.964, de 2019) (Vigência)

Dessa forma, a importância desse processo consistiu em manter a inviolabilidade das provas. As amostras chegaram até a central de custódia do institutos de criminalística do Paraná, vindas de diferentes cidades do estado, com lacre em seus respectivos recipientes e acompanhadas de um ofício. Logo após, ocorreu uma distribuição desses encargos para os peritos competentes, que romperam o lacre, e descreveram a amostra, com relação ao seu aspecto, cor, tipo de recipiente e anotação da numeração contida no lacre. As amostras passaram pelas análise iniciais, onde foi aferido a massa, e realizado o teste colorimétrico, este último utilizando o reagente Sal de azul B. Nesse momento iniciou-se o procedimento de amostragem, que consistiu na escolha da data da apreensão, selecionando apenas os ofícios do ano de 2021.

3.2 Coleta de dados e análise em FT-IR

O processo que se deu a seguir foi constituído em seis etapas de padronização, realizadas no laboratório previamente juntamente com um grupo de pesquisa laboral parceiro. Onde as etapas foram as padronizações de massa de amostra, solvente, volume do solvente, tempo de extração, manuseio da amostra no amostrador e temperatura. Esse processo foi elaborado devido a escassez desse tipo de análise na literatura. A primeira etapa foi estabelecer uma única forma de análise e manuseio do amostrador, assim foi padronizado que a adição da amostra seria por tubo capilar em um ângulo de 90° sob o cristal do infravermelho, em apenas um toque como pode ser visualizado na imagem da FIGURA 14. Uma mesma amostra foi separada em triplicata para cada um dos 4 amostradores totalizando 12 leituras, das leituras foram feitos a média e desvio padrão do High Quality dos resultados de THCA e Δ 9-THC, pois esses apareceram em todas as análises.

FIGURA 14. ESQUEMA DEMONSTRATIVO DE ANÁLISE EM EQUIPAMENTO DE INFRAVERMELHO.



FONTE: Os autores (2021)

Para a massa foram separados 150, 300, 450 e 600 mg, que foram submetidas a análise com solvente hexano (1000 μ L), por ser o utilizado naquele período para extração em amostras vegetais. Cada massa foi feita em triplicata sendo realizado o cálculo da média e desvio padrão de cada uma.

Outro ponto importante definido foi o ótimo volume do solvente, assim como o solvente escolhido. Para o volume novamente foi utilizado Hexano, em quantidades de 300, 400, 500, 600 e 700 μ L. No caso da escolha do solvente, fizemos os testes de padronização já com o volume de 600 μ L definido como o com melhor custo benefício, utilizando hexano, metanol, éter de petróleo e diclorometano. Após a definição do solvente que teve os melhores resultados de extração, padronizamos o fator tempo de extração, os testes foram feitos nos tempos 0, 2, 6 e 24h.

As amostras foram então separadas em microtubo de 2 mL, sendo a massa total de 300 mg em cada. Para aferir, primeiro posicionamos o microtubo sob a balança e zeramos, após, íamos depositando a amostra no interior do microtubo e aferindo até chegar em 300 mg, tendo uma margem de erro de 0,005 para mais ou menos. Durante todo o período de coleta do número total de amostras foi de 217, que se deu após coleta por aproximadamente 1 mês.

O procedimento seguinte foi a extração dos terpenos fenóis de interesse, que caracterizam a planta, como Δ 9-THC e seu metabólito 11-OH- Δ 9-THC, ácido tetrahydrocannabinólico (THCA), precursor do THC. Para tal foi utilizado o solvente Hexano, em volume ótimo de 600 μ L, que demonstrou em padronizações preliminares, maior ganho econômico e ambiental. Com o auxílio de micropipeta de 1000 μ L, o solvente foi adicionado e posteriormente, agitado por 20 segundos em Vortex Kasvi Basic. Os microtubos foram então submetidos a centrifugação a 16000 rpm na Centrífuga Spinlab por 5 minutos. O tempo de extração foi fixado em 0h, assim não foi necessário o armazenamento das amostras em temperatura refrigerada, como foram feitos nos testes de extração.

Foram então analisadas conforme padronização descrita e representada na FIGURA 14, e os valores de High Quality anotados para posterior análise estatística em paralelo com as análises do CG-EM.

3.3 Coleta de dados e análise por CG-EM

A análise por CG-EM ocorreu do seguinte modo: após as leituras por infravermelho, os microtubos foram centrifugados novamente, seguindo os mesmos parâmetros de centrifugação, 16000 rpm por 5 minutos, com o uso de uma micropipeta, desse sobrenadante separamos em um vial de 1,5 mL, o volume de 50 μ L do conteúdo do microtubo, juntamente com 950 μ L de solvente hexano. A rotina do laboratório também previa uma padronização de 1000 μ L sendo apenas de solvente, para que possa ser utilizado na corrida como um branco.

Os vials foram então levados para o equipamento e colocados nas bandejas, sendo o primeiro poço preenchido pelo branco, seguido das amostras. Após a colocação das amostras, fazemos a delimitação para o programa conseguir realizar a leitura corretamente por meio de uma lista, como exemplificado na FIGURA 15, a linha de início contém o endereçamento da pasta que serão salvos os cromatogramas ao final das leituras. A lista é estruturada em duas linhas de leitura por amostra, sendo a primeira para o branco e a segunda para a amostra, que compõem a primeira coluna. A segunda coluna compreende a bandeja que o vial se encontra, a terceira coluna o número do poço e a quarta coluna descreve o nome da amostra com a REP. Na montagem da lista é escolhido o método de leitura usado pelo equipamento, assim como a solução de lavagem que será usada, aqui no caso o hexano, já que as amostras foram diluídas no mesmo. O método contém as definições de temperatura, pressão entre outras características físico químicas ideais para o tipo de amostra, no caso, o selecionado foi o "OBJETOS", que é utilizado para análises mais gerais, estando atrelado a solução de lavagem de hexano, que é o solvente indicado para objetos e vegetais.

FIGURA 15. ILUSTRAÇÃO DA TABELA DE MONTAGEM DAS LISTAS NA CG-EM

Sample Log Table								
Data Path: D:\RUNS		Browse...		Method Path: C:\MSDCHEM\1\METHODS		Browse...		
	Type	PAL Tray / Sample Prep	Vial	Sample	Method / Keyword	Data File	Comment / KeywordString	Multiplier
1	Keyword	Tray1						
2	Blank	Tray1	60	11625_20_COCA_BCO	COCA_SHORT_COCAINE	11625_20_COCA_BCO	D:\RUNS\ISABELA\2021\02_FEV\25_02_21	1.000
3	Keyword							1.000
4	Blank	Tray2	3	BCO_01	COCA_SHORT_COCAINE			
5	Sample	Tray1	80	PADRAO_COCA_01	COCA_SHORT_COCAINE			
6	Sample	Tray1	80	PADRAO_COCA_02	COCA_SHORT_COCAINE			
7	Sample	Tray1	80	PADRAO_COCA_03	COCA_SHORT_COCAINE			
8	Blank	Tray2	3	BCO_02	COCA_SHORT_COCAINE			
9	Keyword							
10	Blank	Tray2	80	90048_20_COCA_BCO			D:\RUNS\LUIS\2021\FEVEREIRO\26_02_21	
11	Sample	Tray2	78	90048_20_COCA				
12	Blank	Tray2	80	10477_21_COCA_BCO				
13	Sample	Tray2	79	10477_21_COCA				
14								
15								
16								
17								

FONTE: Os autores (2021)

3.4 Análise estatística

As comparações entre os resultados obtidos pelo FT-IR e CG-EM para verificação de diferença significativa e para fins de pesquisa de validação do método de FT-IR foram feitas por meio de cálculo de média e desvio padrão para todas as análises, bem como a comparação entre valores mínimo e máximo dos resultados parciais de $\Delta 9$ -THC dos dois métodos. As análises estatísticas foram feitas com o software *Easycalculation*.

4 RESULTADOS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi realizada uma padronização do método de amostragem, através de adição do extrato vegetal por meio de tubo capilar. Os resultados obtidos para a quantidade de massa indicaram que um aumento da mesma mostra resultados melhores, todavia o ganho obtido não é significativo após 300 mg. No que tange ao volume ótimo utilizado, notou-se que volumes abaixo de 500 μ L resultaram em espectros piores, talvez pela concentração elevada de interferentes, os quais mascaram o espectro dos alvos de interesse. Dentre os maiores volumes, optou-se pelo de 600 μ L, apesar de não haver diferença significativa entre eles há um ganho econômico e ambiental na escolha. Dentre os solventes utilizados o hexano foi o que apresentou os melhores resultados, seguido por éter de petróleo, indicando que solventes mais apolares são mais efetivos na extração de canabinóides. O tempo de extração apresenta influência na medida, em geral o tempo de extração de 2h foi o que apresentou os melhores espectros, havendo perda de qualidade para tempos maiores, apesar disso a medida imediata da amostra foi tida como a mais indicada, pela praticidade obtida na rotina, já que as diferenças para esse tempo e o melhor são marginais

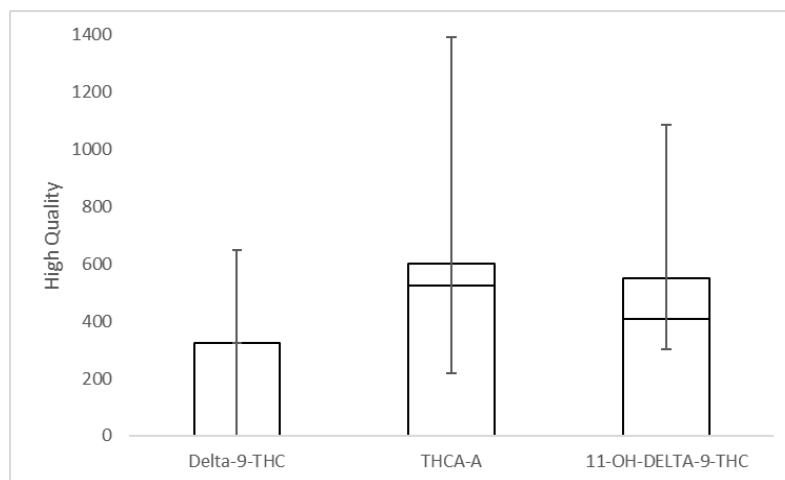
Inicialmente determinou-se os valores de Δ 9-THC das amostras obtidos no FT-IR e na CG-EM, cujos resultados médios no FT-IR variaram de resultado nulo em 83 das 217 amostras, e entre 113 a 872 nas demais. Na CG-EM os resultados de Δ 9-THC variaram de 854 a 963, indicando heterogeneidade entre as leituras e análises do FT-IR em relação à CG-EM, conforme ilustram a TABELA 1 e o GRÁFICO 1.

TABELA 1. VALORES MÍNIMO, MÁXIMO, MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELOS MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE ANÁLISE EM ABSORBÂNCIA (A.U)

MÉTODO	MÍNIMO	MÁXIMO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
FT-IR	113	872	316,86	296,6
CG-EM	854	963	945,15	14,7

FONTE: Os autores (2021)

GRÁFICO 1. GRÁFICO DO TIPO BOX PLOT DE TODOS OS VALORES DE HIGH QUALITY DE Δ 9-THC, THCA-A E 11-OH- Δ 9-THC

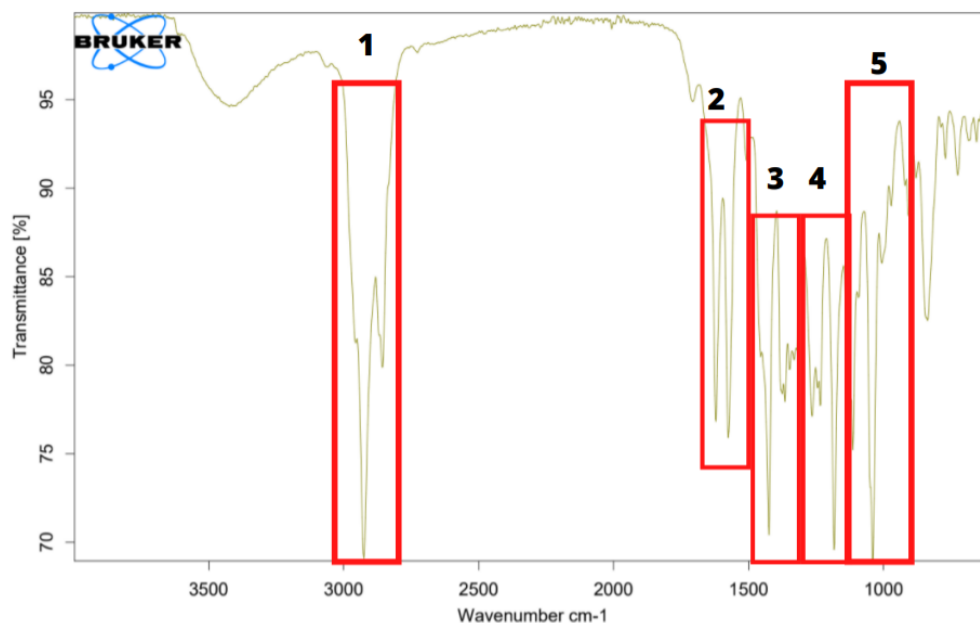


FONTE: Os autores (2021)

Com base nos resultados obtidos, é possível perceber que os dados gerados pelo CG-EM estão bastante uniformes, com pequeno desvio padrão. Isso funciona como uma espécie de controle positivo para canabinoide, já que resultados assim eram esperados, pois a CG-EM é um método de análise há muito consolidado no mercado e nos laboratórios.

Como podemos verificar na FIGURA 16, de uma das análises realizadas em laboratório, as bandas características se mostraram evidentes, se fizermos uma comparação com o gráfico de referência da SWGDRUG linkado na FIGURA 10, anteriormente apresentada, mesmo em uma simples sobreposição, é possível identificar bandas características de Δ 9-THC. No retângulo de número 1 temos o valor de 2.928,68, no retângulo 2 temos os valores de 1.623,89 e 1.578,11, no retângulo 3 temos 1.425,20; no 4 temos 1.183,61 e no 5 temos a referência de 1.036,94; respectivamente marcados da esquerda para a direita em ordem decrescente.

FIGURA 16. RESULTADO DE UMA ANÁLISE EM FT-IR



FONTE: Os autores (2021)

Dos três compostos destacados neste trabalho, a comparação apresentada na TABELA 1 se deu a partir do composto encontrado de fato na planta, o $\Delta 9$ -THC, pois este fora evidenciado de forma majoritária na CG-EM, o que permite fazer uma comparação direta entre o valor obtido na CG-EM com o grau de qualidade da amostra. Em outras palavras, uma amostra com alto teor de $\Delta 9$ -THC na CG-EM, indica que há menor degradação devido à ausência de metabólitos secundários. O THCA foi pouco encontrado na CG-EM por conta da elevação da temperatura necessária para a metodologia de análise, pois em altas temperaturas, o THCA é convertido em $\Delta 9$ -THC.

Foi possível observar no resultado emitido pelo FT-IR, a apresentação dos valores de 11-OH- $\Delta 9$ -THC, metabólito secundário de canabinoide e indício de degradação endógena. Esse resultado pode corroborar para um possível erro de leitura do equipamento, visto que os seus resultados são emitidos de acordo com o match que o equipamento faz do espectro obtido com os pré-estabelecidos na biblioteca.

Além disso, das 217 amostras, nenhuma apontou resultado negativo para Δ 9-THC, THCA e 11-OH- Δ 9-THC simultaneamente no FT-IR, como ilustra a FIGURA 17; logo, este instrumento de análise foi bastante sensível na percepção de terpeno fenóis presentes na planta e seus metabólitos secundários.

FIGURA 17. PARTE DOS RESULTADOS OBTIDOS NO FT-IR E NA CG-EM. NENHUMA AMOSTRA TOTALMENTE NEGATIVA NO FT-IR

REP	INFRAVERMELHO			CG-MS (Match delta-9-THC sw drug lib)		REP	INFRAVERMELHO		
	Delta-9-THC	THCA-A	11-OH-DELTA-9THC				Delta-9-THC	THCA-A	11-OH-DELTA-9THC
34514/21	719	-	673	953		36598/21	407	585	417
33277/21	424	561	292	953		38217/21	-	515	-
35776/21	233	627	-	951		10738/21	-	525	-
34502/21	427	550	471	951		10974/21	520	589	284
35738/21	191	623	-	954		12033/21	-	697	-
23777/21	769	468	788	958		33464/21	771	684	822
33258/21	464	674	380	956		12040/21	469	580	464
34404/21	242	653	-	954		12177/21	461	565	487
28996/21	491	528	516	958		9840/21	-	875	-
34517/21	242	777	-	956		11461/21	-	556	-
7914/21	564	-	405	957		11804/21	514	558	304
13938/21	388	462	-	955		11458/21	-	464	-
14871/21	847	493	853	952		10501/21	-	668	-
1537/21	735	-	695	954		11449/21	-	766	-
32599/21	872	575	741	957		11866/21	656	-	761
35173/21	469	568	268	956		12216/21	476	-	674
23609/21	455	542	301	948		29421/21	434	-	678
18828/21	253	593	-	957		24381/21	357	-	745

FONTE: Os autores (2021)

Outro ponto que deve ser levado em consideração e que é relevante para este estudo é que, apesar de os valores de Δ 9-THC do FT-IR serem baixos em relação aos apresentados na CG-EM, ambos trouxeram o mesmo resultado, ou seja, em nenhum caso a metodologia de FT-IR indicou que uma amostra se tratava de um canabinoide e que a CG-EM, nosso método de referência, não tenha confirmado.

Sendo assim, os dados apresentados atestam a validade e a eficácia do método de FT-IR na análise de *Cannabis sativa* L, porque através dele é possível fazer a separação dos compostos da planta e suas respectivas análises.

REFERÊNCIAS

11-OH-THC. Pubchem, Centro nacional de informações sobre biotecnologia, [s.d]. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11-hydroxy-THC>>. Acesso em: 25.out.2021

AQUINO NETO, Francisco Radler de. Uma Abordagem Simples e Abrangente para Dominar as Variáveis que Afetam a Injeção em Cromatografia Gasosa de Alta Resolução. **Scientia Chromatographica**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 4, p. 51-67, out. 2010. Disponível em: <https://www.iicweb.org/scientiachromatographica.com/files/v2n4a4.pdf>. Acesso em: 06 dez. 2021.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**, Viçosa: UFV, 1ª ed, p.189, 2007.

BORGES, L. P., AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 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. **LUME**. v.10, n.3, p.20 - 27, 2016.

CALLADO, C., S. SÁNCHEZ, N. N., CASANO. S., VERA, C. F.. The potential of near infrared spectroscopy to estimate the content of cannabinoids in *Cannabis sativa* L.: a comparative study. **Talanta**, [S.L.], v. 190, p. 147-157, dez. 2018.

CARDENIA, V., GALLINA TOSCHI, T., SCAPPINII, S., RUBINO, R. C., & Rodriguez-Estrada, M. T. Development and validation of a Fast gas chromatography/mass spectrometry method for the determination of cannabinoids in *Cannabis sativa* L. **Journal of Food and Drug Analysis**, 2018.

CARVALHO, V.M., AGUIAR, A. F. L., BARATTO, L. C., SOUZA, F. L. C., ROCHA, E. D. Quantificação de canabinoides em extratos medicinais de Cannabis por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 43, n. 1, p: 90-97, 2020.

ELSOHLY, M. A., RADWAN, M. M., GUL, W., CHANDRA, S., GALAL, A. Phytochemistry of *Cannabis sativa* L. **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**, vol 103, p. 1-36, 2017.

FARIAS, R.F. **Introdução à Química Forense**. Campinas: Editora Átomo, 2007.

FERREIRA, A. G. Química forense e técnicas utilizadas em resoluções de crimes. **Acta de ciências e saúde**, Vol. 02, No. 05, 2016.

GASTON, T. E.; FRIEDMAN, D. Pharmacology of cannabinoids in the treatment of epilepsy. **Epilepsy Behav.** 2017 May;70(Pt B):313-318. doi: 10.1016/j.yebeh.2016.11.016. Epub 2017 Jan 10. PMID: 28087250.

GIUDICE, G. H. Métodos analíticos de identificação de canabinoides sintéticos: uma revisão bibliográfica. **Acta de Ciências e Saúde**, v.1, n.5, 2017.

GOES JUNIOR, E.J.A.; ROEDER, J. S.; OLIVEIRA, K. B.; FERREIRA, M. P.; SILVA, J. G. D. Validação de método espectrofotométrico de análise para a quantificação de ácido acetilsalicílico em formulações farmacêuticas: uma proposta de aula experimental para análise instrumental. **Química Nova**, v.42, p.99-104, 2019.

GONÇALVES, G. A. M., SCHLICHTING, C. L. R. Efeitos benéficos e maléficos da Cannabis sativa. **Uningá Review**, v.20, n.02, p.92-97, 2014.

GONDIM, Carina de Souza; JUNQUEIRA, Roberto Gonçalves e SOUZA, Scheilla Vitorino Carvalho de. Tendências em validação de métodos de ensaios qualitativos. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)** [online]., vol.70, n.4, p. 433-447, 2011.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 8ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 920 p.

HEINRICH, M., WILSON, N. The use of near infrared spectroscopy to discriminate between THC-rich and hemp forms of cannabis, **Planta Med.** vol.72, p.1059–1059, 2006.

HOLLER, F. J., **Skoog, D. A., & Crouch, S. R.** Princípios de análise instrumental. 6ª ed. Porto Alegre RS: Bookman, 2009.

HONÓRIO, K. M., ARROIO, A., SILVA, A. B. F. Aspectos terapêuticos de compostos da planta *Cannabis sativa*. **Química Nova**, vol. 29, n.2, 2006.

KASHIWAQUI et. al. Reguladores vegetais: uma breve revisão sobre a giberelina. **SODEBRAS**. v.14, n.166, p.11-16, out. 2019.

LACROIX, B.; HUVENNE, J.P.; DEVEAUX, M.. Gas chromatography with fourier transform infrared spectrometry for biomedical applications. **Journal Of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, [S.L.], v. 492, p. 109-136, ago. 1989.

LEAL, Jário. Determinação dos produtos da maconha (*Cannabis sativa*) apreendidos no estado do Amazonas por CG/MS e EAA. 2012. 23 f. Relatório Final (Química) - **UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS, Manaus AM**, 2012. Disponível em: <http://riu.ufam.edu.br/handle/prefix/2530>. Acesso em: 1 dez. 2021.

LUTZ, P. J. **ResearchGate**, 2003. Espectro de absorção na região do infravermelho médio para o polietileno. Disponível em: <https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Espectro-de-absorcao-na-regiao-do-infravermelho-medio-para-o-polietileno-obtido_fig1_26367254>. Acesso em: 15 de nov. de 2021.

MENDHAM. **Análise Química Quantitativa**. Grupo GEN, 2002. 978-85-216-2580-3. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-216-2580-3/>. Acesso em: 25 nov. 2021.

MOTA, L., DI VITTA, P. B. Química forense: utilizando métodos analíticos em favor do poder judiciário. **Rev. Oswaldo Cruz [online]**. p: 1-11, 2016.

POLÍCIA CIENTÍFICA. **Polícia Científica**, [s.d.]. Quem somos. Disponível em: <<https://www.policiacientifica.pr.gov.br/Pagina/Quem-somos#>>. Acesso em: 22 de set. de 2021

RAMOS, M. F., KINNEY, C. A., BORILLE, B. T., ORTIZ, R. S., LIMBERGER, R. P., TIECHER, T., CAMARGO, F. A. O. Integrative review on *Cannabis sativa* L. origin traceability. **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics**, vol. 10, n.3, p. 459-472, 2021.

RIBEIRO, M., et al. Abuso e dependência da maconha. Diretrizes em Foco. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v.51 n.5, p.24-27, out 2005.

ROMÃO, W., SCHWAB, N. V., BUENO, M. I. M. S., SPARRAPAN, R., EBERLIN, M. N., MARTINY, A., SABINO, B. D., MALDANER, A. O. Química forense: perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso. **Quim. Nova**, vol. 34, N. 10, p: 1717-1728, 2011.

SANTOS, N. A., SOUZA, L. M., DOMINGOS, E., FRANÇA, H. S., LACERDA, V., BEATRIZ, A., VAZ, B. G., RODRIGUES R. R.T., CARVALHO, V. V., MERLO, B. B., KUSTER R. M., ROMÃO, W., Evaluating the selectivity of colorimetric test (Fast Blue BB salt) for the cannabinoids identification in marijuana street samples by UV-Vis, TLC, ESI(+)FT-ICR MS and ESI(+)MS/MS, **Forensic Chemistry**, v.1, p.13-21, 2016.

SCHOU, J., PROCKOP, L.D., DAHLSTROM, G., ROHDE, C. Penetration of delta-9-tetrahydrocannabinol and 11-OH-delta-9-tetrahydrocannabinol through the Blood-brain Barrier. **Acta Pharmacologica et Toxicologica**. (1977), 41: 33-38.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, Stanley. R. **Fundamentos de Química Analítica: Tradução da 9ª edição norte-americana**. Cengage Learning Brasil, 2015.

SWGDRUG. THCA, [s.d]. Disponível em: <<https://swgdrug.org/Monographs/THCA-A.pdf>>. Acesso em: 13 de jan. de 2022.

TURNER, C.E. Chemistry em metabolism. In: PETERSEN, R.C., ed. Marijuana research. **NIDA Monograph Series**, v. 31. Rockville: NIDA, 1980. p.81-97. 1980.

TZADOK, M., ULIEL-SIBONI, S., LINDER, I., KRAMER, U., EPSTEIN, O., MENASCU, S., NISSENKORN, A., YOSEF, O., HYMAN, E., GRANOT, D., DOR, M., LERMAN-SAGIE, T., BEN-ZEEV, B. (2016). CBD-enriched medical cannabis for intractable pediatric epilepsy. **Seizure**, 35, 41–44.

WANG, N., LIM, L. Fourier transform infrared and physicochemical analyses of Roasted coffee. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, p. 5446–5453, 2012.