



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LAÍS AKINA NAGAO

RAZÃO ISOTÓPICA DE Pb EM SOLO E PLANTA (*Trema micrantha*) PARA SIMULAR O RASTREAMENTO DE DROGA ILÍCITA

LAÍS AKINA NAGAO

RAZÃO ISOTÓPICA DE Pb EM SOLO E PLANTA (*Trema micrantha*) PARA SIMULAR O RASTREAMENTO DE DROGA ILÍCITA

Dissertação para obtenção do título de mestre do Curso de Mestrado em Química da Universidade Estadual de Londrina.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Josefa dos Santos Yabe.

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Nagao, Laís Akina Nagao.

Razão isotópica de Pb em solo e planta (*Trema micrantha*) para simular o rastreamento de drogas ilícita / Laís Akina Nagao Nagao. - Londrina, 2017.
86 f. : il.

Orientador: Maria Josefa dos Santos Yabe Yabe.

Coorientador: Suzana Lucy Nixdorf Nixdorf.

Coorientador: Marcelo Domingues Torezan Torezan .

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Química inorgânica. - Tese. 2. Chumbo x Isótopos. - Tese. 3. Solos x Análise. - Tese. 4. *Trema micrantha*. - Tese. I. Yabe, Maria Josefa dos Santos Yabe . II. Nixdorf, Suzana Lucy Nixdorf. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

LAÍS AKINA NAGAO

**RAZÃO ISOTÓPICA DE Pb EM SOLO E PLANTA (*Trema micrantha*)
PARA SIMULAR O RASTREAMENTO DE DROGA ILÍCITA**

Dissertação para obtenção do título de mestre
do Curso de Mestrado em Química da
Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora Profa. Dra. Maria Josefa dos Santos
Yabe
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Suzana Lucy Nixdorf
Universidade estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. José Marcelo Domingues Torezan
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 16 de março de 2017.

Dedico à minha filha, Louise Yuna
Ito, que está para nascer e ansiosamente
guardo sua chegada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à orientadora Dr.^a Maria Josefa por ter aceitado me orientar e também pelos anos de convivência na qual ela se destacou como uma profissional exemplar.

Agradeço à Universidade Estadual de Londrina e à CAPES pela bolsa concedida.

Agradeço aos membros do LAPA (UEL) pelos ensinamentos, discussões e auxílio.

Agradeço ao LABRE pela ajuda e espaço cedidos.

Agradeço aos meus pais e meu marido pelo incentivo, força e apoio em todos os momentos da minha vida e pelos ensinamentos.

NAGAO, Laís Akina. **Razão isotópica de Pb em solo e planta (*Trema micrantha*) para simular o rastreamento de droga ilícita.** 2017. Dissertação de mestrado (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2017.

RESUMO

A *Trema micrantha* é uma planta bioquimicamente similar à maconha, uma droga amplamente consumida em todo o mundo. O estudo visa estabelecer ligações entre a planta e sua origem com base na razão isotópica de elementos de maneira a simular o rastreamento da droga ilícita *Cannabis sativa*. O chumbo é encontrado no solo e pode oferecer uma assinatura química porque seus isótopos naturais não alteram suas proporções no processo de transferência. Neste trabalho, utilizou-se a Espectrometria de Massas Acoplada a Plasma de argônio Induzido (ICP-MS), devido à alta sensibilidade na quantificação de elementos e na razão isotópica de isótopos estáveis. Amostras de solo de diferentes regiões do Estado do Paraná e a *Trema micrantha* também foram estudadas, desenvolvendo um método para comparar a concentração de elementos típicos e a razão isotópica de chumbo por análise estatística multivariada. Por agrupamento hierárquico na análise estatística multivariada analisando vários elementos não foi possível estabelecer uma conexão da planta com o solo na qual foi cultivada, porém analisando somente os isótopos de chumbo foi possível agrupar melhor algumas plantas com o solo na qual foi cultivada. O método mostrou um potencial para ajudar no rastreamento porém ainda necessita de aprimoramentos.

Palavras-chave: Cannabis. ICP-MS. Razão isotópica. Pb. Solo. *Trema micrantha*.

NAGAO, Laís Akina. **Isotopic ratio of Pb in soil and plant (*Trema micrantha*) to simulate the sourcing of illicit drug**. 2017. Dissertação de mestrado (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2017.

ABSTRACT

Trema micrantha is a biochemically similar plant to marijuana, a drug widely used worldwide. The study aims to establish links between the plant and its origin based on the isotopic ratio of elements in a way to simulate the tracking of the illicit drug *Cannabis sativa*. Lead is found in soil and can offer a chemical signature because their natural isotopes do not change their proportions in the transfer process. In this paper, it was used the Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS), due to its high sensitivity for the quantification of elements and isotope ratio of stable isotopes. Soil samples from different regions of the State of Paraná and *Trema micrantha* plants as well were studied, developing a method to compare the concentration of typical elements and lead isotopic ratio by multivariate statistical analysis. By hierarchical cluster in the multivariate statistical analysis analyzing several elements it was not possible to establish a connection of the plant with the soil in which it was cultivated, but analyzing only the isotopes of lead it was possible cluster better some plants with the soil in which it was cultivated. The method has shown potential to aid in tracking but still needs enhancements.

Keywords: Cannabis. ICP-MS. Isotope ratio. Pb..Soil. *Trema micrantha*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Mapa simplificado de solos do Estado do Paraná	26
Figura 2 –	Rota para coleta de solos de Londrina-Guairá no estado do Paraná	27
Figura 3 –	Rota para coleta de solos de Porecatu-Primeiro de Maio do estado do Paraná	27
Figura 4 –	Cultivo das plantas	32
Figura 5 –	Curva analítica do ^{206}Pb obtido pelo ICP-MS	41
Figura 6 –	Curva analítica do ^{207}Pb obtido pelo ICP-MS	41
Figura 7 –	Curva analítica do ^{208}Pb obtido pelo ICP-MS	42
Figura 8 –	Dispersão das amostras de solo e planta nas componentes principais 1 (41,4%) e 2 (16,2%), explicando 57,6% da variância do conjunto de dados	44
Figura 9 –	Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 2	45
Figura 10 –	Dispersão das amostras de solo e planta nas componentes principais 1(41,4%) e 3(10,6%), explicando 51,7% da variância do conjunto de dados	46
Figura 11 –	Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes Principais 1 e 3	46
Figura 12 –	Diagrama de Pareto para PCs de todos os dados.....	47
Figura 13 –	Dendrograma usando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as variáveis	48
Figura 14 –	Dendrograma usando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras	49
Figura 15 –	Dispersão das amostras de solo e planta para as componentes principais 1(29,8%) e 2(17,8%) - dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb	53
Figura 16 –	Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 2. Dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb	54

Figura 17 –	Dispersão das amostras de solo e planta para as componentes principais 1(29,8%) e 3(13%) - dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	55
Figura 18 –	Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 3 - dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	55
Figura 19 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as variáveis: dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	56
Figura 20 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as amostras: dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	57
Figura 21 –	(a) Dispersão dos dados para as componentes principais 1(44,5%) e 2(16%) da média dos dados. (b) Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 2 da média dos dados.....	61
Figura 22 –	(a) Dispersão das amostras de solo e planta para as componentes principais 1(44,5%) e 3(10,5%) da média dos dados. (b) Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 3 da média dos dados.....	62
Figura 23 –	Diagrama de Pareto para PCs da média dos dados.....	63
Figura 24 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as variáveis da média dos dados.....	64
Figura 25 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as amostras da média dos dados.....	65
Figura 26 –	(a) Dispersão das amostras de solo e planta para as componentes principais 1(39,8%) e 2(22,6%) – média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb. (b) Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 2 – média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	67

Figura 27 –	(a) Dispersão das amostras de solo e planta para as componentes principais 1(39,8%) e 3(17,4%) – média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb. (b) Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 3 – média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	68
Figura 28 –	Diagrama de Pareto para PCs da média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	69
Figura 29 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico –distância reescalada para as variáveis: média de dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	69
Figura 30 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as amostras – média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	70
Figura 31 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 2 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	72
Figura 32 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 3 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	73
Figura 33 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 4 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	74
Figura 34 –	Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 5 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb.....	75

- Figura 35** – Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 7 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb..... 76
- Figura 36** – Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico -distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 12 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb..... 77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Programa de microondas para extração das amostras	33
Tabela 2 –	Condições experimentais – ICP-MS	34
Tabela 3 –	Valores de pH e matéria orgânica das amostras de solo do Paraná analisados nesse trabalho	37
Tabela 4 –	Análise granulométrica dos solos em que foram cultivadas as plantas	38
Tabela 5 –	Composição elementar de metais pela análise de FRX dos solos em que foram cultivadas as plantas	39
Tabela 6 –	Composição mineralógica dos solos em que foram cultivadas as plantas.....	40
Tabela 7 –	Limite de detecção, limite de quantificação em ppb e o desvio padrão relativo em porcentagem do método para o ICP-MS.....	42
Tabela 8 –	Taxa de recuperação em porcentagem do método para o ICP- MS.....	43

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Drogas ilícitas	14
1.2 <i>Cannabis Sativa</i> L.	15
1.3 <i>Trema micrantha</i> L. Blume	16
1.4 Rastreamento	16
1.5 Razão isotópica	17
1.6 Chumbo	18
1.7 A técnica ICP-MS	19
1.8 Análise multivariada	20
1.9 Validação do método	21
1.9.1 Curva analítica	21
1.9.2 Linearidade	22
1.9.3 Precisão	22
1.9.4 Exatidão	22
1.9.5 <i>Limites de detecção (LD) e Limites de quantificação (LQ)</i>	23
1.10 Caracterização do solo	23
2. OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo Geral	25
2.2 Objetivos Específicos	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 Coleta de solos	26
3.2 Análise de caracterização dos solos	29
3.2.1 pH	29
3.2.2 Matéria orgânica (MO)	29
3.2.3 Análise granulométrica	30
3.2.4 Fluorescência de Raio-X	30
3.2.5 Difractometria de Raio-X	31
3.3 Cultivo da planta	31
3.4 Preparo das amostras	32
3.5 Validação do método	35

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Caracterização dos solos.....	36
4.2 Validação do método	40
4.2 Análise estatística multivariada	43
5. CONCLUSÕES	78
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

1. INTRODUÇÃO

1.1. Drogas ilícitas

O aumento crescente da violência tem ligação direta com os grupos que comercializam drogas ilícitas, levando a população a um nível elevado de insegurança. □ Esse setor ilegal, além dos problemas sociais de saúde enfrentados com o abuso de drogas, movimenta em torno de U\$500 bilhões anualmente, causando um impacto negativo social, político e econômico mundial (UNODC, 2014). Devido aos grandes problemas que o Brasil tem enfrentado em razão das drogas de abuso, procura-se não somente evitar a disseminação das mesmas como também encontrar suas origens. Entretanto o rastreamento de drogas tem sido feito de uma maneira pouco confiável, baseado em informações de usuários ou traficantes (SHIBUYA, 2006).

Para auxiliar no controle da disseminação das drogas, métodos de análise convencionais para rastreamento têm sido baseados na determinação e quantificação de substâncias constituintes orgânicas, inorgânicas e de impurezas presentes nas amostras apreendidas (SHIBUYA, 2006; SHIBUYA, 2007; WATLING, 1998; WEST & JANET M., 2009; WEST 2009). No caso de drogas sintéticas, o seu rastreamento pode ser feito com base em certas impurezas que se diferenciam a partir de rotas específicas, reagentes iniciais, produtos intermediários, manuseio e empacotamento inadequado (VERWEIJ, 1989; HUMPHREYS, 1984; DAÉID, 2005). □ No caso de drogas de proveniência vegetal, a quantificação das substâncias orgânicas, elementos inorgânicos e da razão isotópica podem ser utilizados no estabelecimento de relações entre a droga apreendida e o local no qual foi produzida. A droga mais produzida e consumida no mundo é a maconha, estimando-se em 180 milhões o número de usuários em 2012 (UNODC, 2014). Uma pesquisa realizada no Brasil revelou que 6,9% da população afirmaram ter consumido a planta pelo menos uma vez na vida (CARLINI, 2002). No Brasil, a maior produtora da *Cannabis sativa* é a região denominada Polígono da Maconha, que abrange uma vasta região, localizada no entroncamento de quatro estados da federação: Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe. Corresponde a uma ampla área de aproximadamente 40.000 m², metade dela situada em Pernambuco. O número de cidades varia, segundo o órgão que a contabiliza, mas a cifra situa-se entre 20 e 30

municípios. Porém dados indicam que a maconha cultivada no Brasil é insuficiente para abastecer a demanda nacional, sendo praticamente consumida pelo Nordeste brasileiro. Neste sentido, consideráveis proporções da maconha consumida no sudeste e do sul do país provavelmente vem do Paraguai (FRAGA, 2006).

1.2 *Cannabis sativa* L.

A maconha, como droga, é proveniente da planta *Cannabis sativa* L., e é a droga mais popular no mundo (UNODC, 2014). A forma herbácea da droga consiste de flores e folhas maduras das plantas pistiladas femininas por produzirem uma quantidade maior de constituintes psicoativos. A forma resinosa, conhecida como haxixe, consiste fundamentalmente de tricomas glandulares extraídos do mesmo material vegetal. A *Cannabis* tem sido frequentemente consumida por seus efeitos psicoativos e fisiológicos, que podem incluir bom humor, euforia, relaxamento e aumento do apetite. Entre os efeitos colaterais indesejados estão a diminuição da memória de curto prazo, boca seca, dificuldade motora, vermelhidão dos olhos e sentimentos de paranóia ou ansiedade.

Apesar de seu uso ter sido permitido em países como o Uruguai, desde 2013, e EUA, desde 2012, no Brasil ainda é um psicoativo considerado ilegal e controlado pela Polícia Federal. A planta possui como principal constituinte psicoativo o tetrahydrocannabinol (THC), um dos 400 compostos da planta, incluindo outros canabinóides, como canabidiol (CBD), canabinol (CBN) e tetrahydrocannabivarin (THCV), que podem variar devido a: genética da planta, ambiente de crescimento, tempo e condição de armazenamento (SHIBUYA, 2006; FUSAR-POLI, 2009; TURNER, 1980). Além de compostos orgânicos, substâncias inorgânicas também fazem parte de sua composição (SHIBUYA, 2006). Tem-se estudado uma forma de estabelecer relação entre a amostra da droga e seu local de origem baseado no perfil químico ou *fingerprint*, pela determinação de compostos orgânicos, inorgânicos ou no perfil isotópico (SHIBUYA, 2006; WEST, 2009; VERWEIJ, 1989; HUMPHREYS, 1984, DAÉID, 2005, EHLERINGER, 1999). Os compostos orgânicos são difíceis de ser estudados devido à variabilidade genética, ambiente de produção, tempo e condição de armazenamento da planta. Já a razão isotópica de elementos inorgânicos fornece um conhecimento específico sobre o solo no qual foi cultivada e ao contrário de drogas

como heroína e cocaína, a *Cannabis sativa*, ou maconha, não é processada para consumo e mantém seus perfis elementares e isotópicos originais. Assim, esses parâmetros têm sido utilizados como um importante indicador da sua origem geográfica (SHIBUYA, 2006).

1.3 *Trema micrantha* (L.) Blume

Devido à impossibilidade da produção pela ilegalidade do cultivo da *Cannabis sativa*, foi escolhida a *Trema micrantha* (L.) Blume, da mesma família, devido à similaridade bioquímica com a *Cannabis*, para o estudo. A planta escolhida pertence à família Cannabaceae (BANDARRA, 2011; SANCHES, 2005) e é conhecida popularmente como grandiúva, pau-pólvora, crindiúva, corindiba, orindeúva, tamanqueira e periquiteira (VENTURIN, 2000; de AMORIN, 1997). É uma planta perenifólia, mantém suas folhas o ano todo, com até 15 m de altura e 25 cm de DAP (diâmetro à altura do peito). Apresenta folhas simples, alternas. É encontrada em áreas abertas, ocorre em grande parte da América do Sul, sendo também encontrada nas Américas Central e do Norte. No Brasil, está amplamente distribuída em formações florestais e como vegetação secundária em terrenos abandonados (VENTURIN, 2000). É utilizada como espécie pioneira em sistemas de reflorestamento e recuperação de solos degradados (SANCHES, 2005; VENTURIN, 2000; MARGUÍ, 2005). As flores dessa família têm algumas diferenças diagnósticas entre elas, como (monoica ou dioica), mas compartilham algumas condições (perianto único, poucos estames, gineceu pseudo-monômero) que faz com que autores as considerem semelhantes comparadas a outras famílias relacionadas (LEME, 2016).

1.4 Rastreamento

O rastreamento de drogas ilícitas é uma ferramenta útil para estabelecer ligação entre as amostras apreendidas e sua origem geográfica, podendo identificar a rede distribuidor-usuário, monitorar o tempo de operação de uma base de produção da droga, obter informação suficiente para criar uma base de dados nacional e internacional sobre drogas e monitorar a extensão do tráfico, com vistas às fronteiras do país. □No passado

houve tentativas de estabelecer conexões entre as drogas produzidas ilícitamente, com base em descrição física, fazendo uso de exame microscópico da superfície de tabletes de drogas como anfetamina e LSD (GOMM, 1976). No entanto atualmente o perfil de drogas ilícitas baseia-se em uma combinação de técnicas físicas, químicas e estatísticas, para estabelecer conexões entre amostras apreendidas a partir de uma fonte comum (SHIBUYA, 2006; WEST, 2009; VERWEIJ, 1989; HUMPHREYS, 1984; DAÉID, 2005; EHLERINGER, 1999). Técnicas analíticas como a espectrometria de absorção atômica (AAS) e espectrometria de emissão atômica (AES) foram utilizadas para a análise de metais em amostras apreendidas de cocaína (BERMEJO-BARRERA, 1999). A normalização dos valores de concentração permitiu classificar as amostras de acordo com a origem geográfica, fazendo uso de análise estatística multivariada – análise de componentes principais (ACP), análise de agrupamentos hierárquicos (AAH) e análise discriminatória linear (ADL). □ Na mesma linha de investigação, fizeram uso da espectrometria de massas acoplada a plasma de argônio induzido (ICP-MS) para identificar e quantificar metais presentes em amostras de drogas, mas não foi apresentado um tratamento estatístico que permitisse estabelecer relações droga-origem (SUZUKI, 1988). Estudou-se também o perfil da composição de elementos da planta, criando-se uma base de dados com 1400 amostras de maconha, o que permitiu comparar a droga apreendida com a do sistema de dados (WATLING, 1998).

Devido aos tecidos vegetais terem a capacidade de absorver elementos do ar e do solo no qual cresceram e conservar as razões dos isótopos estáveis, o estudo da razão isotópica possui potencial para obter informações sobre sua origem geográfica e cultivo das amostras da planta (WEST, 2009; HURLEY, 2010). No entanto, há pouca informação disponível na literatura com relação ao rastreamento de drogas ilícitas a partir de razão isotópica.

1.5 Razão isotópica

A análise por razão isotópica em níveis de abundância naturais têm se mostrado útil em muitos estudos de rastreamento ambiental, abrangendo áreas como rastreamento de rotas de migração dos animais, determinando as origens geográficas de linho, e de abastecimento de marfim de elefante (EHLERINGER, 1999). Os elementos são absorvidos por plantas com as mesmas proporções isotópicas nas quais ocorrem nos

solos e na precipitação. Portanto, as proporções de abundância de isótopos são excelentes indicadores de proveniência ou rastreadores na biosfera (ALMEIDA, 2001). A abundância isotópica de elementos leves como carbono (^{13}C) e nitrogênio (^{15}N) tem sido explorada na diferenciação de efeitos ambientais e classificação de drogas como heroína (EHLERINGER, 1999; BESACIER, 1997; FLANAGRAN, 1999) e maconha (SHIBUYA, 2006, SHIBUYA, 2007; WEST & JANET M., 2009; WEST, 2009). Valores da razão isotópica (^{13}C) têm permitido discriminar amostras apreendidas. A razão isotópica utilizada para o caso de C e N é interessante porque reflete as condições climáticas e pode delimitar as fontes geográficas em potencial (SHIBUYA, 2006). No entanto, delimitar apenas a região climática na qual a planta foi cultivada pode não ser muito eficaz para seu rastreamento, devido à grande extensão do país. Os diferentes tipos de regime de crescimento (com sol ou sombra, local aberto ou fechado) podem afetar a razão isotópica do carbono e o uso de fertilizantes pode afetar a razão isotópica do nitrogênio (HURLEY, 2010). Um estudo da razão isotópica de ^2H focou a origem da fonte de água utilizada no cultivo da mesma. Porém, os resultados não foram satisfatórios, necessitando de informações adicionais sobre as origens prováveis para ser mais preciso (HURLEY, 2010). Foi estudada também na *Cannabis sativa L.* a razão isotópica de estrôncio, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, que varia de acordo com a mineralogia do solo. No entanto, interferentes como deposição atmosférica, processo de formação de complexos no solo e adição de fertilizantes podem ocultar a razão isotópica do solo de origem (WEST, 2009).

Elementos inorgânicos como Si, K e Fe, abundantes na natureza são de pouca utilidade na discriminação de amostras. Já o Pb pode ser mais útil no rastreamento devido ao maior número de isótopos estáveis presentes no ambiente e, com base no perfil de impurezas inorgânicas do solo associado à análise estatística adequada, pode estabelecer uma conexão em potencial entre a amostra e o local de produção.

1.6 Chumbo

O chumbo é um constituinte natural da crosta terrestre e é comumente encontrado em solos, plantas e na água em quantidades traço. É considerado um metal pesado tóxico, que pode entrar no organismo humano por inalação ou ingestão de

diversas fontes, afetando principalmente o sistema nervoso. Devido ao seu uso como aditivo da gasolina na década de 70, surgiu uma das maiores fontes de contaminação ambiental, o que levou à proibição de seu uso para este fim a partir da década de 80 (CHENG, 2010). A combinação de características únicas e mensuráveis dos isótopos de Pb, que são preservadas durante os processos de degradação e transporte envolvidos no ambiente, oferece uma ferramenta poderosa na investigação da denominada assinatura química, que está baseada no princípio de que o Pb tem quatro isótopos de ocorrência natural: ^{204}Pb (1%), ^{206}Pb (24%), ^{207}Pb (23%) e ^{208}Pb (52%) (LI, 2012; TOWNSEND, 2012).

A razão isotópica de chumbo foi estudada para determinar a fonte da poluição ambiental do metal e aplicada com sucesso em diferentes matrizes (CHENG, 2009). A análise da razão de isótopos de chumbo provou ser uma ferramenta poderosa para avaliação de Pb e determinação de proveniência, com muitos estudos usando sedimentos como o arquivo histórico de contaminação por Pb (TOWNSEND, 2012). Sendo assim é possível que a razão isotópica varie somente de acordo com sua fonte geológica e a composição isotópica medida nas amostras, refletindo aquela da fonte de Pb. Este comportamento faz da razão isotópica uma excelente ferramenta para a determinação da assinatura química.

1.7 A técnica ICP-MS

A espectrometria de massas acoplada a plasma de argônio induzido, ICP-MS, oferece a possibilidade de análise simultânea de vários elementos químicos em concentração inferior a $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de forma rápida e permite a determinação de elementos químicos, em diversas matrizes, em uma ampla faixa de concentração. Possibilita alta rapidez de análise, capacidade multielementar e limites de detecção menores que outras técnicas analíticas, além de proporcionar exatidão e precisão, tornando a técnica altamente atrativa (NUNES, 2009). Por isso a técnica tem sido muito usada devido à sua elevada sensibilidade na quantificação de elementos químicos e da razão de isótopos estáveis (DAÉID, 2005; BIEVRE, 1978; HURLEY, 2010). A variação natural das razões isotópicas de Pb permite a medição por ICP-MS, que oferece precisão na ordem de 0,04-0,5% (dependendo do tipo de instrumento, configuração, etc.), sendo suficiente

para a discriminação da fonte em muitas situações ambientais (TOWNSEND, 2012). As condições de crescimento da planta, como o clima e a disponibilidade de elementos provenientes do solo de cultivo, estão associadas à composição da planta.

1.8 Análise multivariada

Em um experimento químico, extrair informações dos resultados requer a análise de grande número de variáveis. Para sistemas bioquímicos, não são recomendados os modelos estatísticos clássicos pois não consideram suas particularidades próprias de cada manejo e o efeito conjunto de inúmeros fatores comprometendo, interpretações e conclusões, por não ser explorada a existência ou não da dependência entre as variáveis analisadas (VALENTIN, 2000). A análise estatística multivariada surgiu como importante ferramenta de obtenção de quantidade maior de informação, que dificilmente seria gerada com o uso de métodos univariados (BEEBE, 1998; da SILVA, 2008), e permite detectar e descrever padrões, e formular hipóteses baseadas nos numerosos fatores que interferem sobre as características (VALENTIN, 2000).

Assim, a análise estatística multivariada dos resultados de concentração de elementos inorgânicos e razão isotópica de Pb do solo de diversas regiões do país, e na medida da possibilidade de países vizinhos, permite definir um mapa do ponto de vista qualitativo e quantitativo, com o objetivo de especificar sua origem geográfica, pelo fato de que cada solo possui uma composição isotópica de Pb distinta. Para obter os melhores resultados, as proporções isotópicas de Pb devem ser usadas em conjunto com outros dados, tais como as concentrações e outras composições elementares, e assistida com ferramentas tais como análise geoespacial.

As características dos dados aplicando o método de reconhecimento de padrões e de análise de componentes principais podem ser relacionadas fazendo uso o programa MatLab R2010[®] e SPSS. Esse método realiza combinações lineares das variáveis originais para gerar novas variáveis, chamadas de componentes principais (PC). Essas são utilizadas para analisar os dados em forma de projeção geométrica ou representação. Em uma análise de componentes principais, o agrupamento das amostras define a estrutura dos dados através de gráficos de *scores* e *loadings*, cujos eixos são componentes principais nos quais os dados são projetados. Os *scores* fornecem a

composição das PCs em relação às amostras, enquanto os *loadings* fornecem essa mesma composição em relação às variáveis. Como as PCs são ortogonais, é possível examinar as relações entre amostras e variáveis pelos gráficos dos *scores* e dos *loadings*. O estudo conjunto de *scores* e *loadings* ainda permite estimar a influência de cada variável em cada amostra (FERREIRA, 2002).

A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) é um processo hierárquico no qual, em que cada passo a matriz de dados é reduzida em uma dimensão, pela reunião de pares semelhantes, até a reunião de todos os pontos em um único grupo. O objetivo da HCA é exibir os dados em um espaço bidimensional de maneira a enfatizar os seus agrupamentos e padrões naturais. A distância entre os pontos (amostras ou variáveis) reflete a similaridade de suas propriedades. Portanto, quanto mais próximos estiverem os pontos no espaço amostral, mais similares eles serão. Os resultados são apresentados na forma de dendrogramas, os quais agrupam amostras ou variáveis em função da similaridade. A distância euclidiana e a técnica de conexão baseada na distância do vizinho mais próximo são as metodologias mais utilizadas para o cálculo da similaridade (FERREIRA, 2002).

1.9 Validação do método

A validação de um método deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados e demonstrar que é apropriado para a finalidade pretendida: a determinação qualitativa, semiquantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias (Resolução RE nº 899 ANVISA). São conhecidos como parâmetros de desempenho analítico, características de desempenho e, algumas vezes, como figuras analíticas de mérito seletividade; linearidade; precisão; exatidão; limite de detecção; limite de quantificação e robustez (RIBANI, 2004).

1.9.1 Curva analítica

A técnica de ICP-MS requer a construção de curvas analíticas, utilizadas como referência para converter as intensidades registradas nas análises quantitativas em concentrações dos respectivos elementos. A calibração do ICP-MS exige soluções de referência e curvas para todos os elementos em quantificação. A partir da construção

das curvas de calibração é verificada a linearidade do método.

1.9.2 Linearidade

A linearidade é a capacidade do método analítico de demonstrar que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser $= 0,99$ (RIBANI, 2004).

1.9.3 Precisão

A precisão é a avaliação da proximidade entre si dos resultados em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Repetibilidade (precisão intracorrída) indica a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação (RIBANI, 2004). A precisão indica o grau de concordância entre os diversos resultados experimentais em condições de repetibilidade (NUNES, 2009).

Na prática, em validação de métodos, se avalia a precisão como a estimativa do desvio padrão absoluto, através do intervalo de confiança da média, que é uma faixa de valores no qual existe uma determinada probabilidade de encontrar um certo valor de uma variável, ou através da estimativa do desvio padrão relativo (DPR) (RIBANI, 2004).

1.9.4 Exatidão

Representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. É importante observar que um valor exato ou verdadeiro é o valor obtido por uma medição perfeita e este valor é indeterminado por natureza.

A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança. Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode variar de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ (RIBANI, 2004).

Os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são:

materiais de referência; comparação de métodos; ensaios de recuperação; adição padrão.

1.9.5 Limites de detecção (LD) e Limites de quantificação (LQ)

Além da precisão e exatidão dos métodos é interessante determinar também os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) definidos, respectivamente, pela International Union of Pure Applied Chemistry (IUPAC) como a menor concentração elementar mensurável com confiabilidade em um determinado método (NUNES, 2009). O limite de detecção é calculado como 3 vezes o desvio padrão de 10 replicatas do branco dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração do referido analito. O limite de quantificação é calculado como 10 vezes o desvio padrão de 10 replicatas do branco dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração.

1.10 Caracterização do solo

A caracterização do solo consiste em análises para determinar suas propriedades físico-químicas, dentre elas pH, granulometria, matéria orgânica, composição química, determinação mineralógica e concentração de metais.

A matéria orgânica do solo é componente importante para o ecossistema terrestre e sua variação tem um efeito importante em vários processos que ocorrem no sistema. Ela representa a quantidade de material orgânico, de origem animal ou vegetal, que está depositada no solo.

A análise granulométrica, dispersão total, consiste na determinação das dimensões das partículas que constituem a amostra.

A composição química pode ser determinada por fluorescência de raios X (FRX), que é uma método de determinação preciso, rápido e não destrutivo. O FRX é quali-quantitativo e é baseado na medida das intensidades dos raios X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra; o número de raios X detectados por unidade de tempo. Deste modo, os raios emitidos pelos tubos de raios X excitam os elementos que estão na amostra. Estes, por sua vez, emitem linhas com espectros específicos e com energias características do elemento, cujas intensidades estão relacionadas com a concentração do elemento na amostra.

Desta forma, quando um elemento de uma amostra é excitado, há uma tendência à liberação de elétrons do interior dos níveis dos átomos, e como consequência, os

elétrons dos níveis mais afastados realizam um salto quântico para preencher a vacância. Assim, cada transição eletrônica constitui uma perda de energia para o elétron, que é emitida na forma de um fóton de raios X, de energia característica e bem definida para cada elemento (NASCIMENTO, 1999). Para a determinação mineralógica pode ser utilizada a técnica de Difratoimetria de Raios X (DRX) a fim de se identificar os principais tipos de minerais presentes nos solos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Comparar a razão isotópica de Pb entre *Trema micrantha* e solos de forma a simular o rastreamento da droga ilícita *Cannabis*.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Desenvolver um método de análise de elementos inorgânicos e razão isotópica de Pb em plantas e solos;
- ✓ Criar uma base de dados para definir a assinatura química dos solos estudados;
- ✓ Compor um modelo estatístico para estabelecer a relação entre a planta e o solo de origem, de forma a permitir seu rastreamento.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta dos Solos

Foram coletadas amostras de solo em doze pontos ao longo das rotas Londrina-Guaíra e Porecatu-Primeiro de Maio, com base na qualidade do solo, de forma a abranger a maior variedade de solos (Figura 1). Os locais amostrados estão localizados nas Figuras 2 e 3.

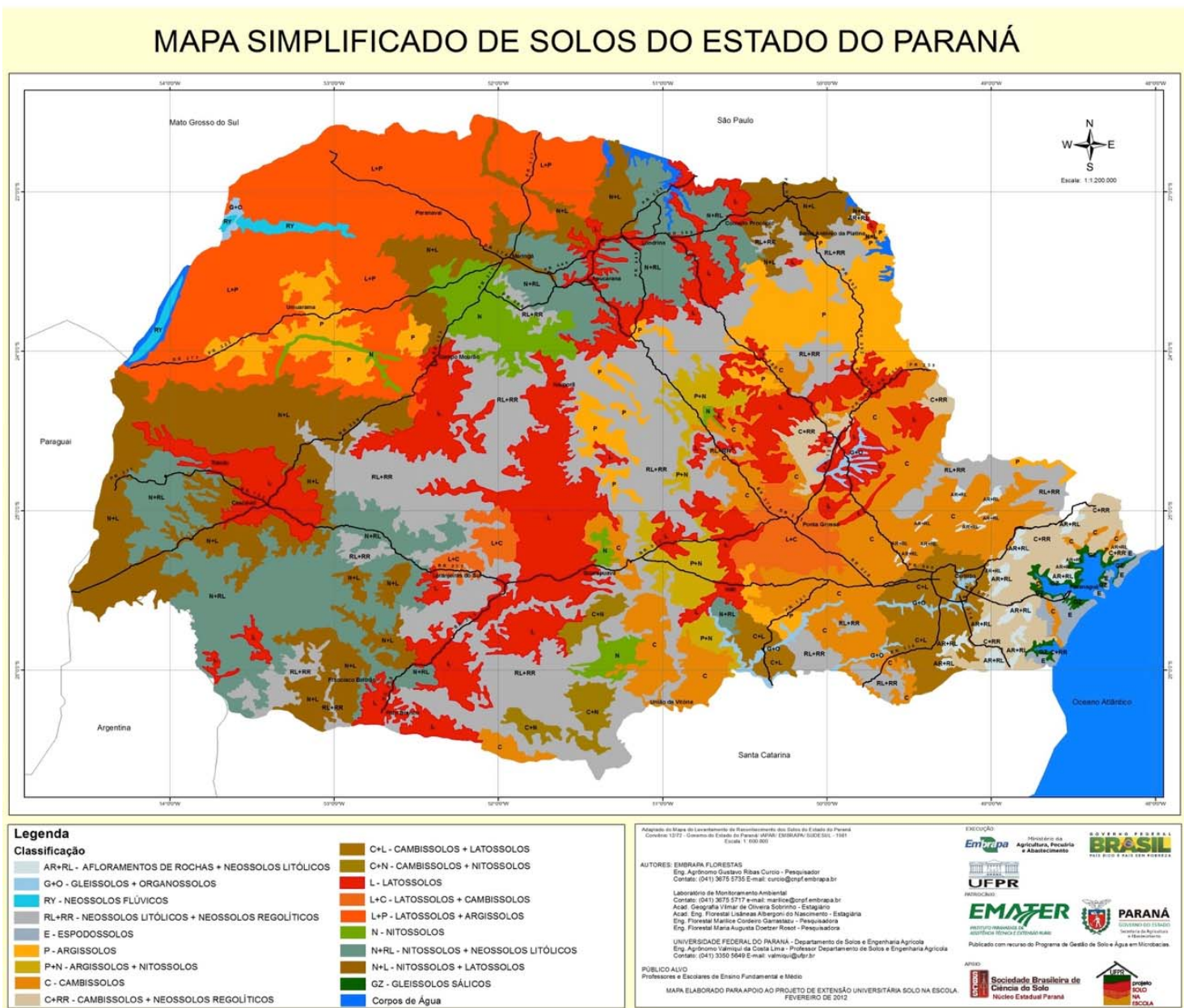


Figura 1. Mapa simplificado de solos do Estado do Paraná (Governo do Estado do Paraná/IAPAR/EMBRAPA/SUDESUL, 1981)

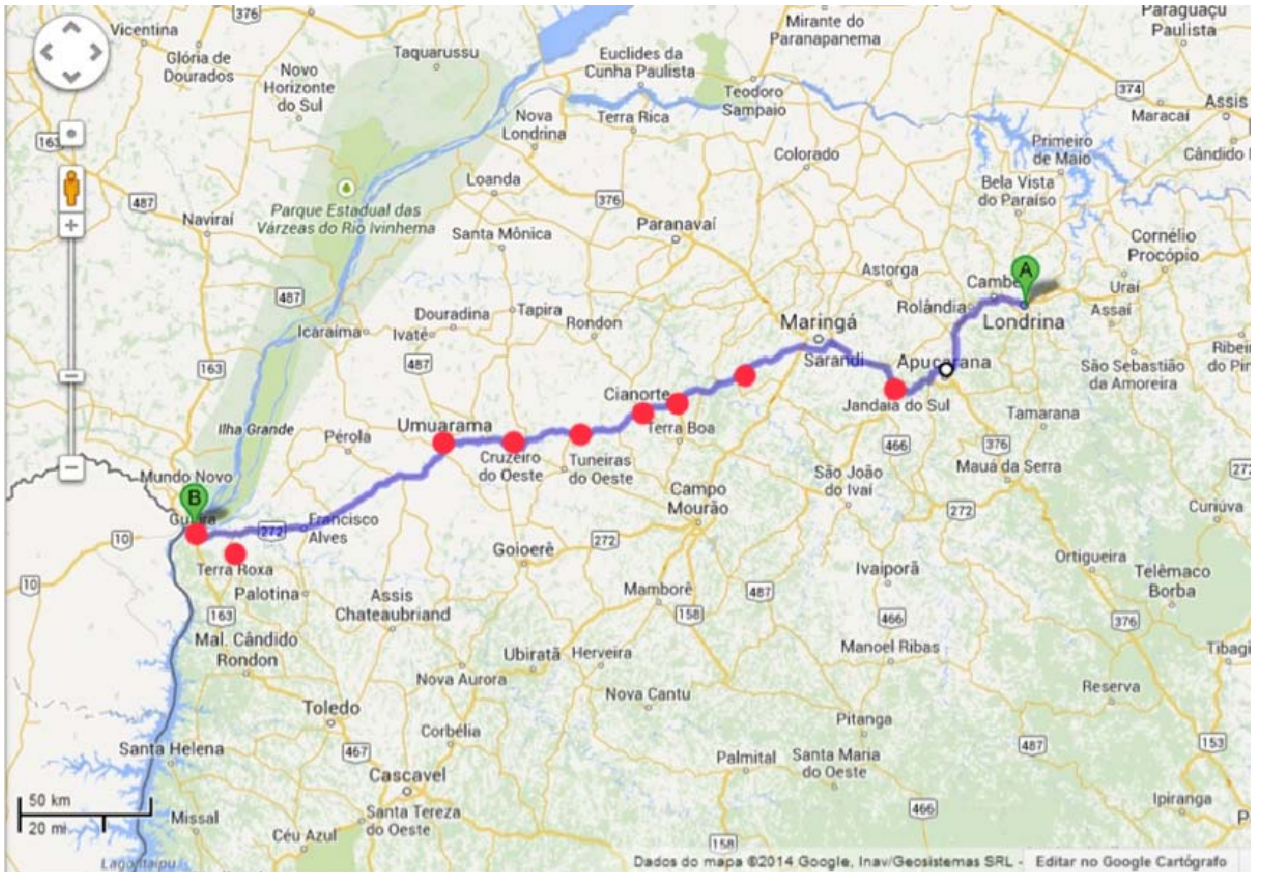


Figura 2. Rota para coleta de solos de Londrina-Guaira no estado do Paraná

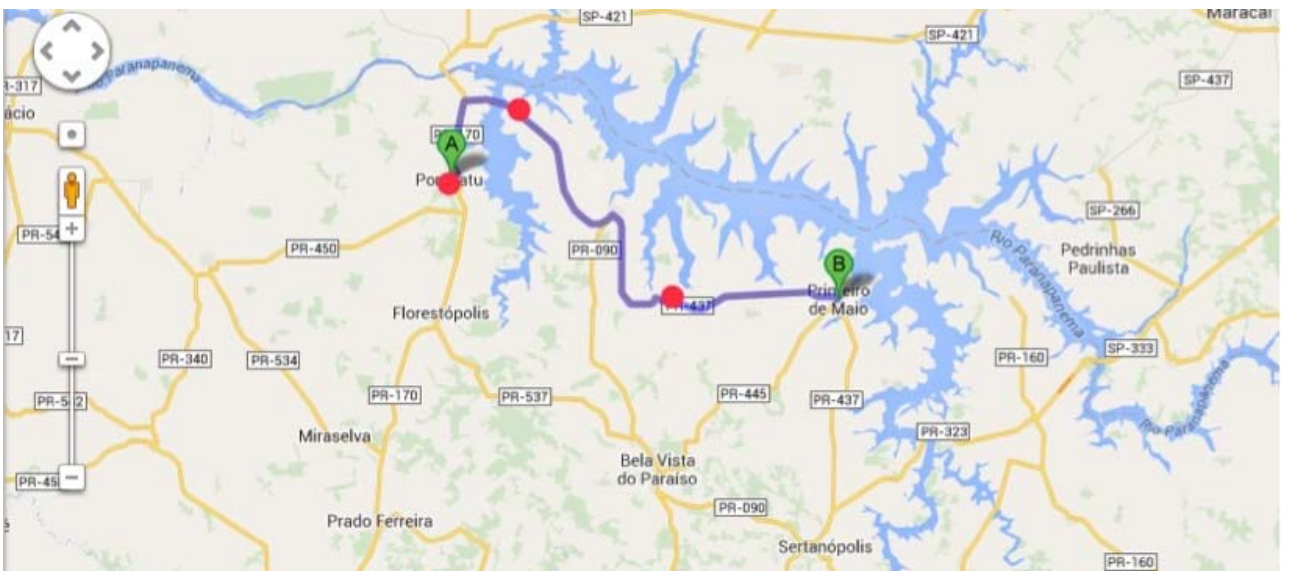


Figura 3. Rota para coleta de solos de Porecatu-Primeiro de Maio do estado do Paraná

Os pontos de coleta têm as respectivas coordenadas geográficas:

Ponto 1 – Jandaia do Sul, 23°35'04"S e 51°37'32"O

Ponto 2 – Doutor Camargo, 23°34'6"S e 52°13'2"O

Ponto 3 – Jussara, 23°36'58"S e 52°28'33"O

Ponto 4 – Cianorte, 23°39'45"S e 52°34'30"O

Ponto 5 – Tapejara (Canavial), 23°44'52"S e 52°49'27"O

Ponto 6 – Cruzeiro do Oeste (Campo), 23°46'13"S e 53°3'55"O

Ponto 7 – Umuarama, 23°46'8"S e 53°19'58"O

Ponto 8 – Guaira, 24°4'31"S e 54°15'11"O

Ponto 9 – Estrada entre Guaira e Terra Roxa (PR-496), 24°5'18"S e 54°5'31"O

Ponto 10 – Porecatu, 22°45'23"S e 51°22'16"O

Ponto 11 – Esperança do Norte, 22°41'39"S e 51°19'15"O

Ponto 12 – Estrada entre Alvorada do Sul e Primeiro de Maio (PR-437), 22°51'14"S e 51°10'37"O

Estes pontos de coleta foram escolhidos de acordo com a variação visual do tipo de solo encontrado. As amostras foram coletadas com trado e acondicionadas em sacos plásticos, após identificação. Todas as amostras foram coletadas no mesmo dia, com clima estável e temperatura de aproximadamente 25°C. As amostras foram acondicionadas em local arejado e sem interferência de luz.

Todas as vidrarias e materiais plásticos utilizados para manuseamento e armazenamento das amostras foram lavados e imersos em solução diluída de HNO₃ (10% v/v) para evitar contaminação (ALMEIDA, 2001; GALUNIN, 2014; FLORIAN, 1998; Resolução RE n° 899 ANVISA) Em seguida foram enxaguados com água ultrapura Milli-Q (Milipore, EUA).

3.2 Análise de caracterização dos solos

As amostras utilizadas para as análises físico-químicas foram previamente secas ao ar e peneiradas em malha de 2 mm.

3.2.1 pH

As medições da concentração efetiva dos íons H^+ das amostras de solo foram realizadas em um potenciômetro MA PA 200 (Marconi) de eletrodo de vidro combinado (Micronal), previamente calibrado com tampões de pH 4,0 e 7,0 e imerso em suspensão de solo:líquido na proporção de 1:2,5 de água ultrapura, cloreto de potássio (KCl) $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ e cloreto de cálcio ($CaCl_2$) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, separadamente (EMBRAPA, 2011). As análises foram realizadas em duplicata.

3.2.2 Matéria orgânica (MO)

Para quantificar a matéria orgânica utilizou-se a via úmida com dicromato de potássio em meio sulfúrico, empregando-se como fonte de energia o calor desprendido do ácido sulfúrico, seguindo o método de Walkey-Black, conhecido como método do dicromato, em que se obtém a quantidade total de carbono. A partir desse valor calcula-se a quantidade da matéria orgânica contida. Foi feita a análise em triplicata. Foram adicionados 10,0 mL da $K_2Cr_2O_7$ $0,0667 \text{ mol L}^{-1}$ e 10,0 mL de H_2SO_4 concentrado a 0,5 g de solo previamente seco, homogeneizado e peneirado em 2,00 mm, em um erlenmeyer de 250 mL. Após repouso de 30 minutos, foram adicionados 50 mL de água destilada e 0,5 mL do indicador (difenilamina 1% em H_2SO_4). O excesso de dicromato foi titulado com solução $FeSO_4$ 1,0 N até a solução tornar-se verde. A prova em branco foi feita com 10,0 mL de da solução de dicromato de potássio apenas, seguindo o mesmo procedimento (PAVAN, 1992). O cálculo da quantidade de carbono total (%C) foi feito a partir da Equação (1). A porcentagem de matéria orgânica (%MO) é calculada multiplicando-se o resultado do carbono orgânico (%C) por 1,724. Este fator é utilizado em virtude de se admitir que, na composição média do húmus, o carbono participa com 58% (EMBRAPA, 2011).

$$\%C = \frac{V_1 - V_2}{x} \times f \times 0,3896 \quad (1)$$

na qual, V_1 é o volume de FeSO_4 1,0 N em mL gasto na amostra, V_2 é o volume de FeSO_4 1,0 N em mL gasto na prova em branco, f é o fator de correção da solução de FeSO_4 1,0 N, sendo 0,97 e o valor 0,3896 é obtido da relação $\frac{0,3896}{0,97 \cdot 0,77}$, sendo 0,30 é o equivalente grama de C em 100 g, e 0,77 é a eficiência do método (77%).

3.2.3 Análise granulométrica

Foi realizada no Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR) de Londrina, aplicando o método da pipeta. Foram colocados 20 g de solo em um recipiente de 250 mL, adicionados 100 mL H_2O e 10 mL de solução NaOH 1,0 N, tamponado com carbonato de sódio. A solução foi agitada com bastão de vidro e deixada em repouso durante uma noite. O conteúdo foi transferido para recipiente metálico do agitador elétrico *stirrer* com o auxílio de um jato d'água, deixando o volume em torno de 300 mL, agitado durante 15 minutos e peneirado em malha de 0,053 mm (número 270), transferido para uma proveta de 1000 mL. O material retido na peneira foi lavado com água e o volume da proveta foi completado até o aferimento. A suspensão foi agitada durante 20 segundos com um bastão, tendo este, na sua extremidade inferior, uma tampa de borracha contendo vários furos e de diâmetro um pouco menor do que o da proveta. Após concluir a agitação, a suspensão foi deixada em repouso por tempo suficiente para a sedimentação da argila em 5,0 cm de profundidade. Em seguida a suspensão foi coletada, transferida para uma cápsula de porcelana e deixada na estufa até evaporar completamente, colocada em dessecador e pesada. A lavagem da areia retida na peneira de 0,053 mm foi completada com jato forte d'água, transferida para um recipiente de peso conhecido e colocada em estufa. Após secagem (3 a 5 h) e esfriamento, o material foi pesado, obtendo-se assim o peso da areia. O teor de silte foi calculado por diferença (EMBRAPA, 2011).

3.2.4 Fluorescência de Raios X

Para a determinação da composição química dos solos utilizou-se a técnica de FRX realizada no Laboratório de Apoio à Pesquisa Agropecuária (LAPA), localizado na Universidade Estadual de Londrina. As análises de FRX foram realizadas em um espectrômetro de fluorescência de raios X por energia dispersiva da marca Shimadzu, modelo EDX-720, que possui um tubo gerador de raios X de Ródio. Para a realização da análise foi colocada a amostra de solo em um porta-amostra e levada ao

equipamento, utilizando como atmosfera o ar e o tempo de contagem de 100 s.

3.2.5 Difractometria de Raios X

As análises de DRX foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios-X (LARX), localizado na Universidade Estadual de Londrina, em um difratômetro de raios X (PANalytical modelo X'Pert PRO MPD), com radiação $\text{CuK}\alpha$, técnica θ - 2θ , tensão 40 kV, corrente 30 mA, intervalo de varredura 2 a 80° com passo angular de $0,030^\circ$ e tempo de contagem 2 s.

3.3 Cultivo da planta

Devido à ilegalidade do cultivo da *Cannabis sativa*, foi escolhida a *Trema micrantha* (L.) Blume, planta similar do ponto de vista bioquímico e da mesma família, para o estudo. O cultivo das plantas foi feito no viveiro LABRE (Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas), localizado na Universidade Estadual de Londrina, no período de novembro de 2014 a junho de 2015. O plantio se deu em vasos plásticos para cada um dos 12 locais de solos, como pode ser observado na Figura 4. O experimento foi feito em triplicata, totalizando 36 experimentos, sendo que cada vaso continha cinco mudas da planta. No viveiro, permaneceram ao ar livre, recebendo luz natural, água da chuva e irrigação periódica e a manutenção foi feita mensalmente para retirada manualmente de outros tipos de vegetação fora do objetivo que cresciam nos vasos.



Figura 4. Cultivo das plantas

3.4 Preparo das amostras

As plantas foram separadas dos solos, lavadas com água destilada e colocadas para secar em estufa a 60°C por pelo menos 72 horas. Após a secagem foram homogeneizadas em gral de porcelana. A digestão ácida foi assistida por radiação microondas, pois tem se mostrado o método mais eficiente para matrizes complexas como solo e permite boas recuperações para elementos voláteis, além de ser um método mais rápido, confiável e conveniente para a análise de metais traço (BETTINELLI, 2000; FLORIAN, 1998). Portanto, a digestão ácida foi feita em triplicata para cada vaso com 100 mg da planta, 9,0 mL de HNO₃ concentrado ultrapuro e 1,0 mL de H₂O₂ (MARGUÍ, 2005), assistida por radiação microondas Milestone (High Performance Microwave Digestion – Ethos One) e de acordo com os parâmetros descritos na Tabela 1. O branco para a planta foi feito com 9,0 mL de HNO₃ concentrado ultrapuro e 1,0 mL de H₂O₂ nas mesmas condições no microondas.

O material digerido foi filtrado em papel filtro e o volume aferido com água

ultrapura até 50 mL em balão volumétrico e filtrado novamente em membrana de acetato de celulose (0,22 µm, Sartorius Stedim Biotech, Alemanha) para análise por ICP-MS (Varian 820MS) e FAAS (Varian AA140).

Tabela 1. Programa de microondas para extração das amostras

Passo	Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
1	6	1200	até 80
2	4	1200	80
3	6	1200	até 120
4	4	1200	120
5	10	1200	até 210
6	10	1200	210

A obtenção dos dados foi feita pelo software ICP-MS Expert, versão v2.0 b87 da VARIAN[®]. As condições experimentais durante análises no ICP-MS seguem na Tabela 2.

Tabela 2. Condições experimentais – ICP-MS

Potência de radio frequência (W)	1400
Modo scan	Peak hopping
Fluxo do plasma (L min ⁻¹ de Argônio)	17,0
Vazão do gás nebulizador (L min ⁻¹)	0,21
Replicatas de varredura	5
tempo (ms)	169
Replicatas de análise	5
tempo (s)	0,85
Temperatura ambiente (°C)	20
	¹¹⁴ Cd
	⁵² Cr
	⁶⁵ Cu
	⁵⁹ Co
	⁵⁵ Mn
Isótopos	⁶⁰ Ni
	²⁰⁴ Pb
	²⁰⁶ Pb
	²⁰⁷ Pb
	²⁰⁸ Pb
	⁶⁶ Zn

Os solos foram retirados dos vasos e levados para secar em estufa a 60°C por pelo menos 72 horas. Foram moídos em gral de cerâmica e pistilo e peneirados com peneira granulométrica de 2,00 mm. A digestão ácida foi feita em triplicata para cada vaso com 250 mg de solo, 5,0 mL de HNO₃ concentrado ultrapuro e 5,0 mL de água ultrapura (MARGUÍ, 2005), assistida por radiação microondas, sendo os mesmos parâmetros utilizados para as amostras de planta. O branco para o solo foi feito com 5,0 mL de HNO₃ concentrado ultrapuro e 5,0 mL de água ultrapura e nas mesmas condições no microondas.

As amostras digeridas foram filtradas em papel filtro e o volume aferido com água ultrapura até 50 mL em balão volumétrico e filtrado novamente em membrana de acetato de celulose (0,22 µm, Sartorius Stedim Biotech, Alemanha) para análise por

ICP-MS e FAAS quando não foi possível analisar no ICP-MS.

Foram nominadas as amostras de acordo com o tipo, S ou P, para solo ou planta, respectivamente, local de coleta do solo, de 1 a 12, número da replicata do plantio em vaso, de 1 a 3, e número da replicata para cada vaso, de 1 a 3. Os brancos foram nominados apenas com B e o número da duplicata.

3.5 Validação do método

O método foi validado considerando as seguintes figuras de mérito: a linearidade foi verificada através das curvas analíticas de calibração foram construídas com 7 pontos (1,0; 5,0; 10; 25; 50; 75 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ do analito), e preparadas por diferentes diluições da solução estoque. A precisão foi calculada através da estimativa do desvio padrão relativo (DPR). A exatidão foi avaliada por ensaio de recuperação, que reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra. O limite de detecção foi calculado como 3 vezes o desvio padrão de 10 replicatas do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica do referido analito.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos solos

O pH e a MO das amostras dos solos podem ser observados na Tabela 3. Nota-se que os valores de pH em solução de CaCl_2 em alguns casos foram um pouco maiores do que os outros dois. Esse fato pode ser explicado porque a solução diminui o efeito sazonal de sais que interferem nas medidas de pH do solo devido ao aumento de concentração eletrolítica, o que proporcionaria uma diminuição em seu valor, atribuída ao deslocamento de H^+ e Al^{3+} das partículas do solo (SILVA, 2009).

A quantidade de MO variou de 0,22 a 3,56%, demonstrando uma boa faixa de variabilidade para a construção do modelo estatístico sobre a procedência das amostras.

Tabela 3. Valores de pH e matéria orgânica das amostras de solo do Paraná analisados nesse trabalho

Amostra	pH			MO (%)
	H ₂ O	KCl	CaCl ₂	
1	5,88	6,01	6,36	3,56
2	4,43	4,90	5,85	2,61
3	6,03	5,61	5,47	2,08
4	4,26	4,83	4,43	1,22
5	4,35	4,76	5,72	1,04
6	6,41	7,04	7,26	0,43
7	5,63	6,93	7,27	0,22
8	5,25	5,14	6,30	0,78
9	4,94	5,78	6,30	1,09
10	6,95	6,26	6,78	2,13
11	5,62	4,78	5,26	2,39
12	5,08	5,46	6,26	2,65

A determinação granulométrica permitiu a quantificação das frações argila, silte e areia contida em cada uma das amostras, descrita na Tabela 4. Em 7 amostras a fração predominante foi areia e em 5 foi a fração argila, o que resulta em solos com características diferentes para a produção de plantas.

Tabela 4. Análise granulométrica dos solos em que foram cultivadas as plantas

Amostra	Argila	Silte (%)	Areia
1	71	18	11
2	13	2	85
3	7	2	91
4	16	3	80
5	4	1	95
6	10	1	88
7	67	17	16
8	55	16	29
9	6	3	91
10	33	26	41
11	57	7	36
12	68	13	19

Os resultados do FRX observados na Tabela 5, apresentam os componentes com concentrações mais expressivas. O elemento que mais se destacou foi o Ferro em todas as amostras, e os elementos não descritos ou com baixa porcentagem (abaixo de 1%) foram apresentados em conjunto como *outros*.

Tabela 5. Composição elementar de metais pela análise de FRX dos solos em que foram cultivadas as plantas

Amostra	Fe	Al	Si	Ti	Ba	S	K	Ca	Outros
					(%)				
1	77,7	10,7	5,4	2,6	1,9	0,26	-	0,23	1,21
2	61,9	17,8	12,0	3,3	1,8	0,65	-	-	2,55
3	57,1	19,1	13,9	3,3	1,5	0,32	0,81	1,78	2,19
4	63,3	16,7	10,7	4,5	2,1	0,85	-	-	1,85
5	67,4	13,8	9,1	3,0	2,3	1,3	0,55	0,43	2,12
6	60,4	16,0	12,3	2,7	1,2	6,0	-	-	1,4
7	75,4	10,5	6,0	1,9	1,8	0,79	0,15	0,72	2,74
8	82,3	4,5	6,5	3,0	2,1	0,39	-	-	1,21
9	60,7	11,1	13,1	2,6	1,4	6,8	1,7	1,3	1,3
10	70,5	10,8	6,7	2,7	1,6	2,3	0,25	1,8	3,35
11	73,3	12,5	6,9	4,0	2,1	0,57	-	-	0,63
12	75,1	11,4	6,8	1,8	1,5	0,93	-	-	3,4

- Resultados abaixo do limite de detecção da técnica.

Com base na composição elementar determinada por FRX, utilizou-se o programa Xpert HighScore Plus 2.0A, da base de dados de 2004 para interpretação do DRX, como pode ser observado na Tabela 6. A maioria dos solos apresentou caulinita e hematita, mas também foi encontrado quartzo, montmorilonita, Ba₂Si e gibbsita.

Tabela 6. Composição mineralógica dos solos em que foram cultivadas as plantas

Amostra	Composição mineralógica
1	Caulinita e hematita
2	Caulinita e hematita
3	Caulinita, hematita e quartzo
4	Caulinita, hematita e montmorilonita
5	Caulinita, hematita e Ba ₂ Si
6	Caulinita, hematita e gibbsita
7	Caulinita e hematita
8	Caulinita e hematita
9	Caulinita e hematita
10	Caulinita e hematita
11	Caulinita e hematita
12	Caulinita e hematita

4.2 Validação do método

Para a validação do método foram construídas as curvas analíticas para os dados obtidos por ICP-MS. Nas Figuras 5, 6 e 7 são apresentadas as curvas de calibração dos isótopos de ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb e ²⁰⁸Pb, respectivamente.

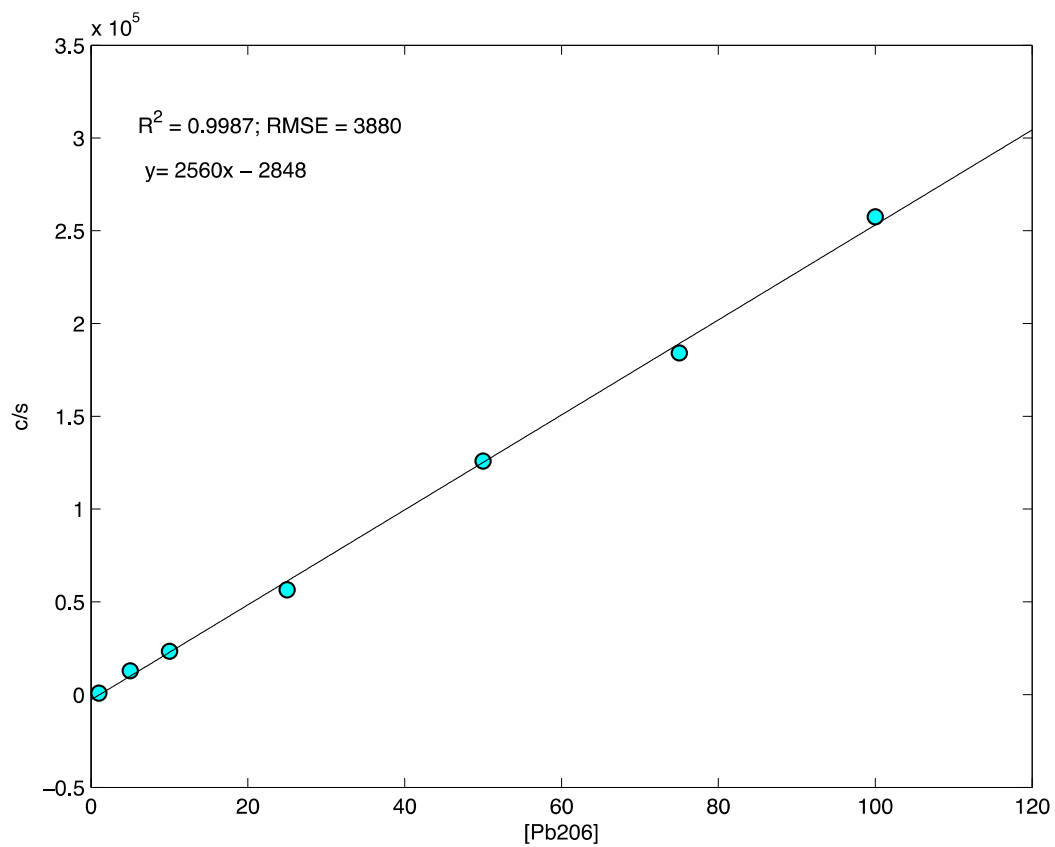


Figura 5. Curva analítica do ^{206}Pb obtido pelo ICP-MS

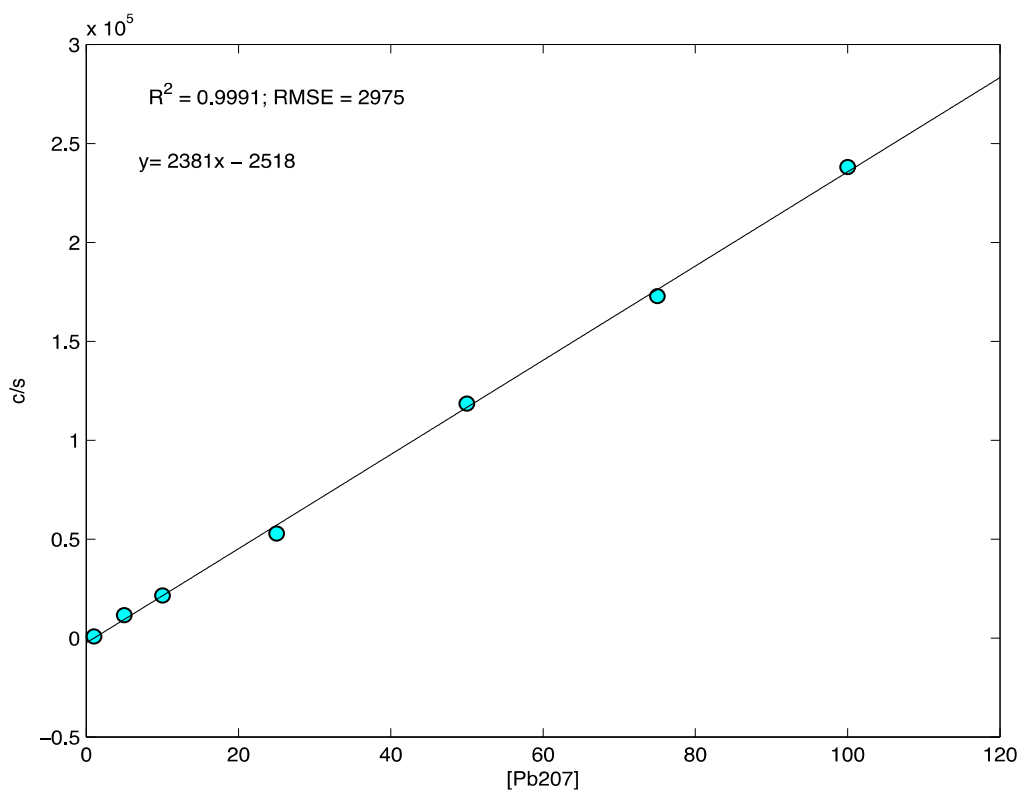


Figura 6. Curva analítica do ^{207}Pb obtido pelo ICP-MS

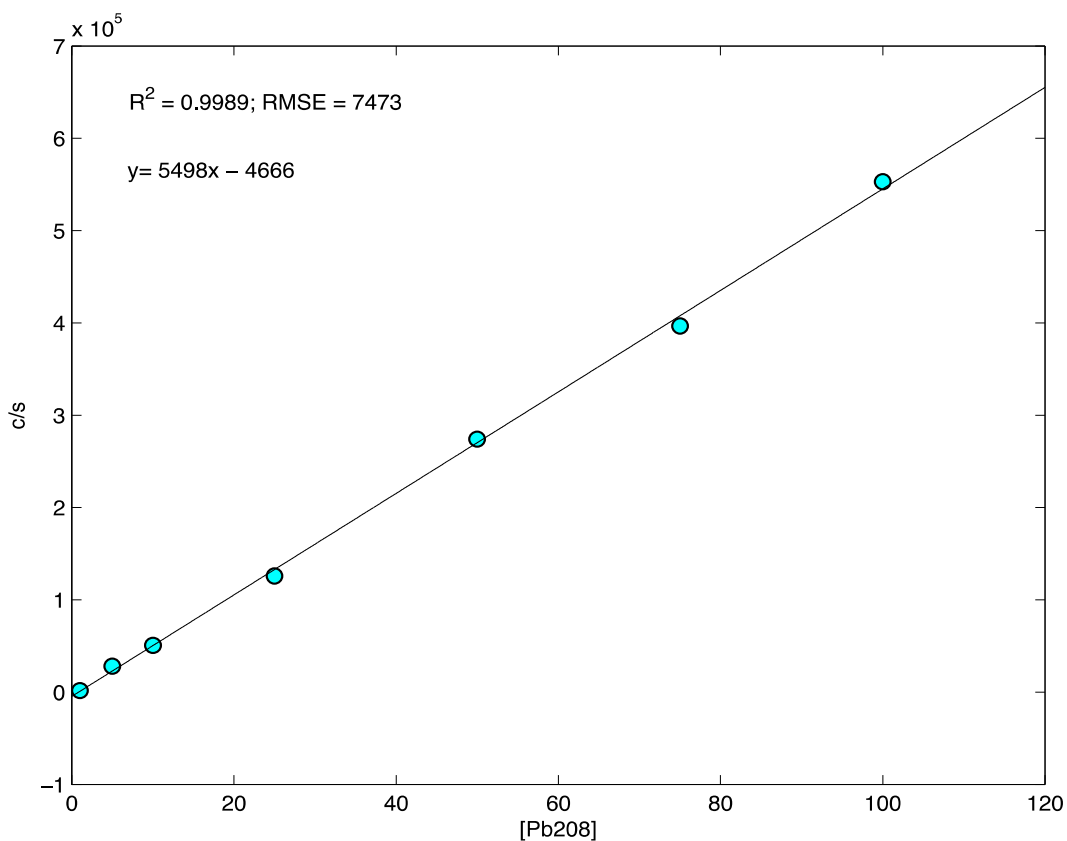


Figura 7. Curva analítica do ^{208}Pb obtido pelo ICP-MS

Foi observada linearidade, com os valores de coeficiente de determinação, r^2 , 0,9987, 0,9991 e 0,9989 para os isótopos de ^{206}Pb , ^{207}Pb e ^{208}Pb , respectivamente.

A Tabela 7 apresenta os valores do Limite de detecção (LD), Limite de quantificação (LQ) e Desvio Padrão Relativo (DPR) do método e Tabela 8 apresenta os valores da Taxa de Recuperação do método.

Tabela 7. Limite de detecção, limite de quantificação em $\mu\text{g L}^{-1}$ e o desvio padrão relativo em porcentagem do método para o ICP-MS

	^{52}Cr	^{55}Mn	^{59}Co	^{60}Ni	^{65}Cu	^{66}Zn	^{114}Cd	^{206}Pb	^{207}Pb	^{208}Pb
LD	0.0419	0.0975	0.0092	8.5307	0.0693	0.0786	0.1082	0.1341	0.0964	0.0770
LQ	0.1269	0.2954	0.0278	25.8507	0.2101	0.2380	0.3279	0.4065	0.2921	0.2334
DPR%	0.749	1.610	0.186	28.242	1.463	1.510	1.797	3.802	2.913	2.978

Tabela 8. Taxa de recuperação em porcentagem do método para o ICP-MS

Parâmetro	⁵⁹ Co	⁶⁰ Ni	⁶⁵ Cu	⁶⁶ Zn	¹¹⁴ Cd	Pb
Recuperação	94.56	92.92	52.57	15.46	179.25	150.64

Para o método, os valores de LD e LQ se mostraram adequados, tendo em vista a sensibilidade da técnica e a baixa concentração dos analitos nas amostras. A precisão também se mostrou adequada, tendo os valores de DPR abaixo do limite aceito (<20%). No caso do Ni, o DPR extrapolou o limite esperado. A exatidão mostrou valores da taxa de recuperação aceitáveis para Co, Ni e Cu, valor abaixo do esperado para o Zn e acima do esperado para o Cd e Pb. No caso do Pb e do Cd, pode estar sendo quantificado valor acima do esperado, provavelmente devido à interferência de poliatômicos (TOWNSEND, 1998) e devido às suas concentrações serem as menores dos elementos analisados.

4.2 Análise estatística multivariada

Analisando pelo programa MatLab os dados de todas as variáveis obtidos pelo ICP-MS, das amostras de solo e planta, foram geradas as PCs 1 e 2 são mostradas na Figura 8, em que a PC1 explica 41,4% da variância do conjunto de dados e a PC2 explica 16,2% da variância do conjunto de dados, somando 57,6%. Na Figura 9 pode-se observar os pesos (*loadings*) das variáveis sobre a dispersão das amostras das mesmas PCs.

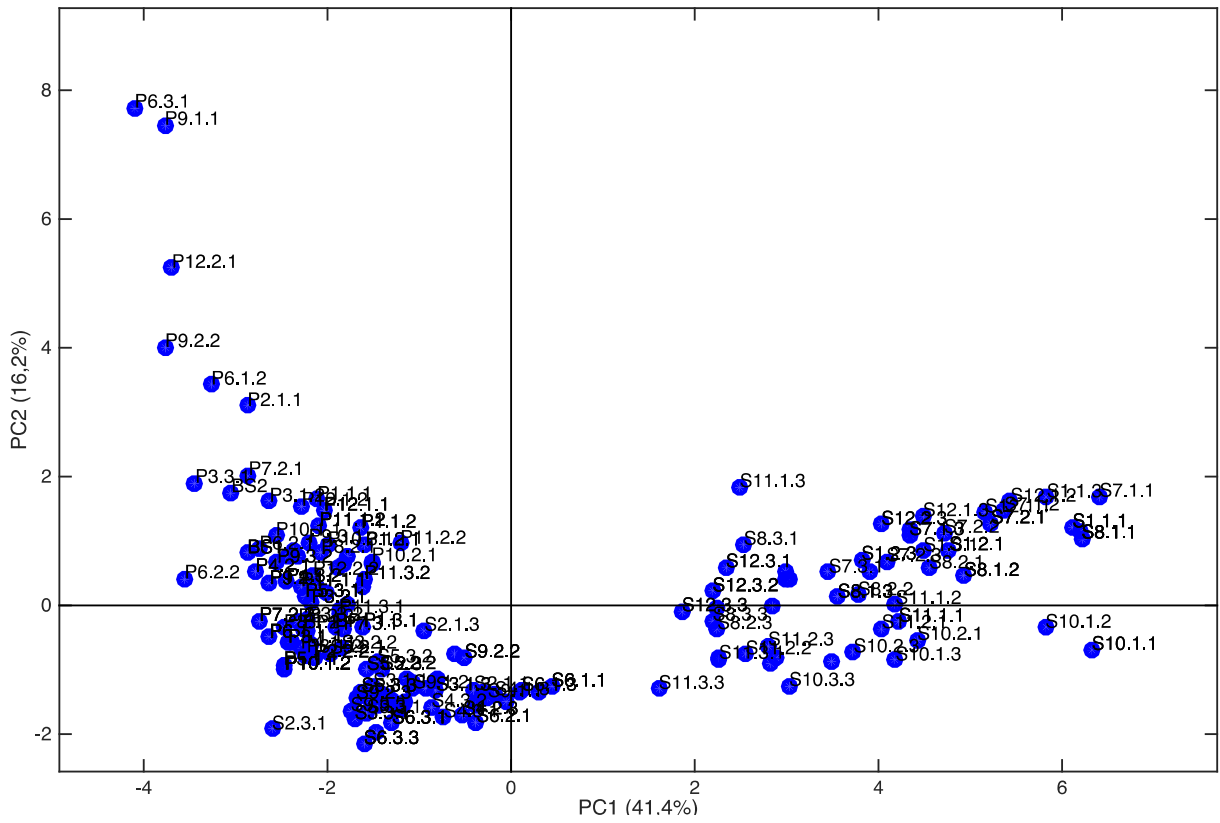


Figura 8. Dispersão das amostras de solo e planta nas componentes principais 1 (41,4%) e 2 (16,2%), explicando 57,6% da variância do conjunto de dados

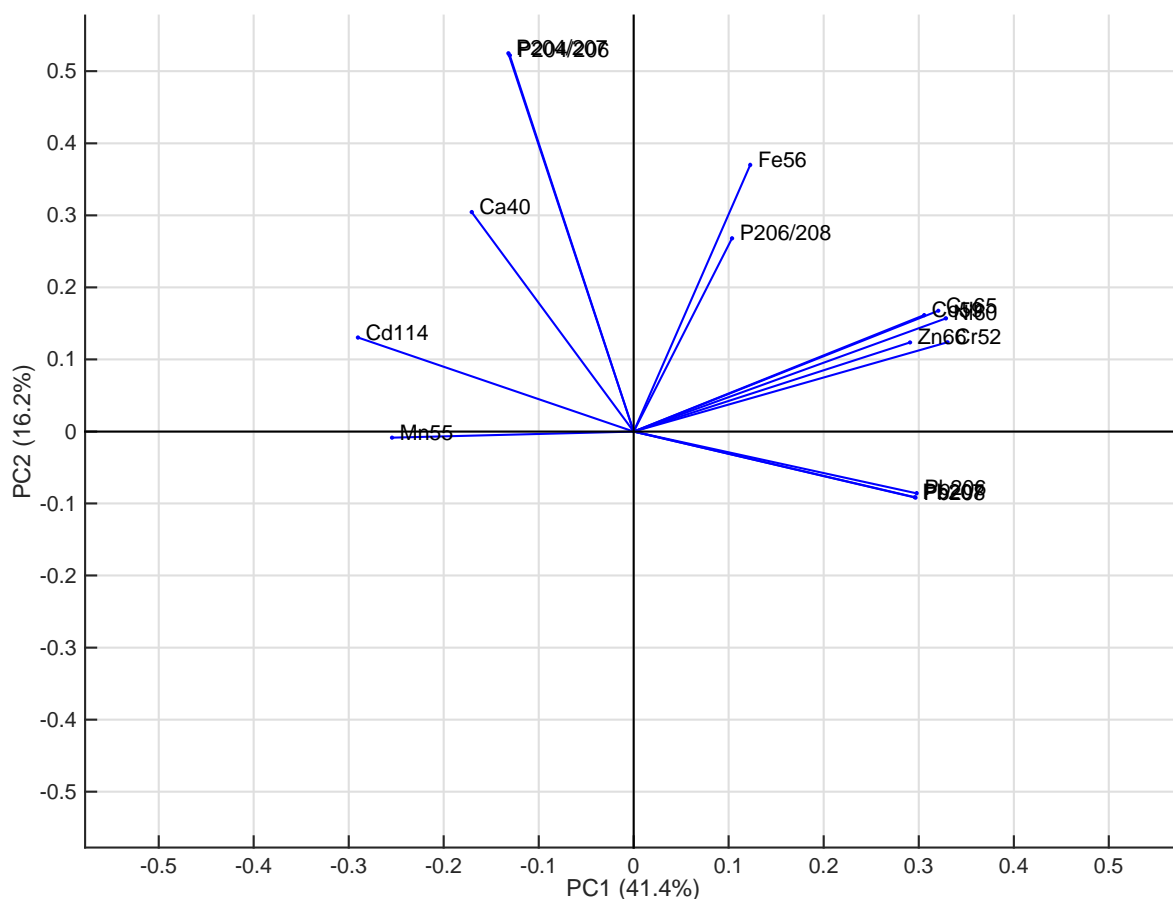


Figura 9. Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 2

Com as PCs 1 e 2, são observadas separações das amostras de planta pela influência dos elementos Ca, Cd, Mn e razão isotópica de $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{204}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, e das amostras de solo pela influência dos elementos Fe, Cu, Co, Zn, Cr, Pb e razão isotópica de $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$.

As PCs 1 e 3 são mostradas na Figura 10, em que a PC1 explica 41,4% da variância do conjunto de dados e a PC3 explica 10,6% da variância do conjunto de dados. Na Figura 11 pode-se observar os pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras das mesmas PCs.

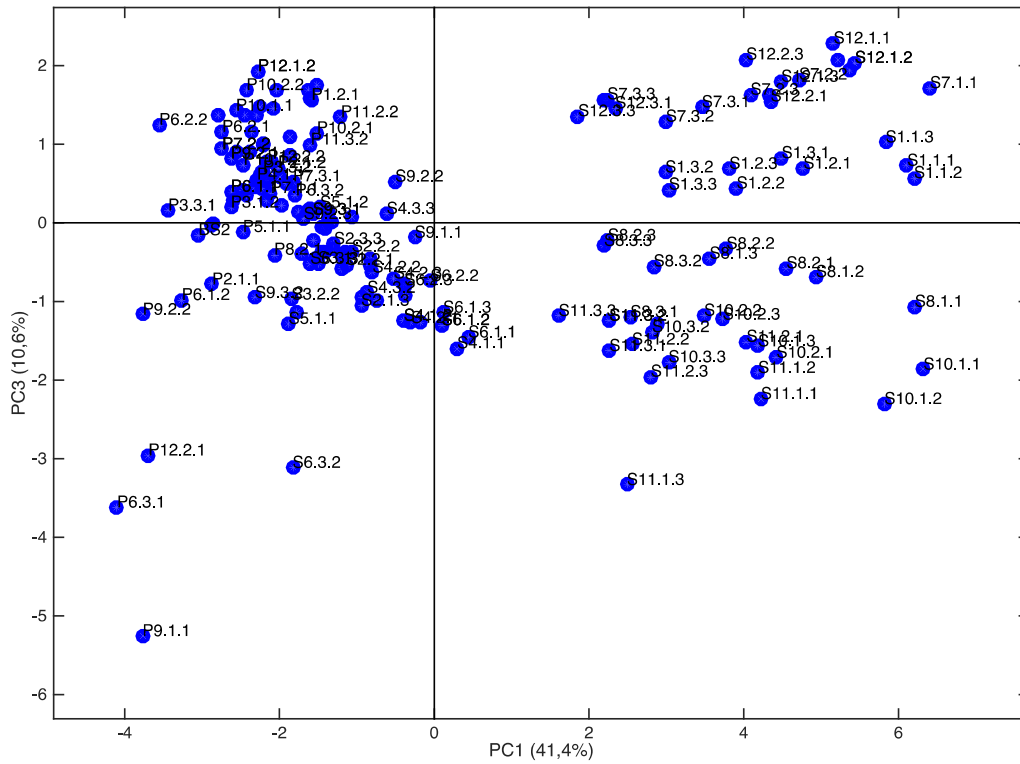


Figura 10. Dispersão das amostras de solo e planta nas componentes principais 1(41,4%) e 3(10,6%), explicando 51,7% da variância do conjunto de dados

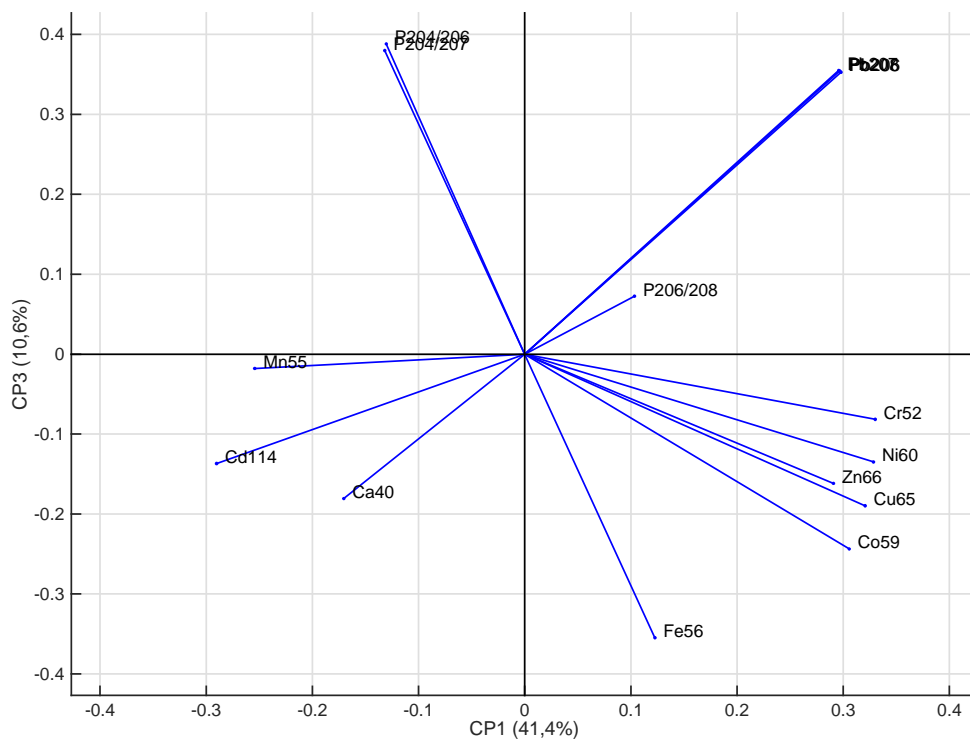


Figura 11. Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 3

Com as PCs 1 e 3 observa-se que os dados estão mais dispersos no gráfico, com as separações de grande parte das amostras de planta pela influência dos elementos Ca, Cd, Mn e razão isotópica de $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{204}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, e de grande parte das amostras de solo pela influência dos elementos Fe, Cu, Co, Zn, Ni, Cr, Pb e razão isotópica de $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$.

O diagrama de Pareto, apresentado na Figura 12, mostra a variância explicada por cada componente principal, e a linha apresenta a variância explicada acumulada das componentes principais. Assim, observa-se que com 9 PCs é possível explicar quase 100% da variância dos dados.

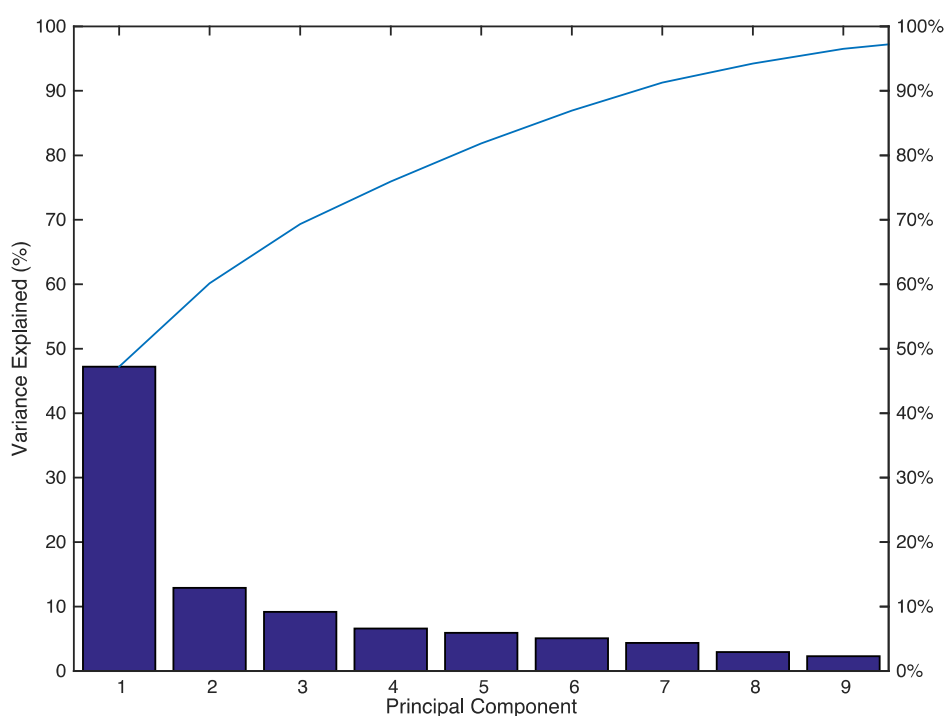


Figura 12. Diagrama de Pareto para PCs de todos os dados

A Figura 13 representa o dendrograma de similaridade das variáveis, mostrando que as variáveis do elemento ^{207}Pb , ^{208}Pb e razão isotópica $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ apresentam similaridade, e as razões $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ e $^{204}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ também mostraram-se similares. As variáveis Ca e Cd, mostraram-se similares também, o que pode ser explicado pela semelhança entre os raios atômicos e da carga dos dois íons. Os metais Ni, Cu, Co, Cr e Zn apresentaram similaridade entre si, e, mesmo sendo considerados contaminantes, também podem ter ocorrência natural no solo.

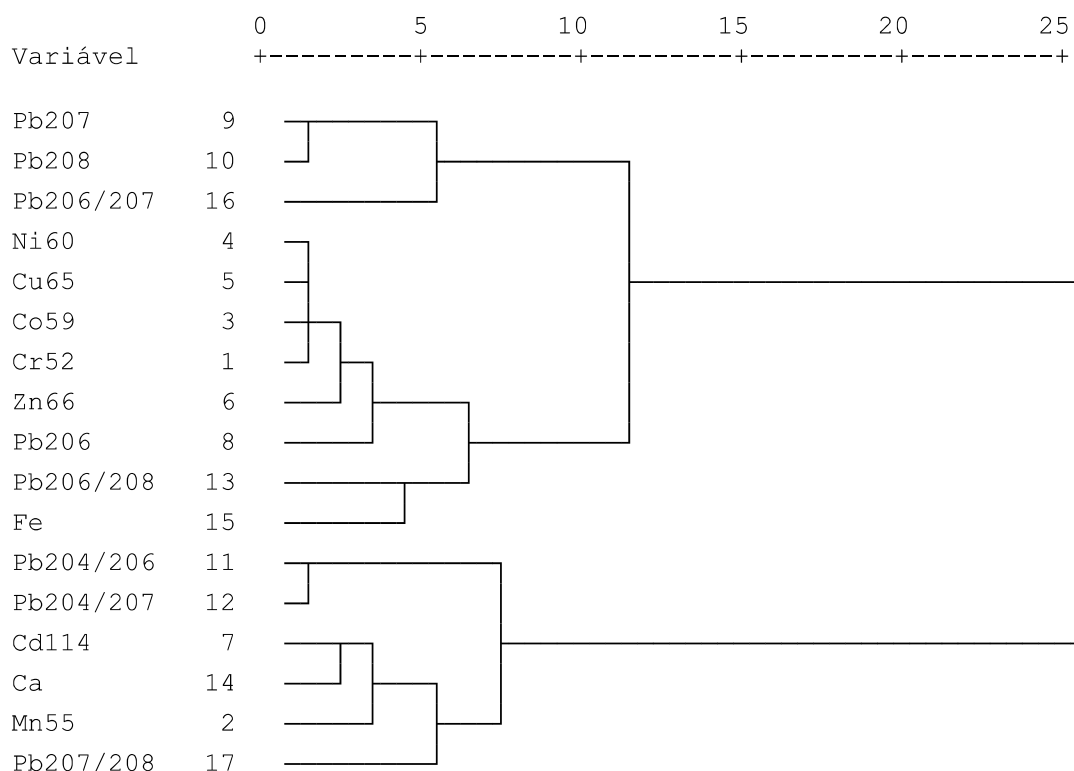
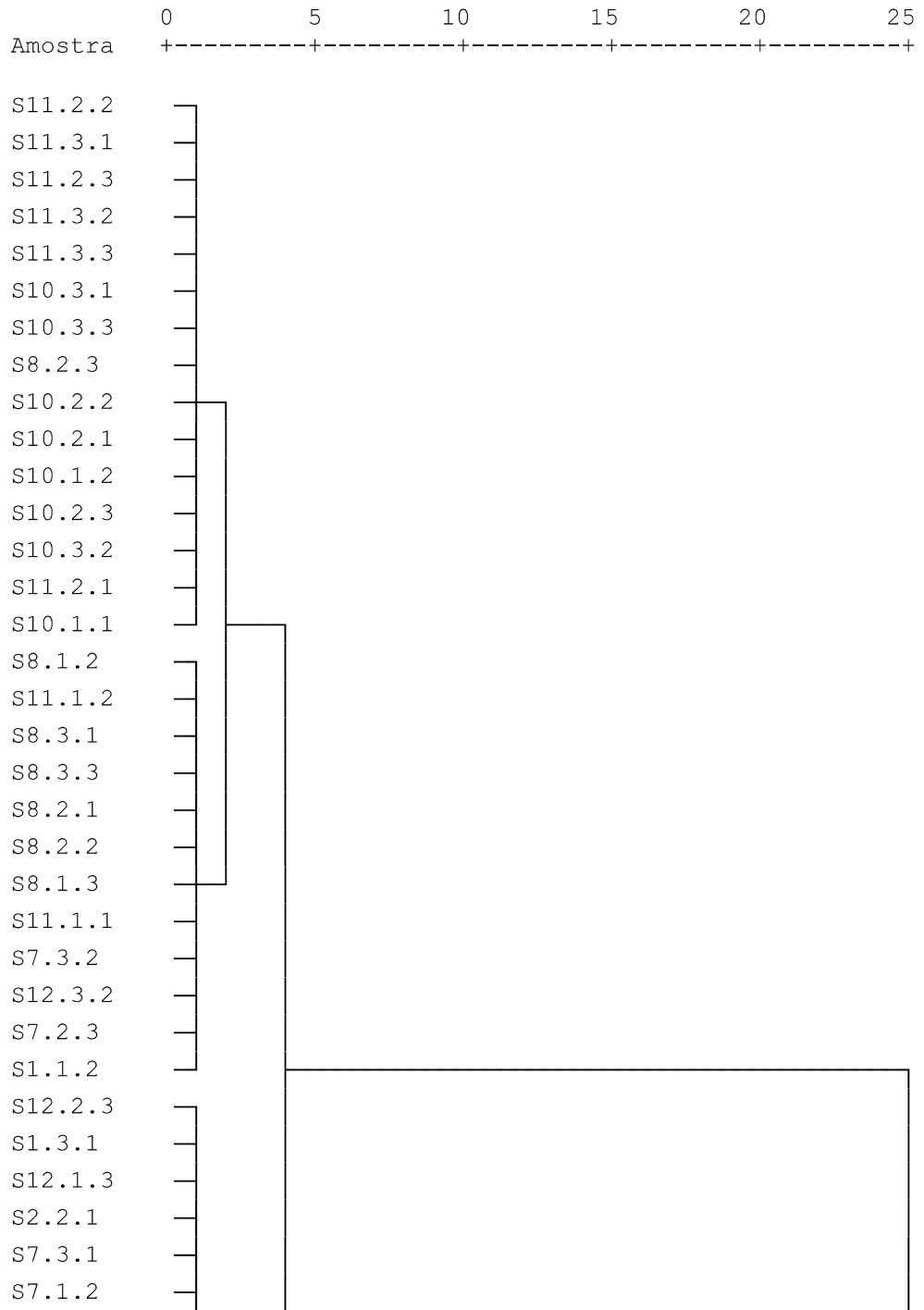
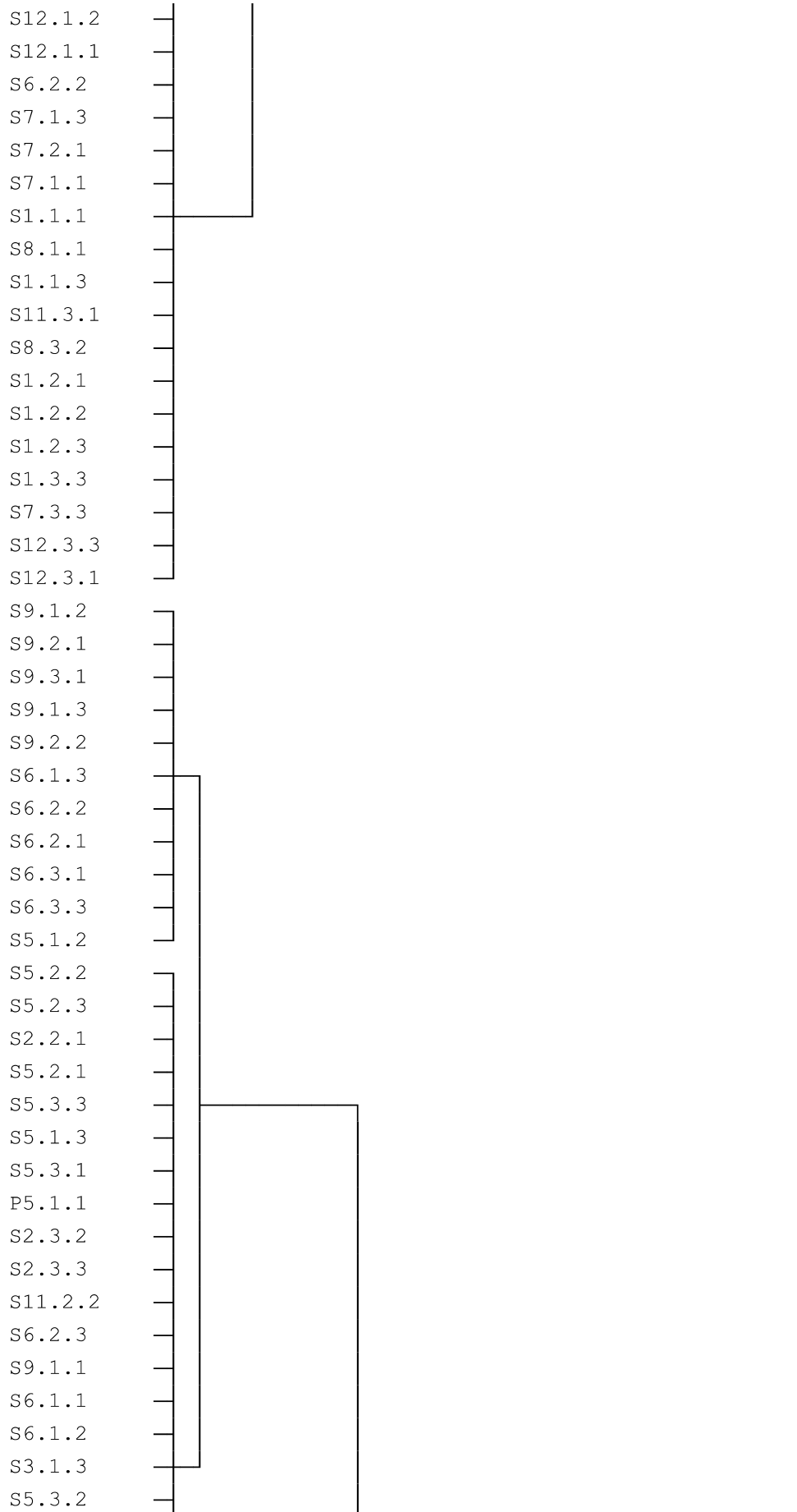
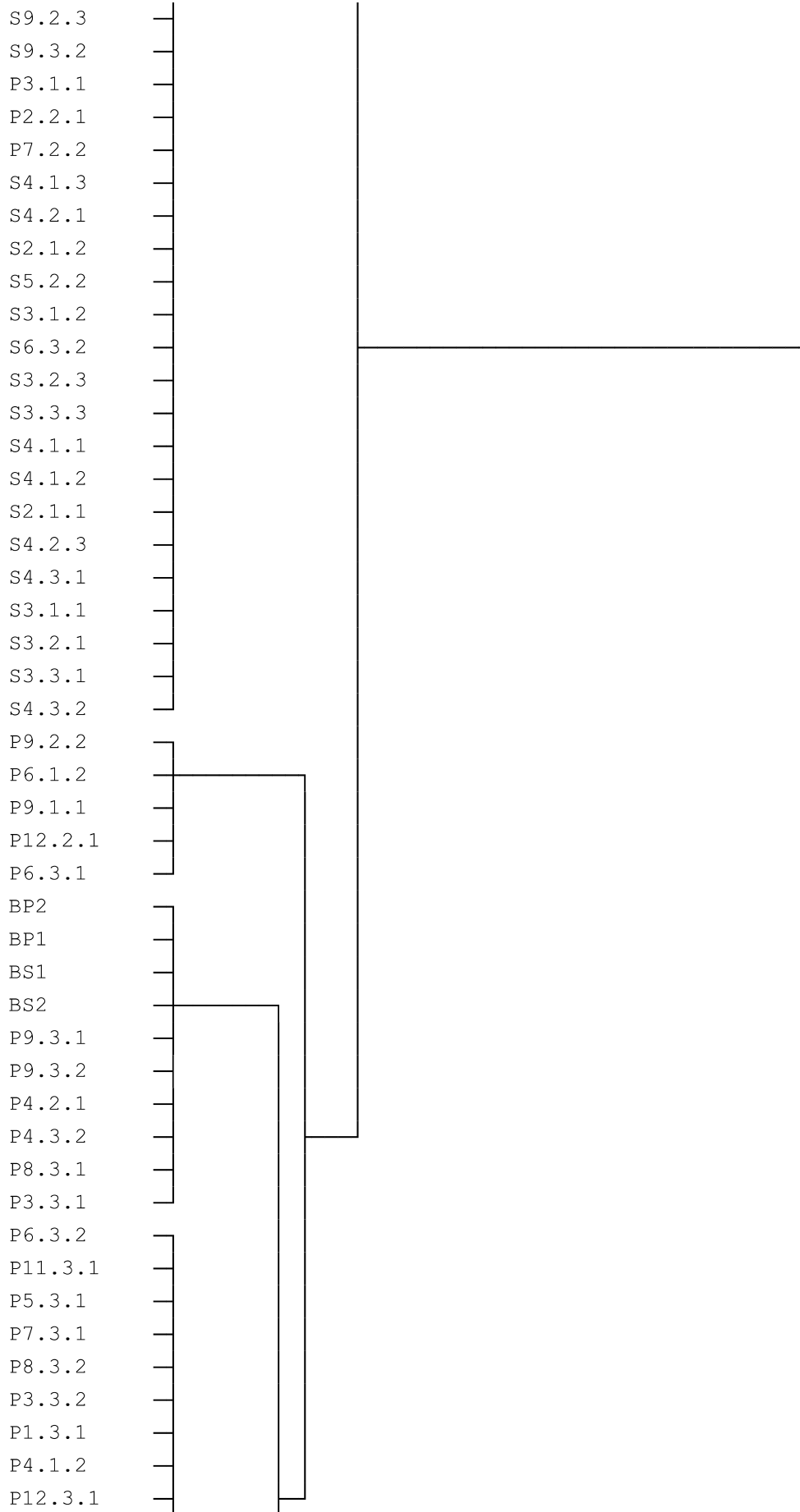


Figura 13. Dendrograma usando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as variáveis

A similaridade entre as amostras pode ser observada na Figura 14, que representa o dendrograma das amostras, agrupando-as de acordo com suas propriedades. Nota-se que amostras de solo e planta aparecem em grupos diferentes, o que deve ser explicado pelas suas diferentes características de retenção de elementos.







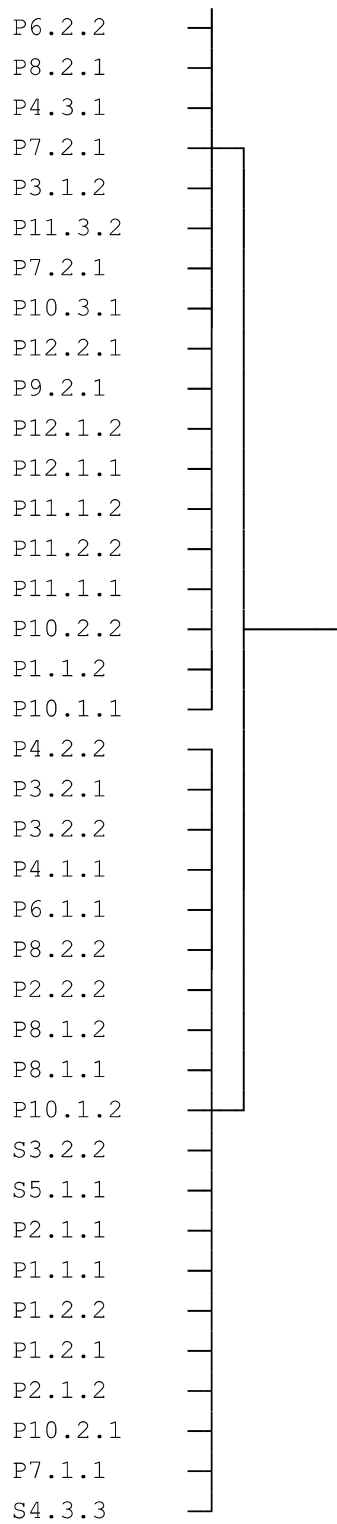


Figura 14. Dendrograma usando o método de Ward; agrupamento hierárquico
 - distância reescalada para as amostras

Solos e plantas estão separados em dois grandes grupos. No entanto, similaridades entre uma planta e o solo no qual ela foi desenvolvida também foram encontradas. A fim de estudar a influência de chumbo nas amostras, os dados também foram tratados apenas com os isótopos de chumbo. Na Figura 15 pode-se observar as PCs 1 e 2 em que a PC1 explica 29,8% da variância do conjunto de dados e a PC2 explica 17,8% da variância do conjunto de dados somando 47,6%. Na Figura 13 pode-se observar os pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras das mesmas PCs, considerando apenas variáveis de chumbo.

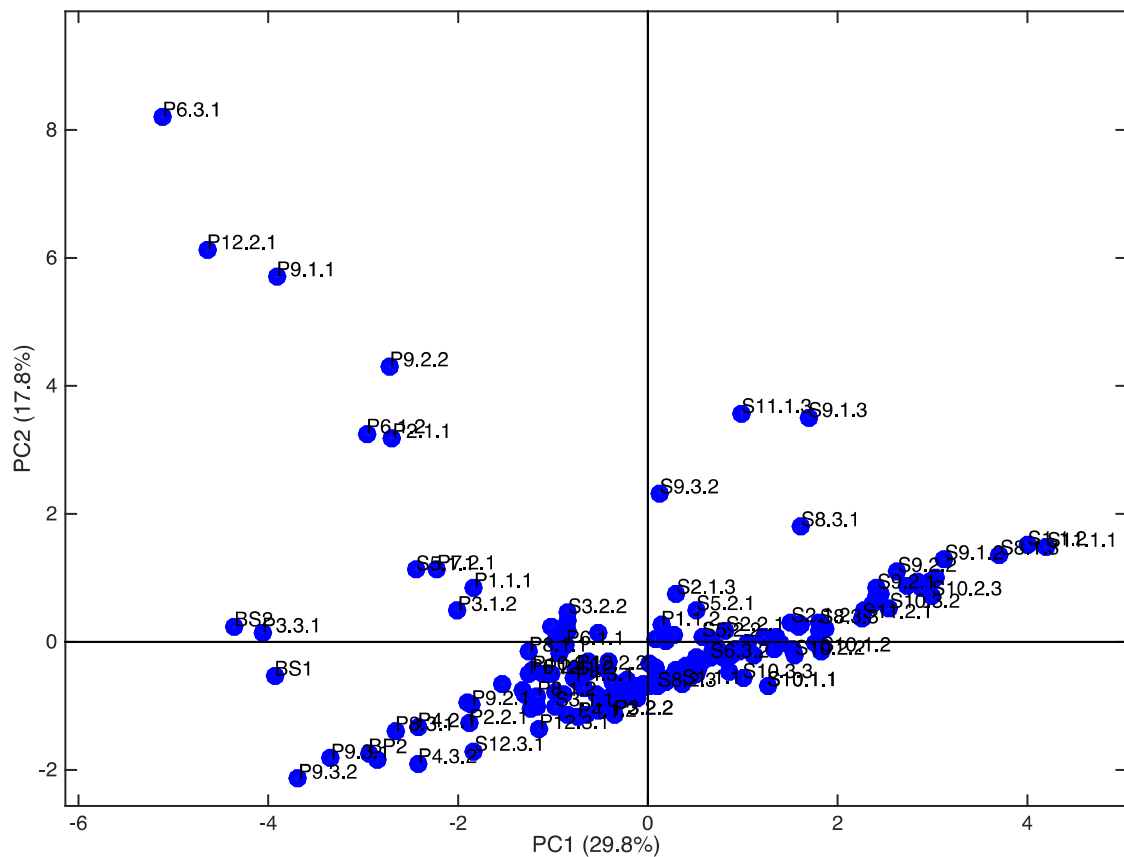


Figura 15. Dispersão das amostras de solo e planta para as componentes principais 1(29,8%) e 2(17,8%) - dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

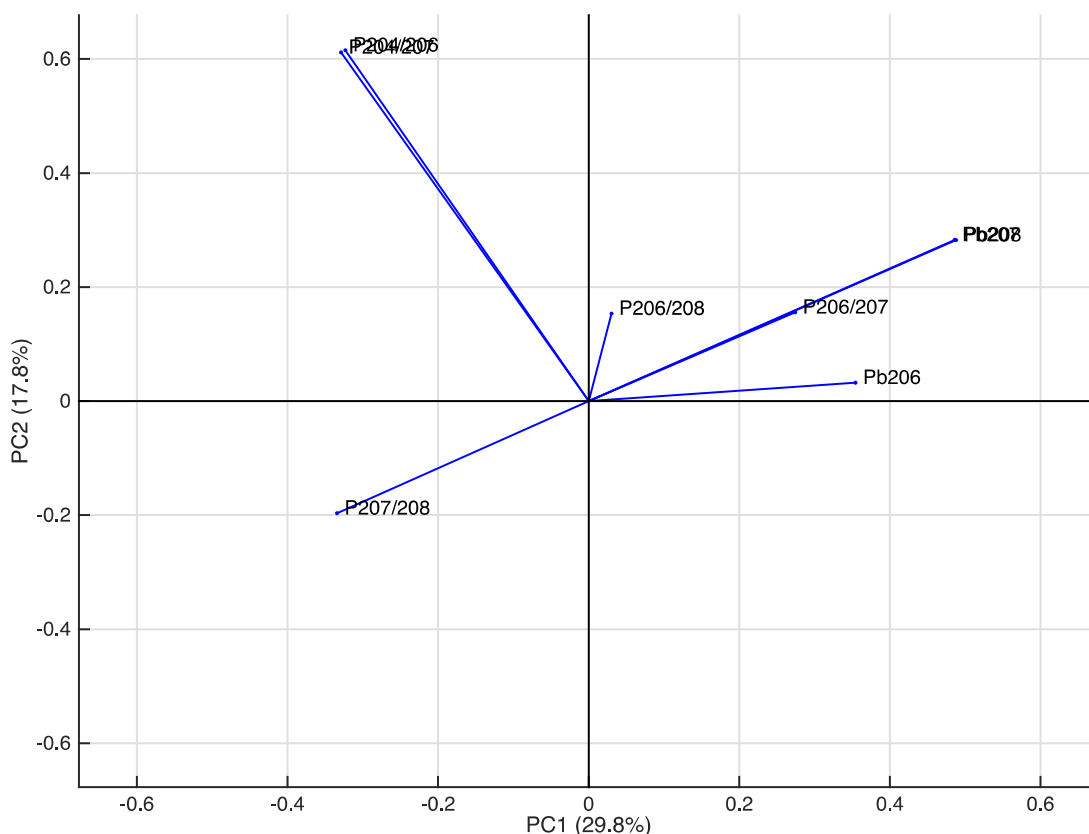


Figura 16. Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 2. Dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

Grande parte das amostras tem influência da razão isotópica de $^{207}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$, e os demais isótopos e razões isotópicas separam o restante das amostras. Observa-se que as amostras de solo e planta não estão mais separadas como nos dados tratados com vários elementos.

Gerou-se também a projeção das PCs 1 e 3, observada na Figura 17, na qual a PC1 explica 29,8% da variância do conjunto de dados e a PC3 explica 13,0% da variância do conjunto de dados, somando 42,8%. Na Figura 18 pode-se observar os pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras das mesmas PCs para os dados relativos a chumbo.

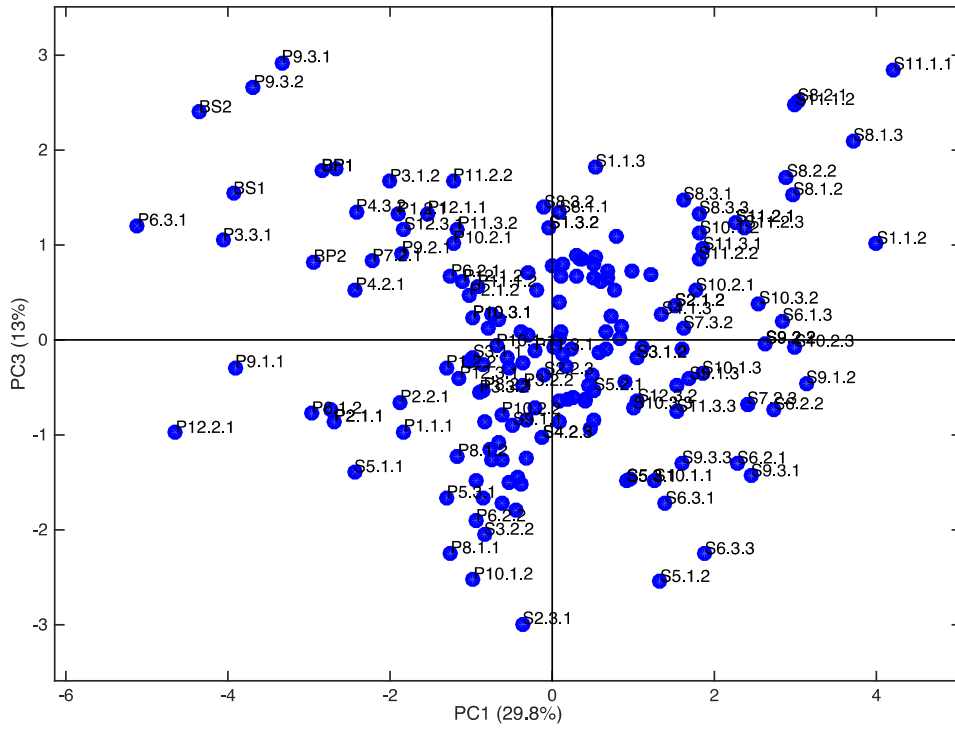


Figura 17. Dispersão das amostras de solo e planta para as componentes principais 1(29,8%) e 3(13%) - dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

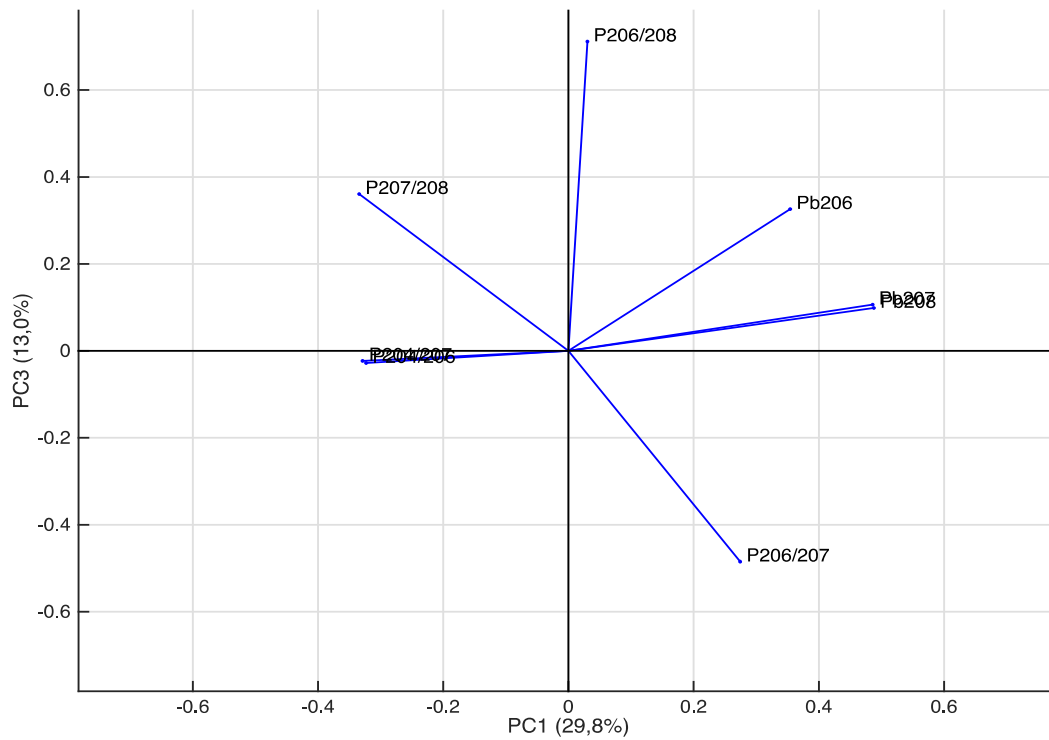


Figura 18. Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 3 - dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

Nota-se que os dados estão mais dispersos nessas PCs e apesar de separar os solos das plantas, as amostras foram agrupadas de acordo com o local de coleta. Os solos do local 8 tem influência do ^{206}Pb , os do local 10 tem influência do ^{207}Pb , ^{208}Pb , os solos 5, 6 e 9 tem influência da razão isotópica $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$. As plantas 9, 10 e 11 mostraram maior influência da razão isotópica $^{207}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$, e as plantas dos locais 1, 2 e 12 mostraram influência da razão isotópica $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ e $^{204}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$.

O dendrograma da Figura 19 apresenta a similaridade das variáveis do Pb, mostrando que as razões isotópicas $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{204}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{207}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ apresentam similaridade, e as isótopos ^{206}Pb e ^{207}Pb também mostraram-se similares.

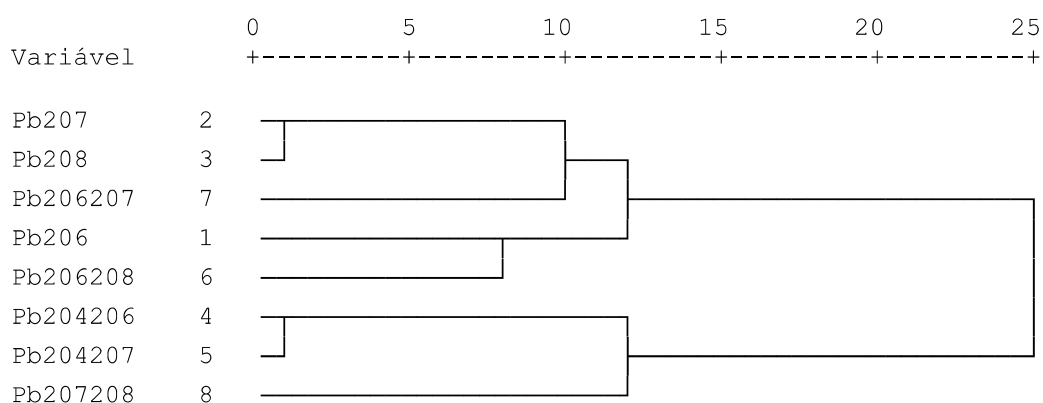
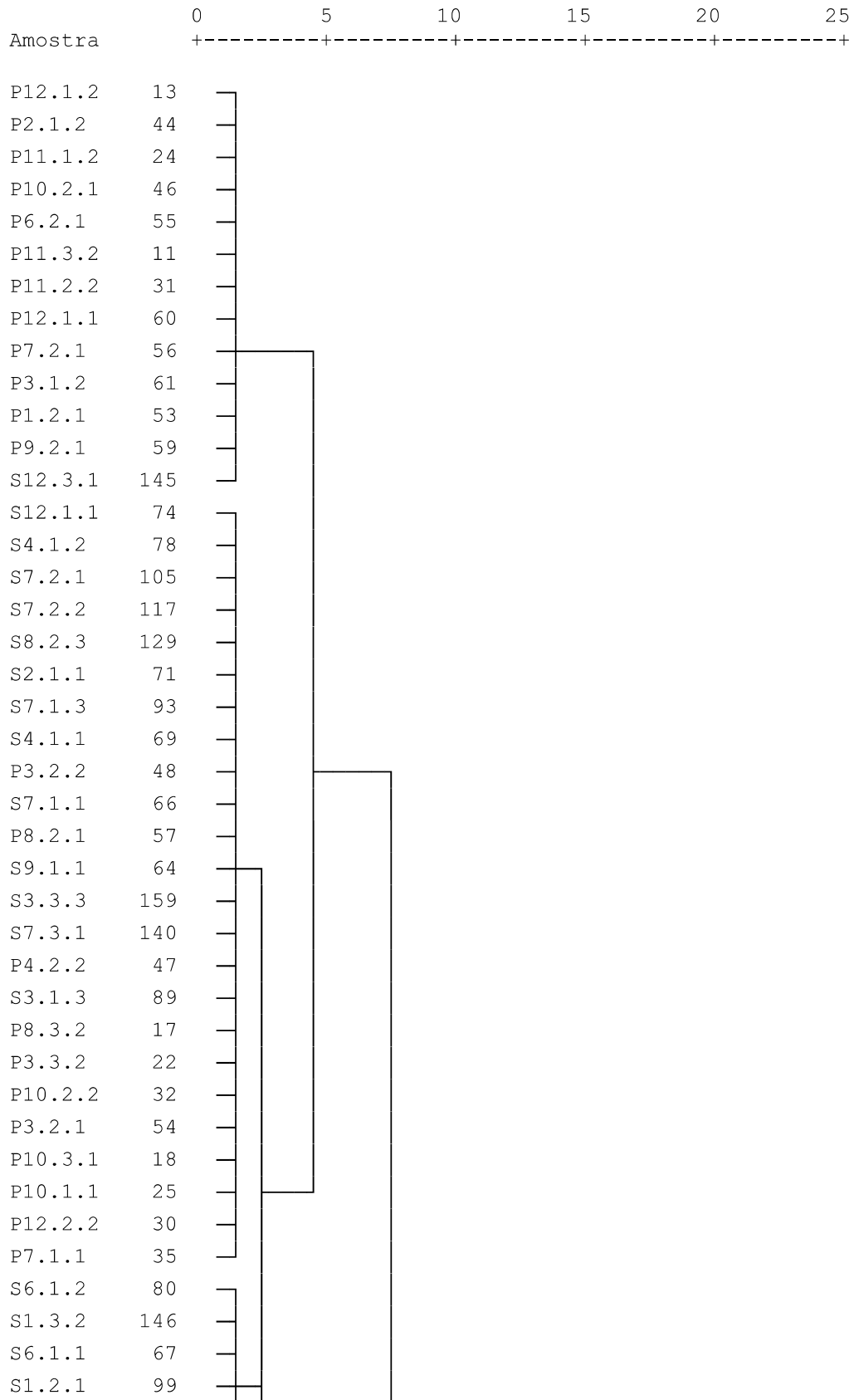


Figura 19. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as variáveis: dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

A similaridade entre as amostras pode ser observada na Figura 20, que representa o dendrograma das amostras, agrupando-as de acordo com suas propriedades. Comparando com o dendrograma de amostras tratadas com vários elementos, este se mostrou melhor para o modelo, pois foi possível agrupar solos e plantas do mesmo local.



S1.3.1	134	
S1.2.2	111	
S1.1.1	72	
S8.3.2	152	
P1.1.2	26	
S5.2.1	103	
P6.3.2	16	
P11.3.1	19	
S12.2.3	133	
S5.3.2	149	
12.1.2	86	
S12.2.1	110	
S1.2.3	122	
S1.3.3	157	
S12.1.3	98	
S1.1.3	87	
S10.1.3	96	
S10.2.2	120	
S11.3.3	167	
S10.3.1	143	
S10.3.3	166	
S11.3.2	155	
S10.1.2	84	
S10.2.1	108	
S8.1.1	65	
S10.1.1	63	
S2.1.2	76	
S7.3.2	151	
S4.1.3	90	
S4.2.1	102	
S7.1.2	81	
S2.2.2	112	
4.2.2	114	
S2.1.3	88	
S3.2.3	124	
S5.3.3	161	
S5.1.3	91	
S5.3.1	138	
S2.3.2	147	
S2.3.3.	158	
S5.2.3	126	
S2.2.3	123	
S4.3.1	137	

S2.2.1	100		
S5.2.2	115		
S3.1.2	77		
S6.3.2	150		
S4.3.3	160		
S6.2.3	127		
S12.3.2	156		
P3.1.1	39		
P7.2.2	58		
S9.2.3	130		
S8.3.1	141		
S8.3.3	164		
S9.3.2	153		
S6.3.1	139		
S6.3.3	162		
S5.1.2	79		
S2.3.1	135		
P4.1.2	62		
S3.3.1	136		
S7.3.3	163		
S12.3.3	168		
S4.2.3	125		
P1.3.1	29		
P4.3.1	28		
P8.1.2	36		
P4.1.1	40		
P5.1.1	169		
S3.2.1	101		
S4.3.2	148		
P12.3.1	20		
S3.1.1	70		
P1.2.2	50		
P2.2.1	51		
P1.1.1	42		
S5.1.1	68		
P6.2.2	21		
P6.1.1	41		
P8.1.1	37		
P10.1.2	43		
P7.3.1	15		
P2.2.2	49		
P8.2.2	45		
P11.1.1	14		

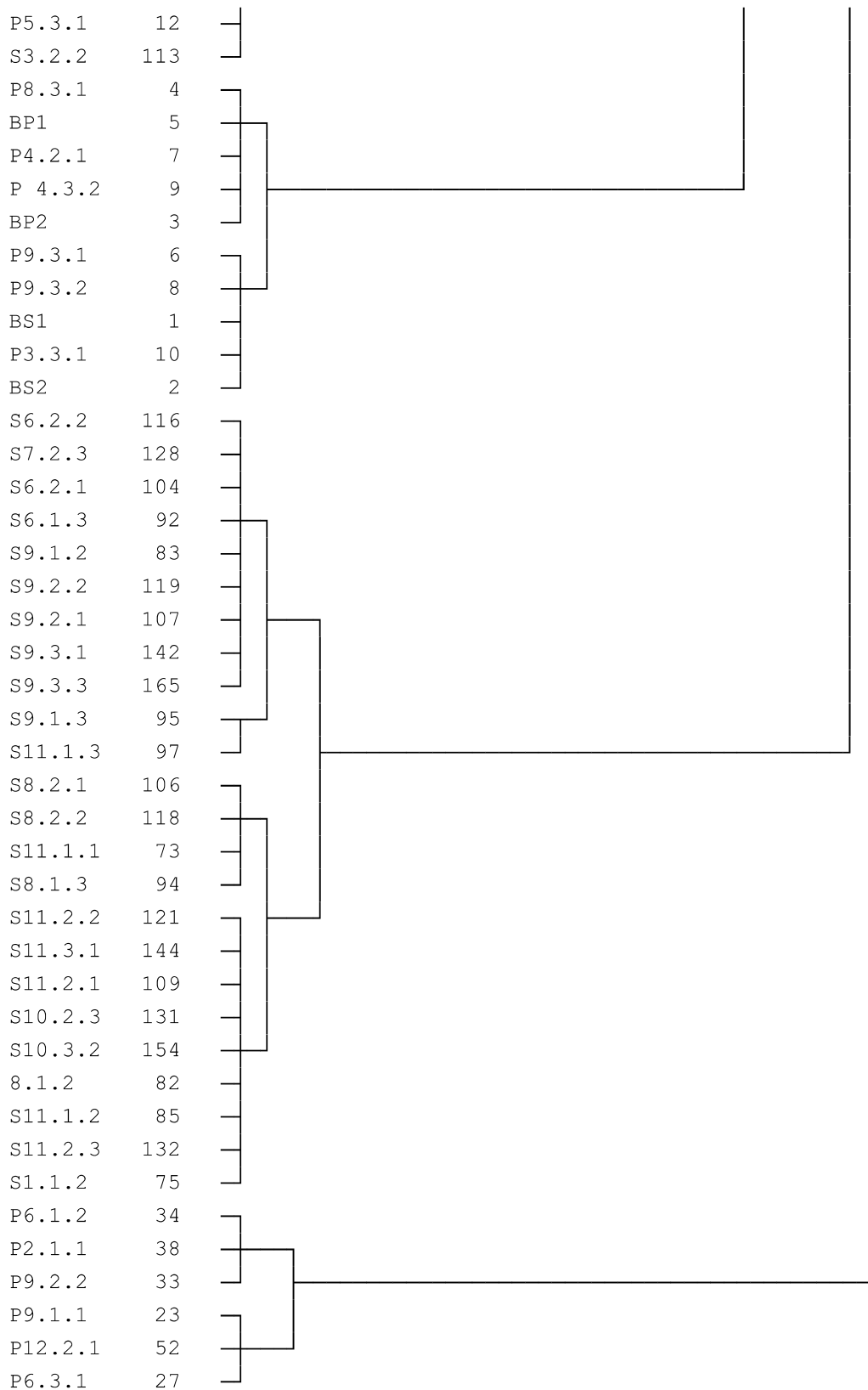


Figura 20. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras: dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

Devido à grande quantidade de amostras, para melhor análise e visualização dos resultados foi feita a análise multivariada com a média das triplicatas das amostras de um mesmo vaso. Na Figura 21(a) pode-se observar com maior clareza a distribuição das amostras pelas PC1, com 44,5% da variância das amostras, e PC2, com 16,0% da variância, e na Figura 21(b) o peso das variáveis que as influenciam.

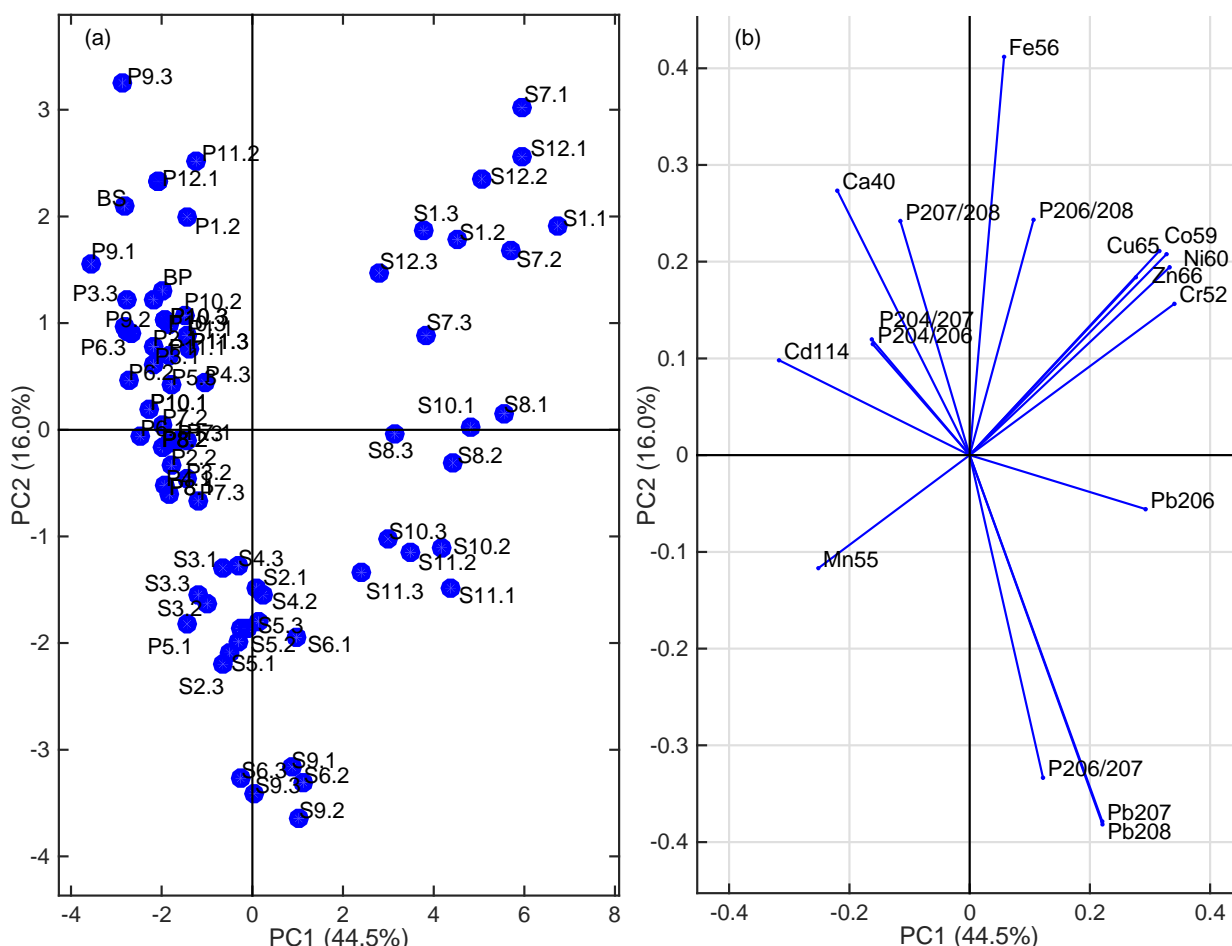


Figura 21. (a) Dispersão dos dados de solo e planta para as componentes principais 1(44,5%) e 2(16%) da média dos dados. (b) Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 2 da média dos dados

Pode ser observado que as amostras do mesmo local estão mais próximas umas das outras, e que as variáveis do chumbo, ^{206}Pb , ^{207}Pb e ^{208}Pb , e a razão $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ influenciam os solos dos locais 8, 10 e 11, variáveis Fe, Cu, Co, Ni, Zn, Cr e razão $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ influenciam os solos dos locais 1,7 e 12. Ao lado esquerdo as amostras de plantas são influenciadas pelas variáveis Cd, Ca, e razão $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{204}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{207}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$.

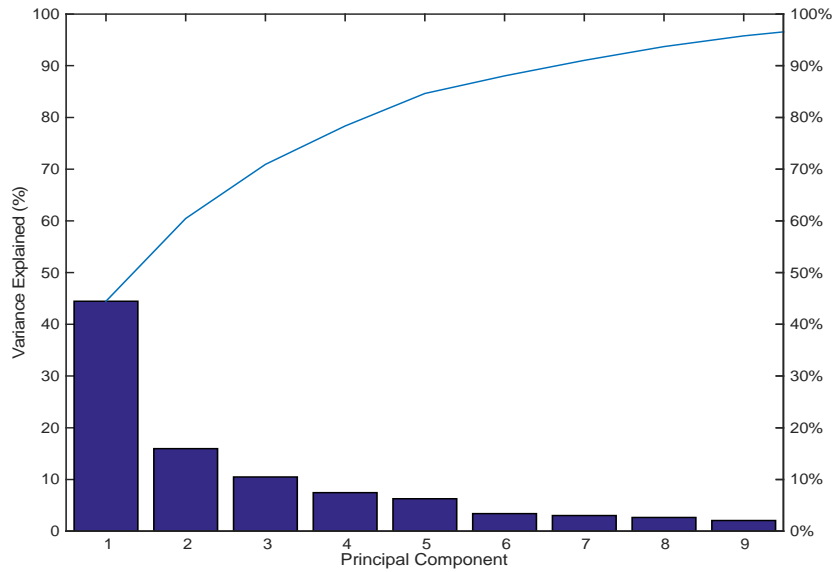


Figura 23. Diagrama de Pareto para PCs da média dos dados

A Figura 24 representa o dendrograma de similaridade das variáveis da média dos dados, mostrando que a similaridade entre as variáveis não mudou em comparação com o dendrograma de similaridade das variáveis com todos os dados, demonstrado na Figura 13.

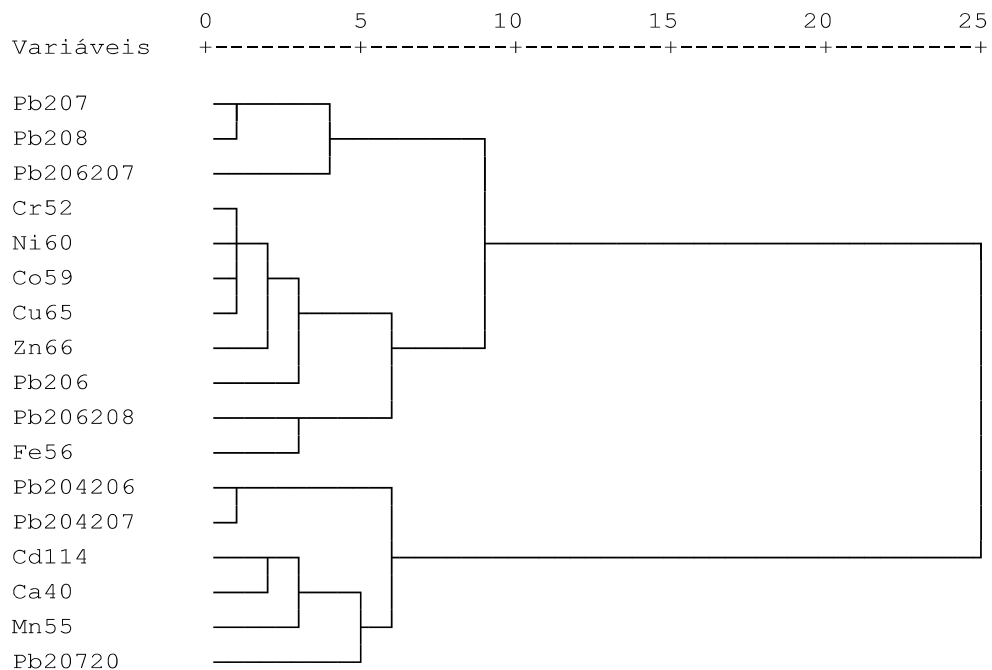
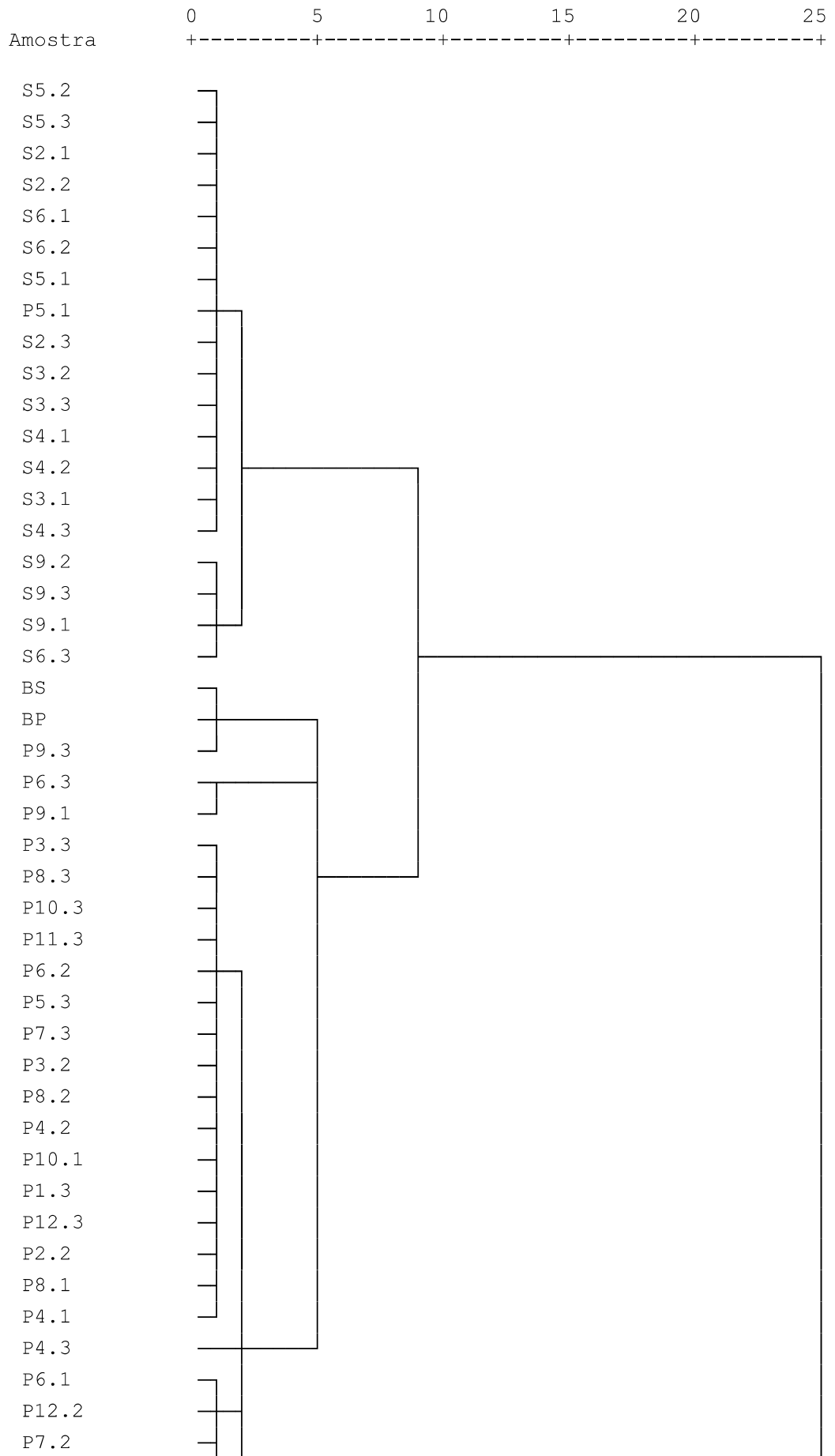


Figura 24. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as variáveis da média dos dados



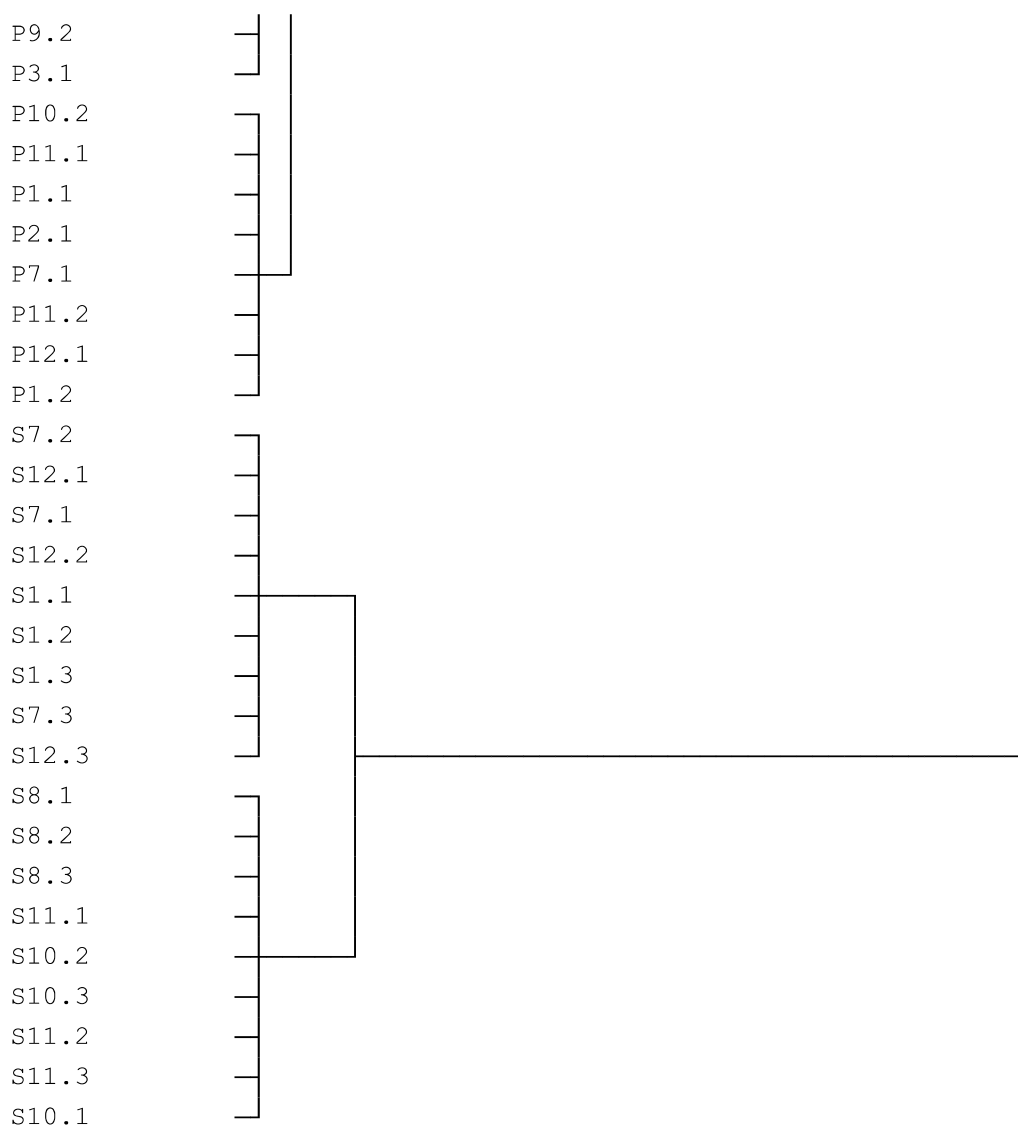


Figura 25. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras da média dos dados

A similaridade entre as médias das amostras pode ser observada na Figura 25. Nota-se que amostras do mesmo local ficaram melhor agrupadas em comparação com o dendrograma da Figura 14. Porém, a maioria das amostras de solo e planta ainda ficaram em grupos separados.

Como o objetivo do trabalho é analisar os isótopos de chumbo e suas razões isotópicas, os dados a seguir foram tratados apenas com as variáveis dos isótopos de chumbo.

Na Figura 26(a) observa-se a distribuição das amostras pelas PC1, com 39,8% da variância das amostras, e PC2, com 22,6% da variância, e na Figura 26(b) o peso das variáveis que as influenciam.

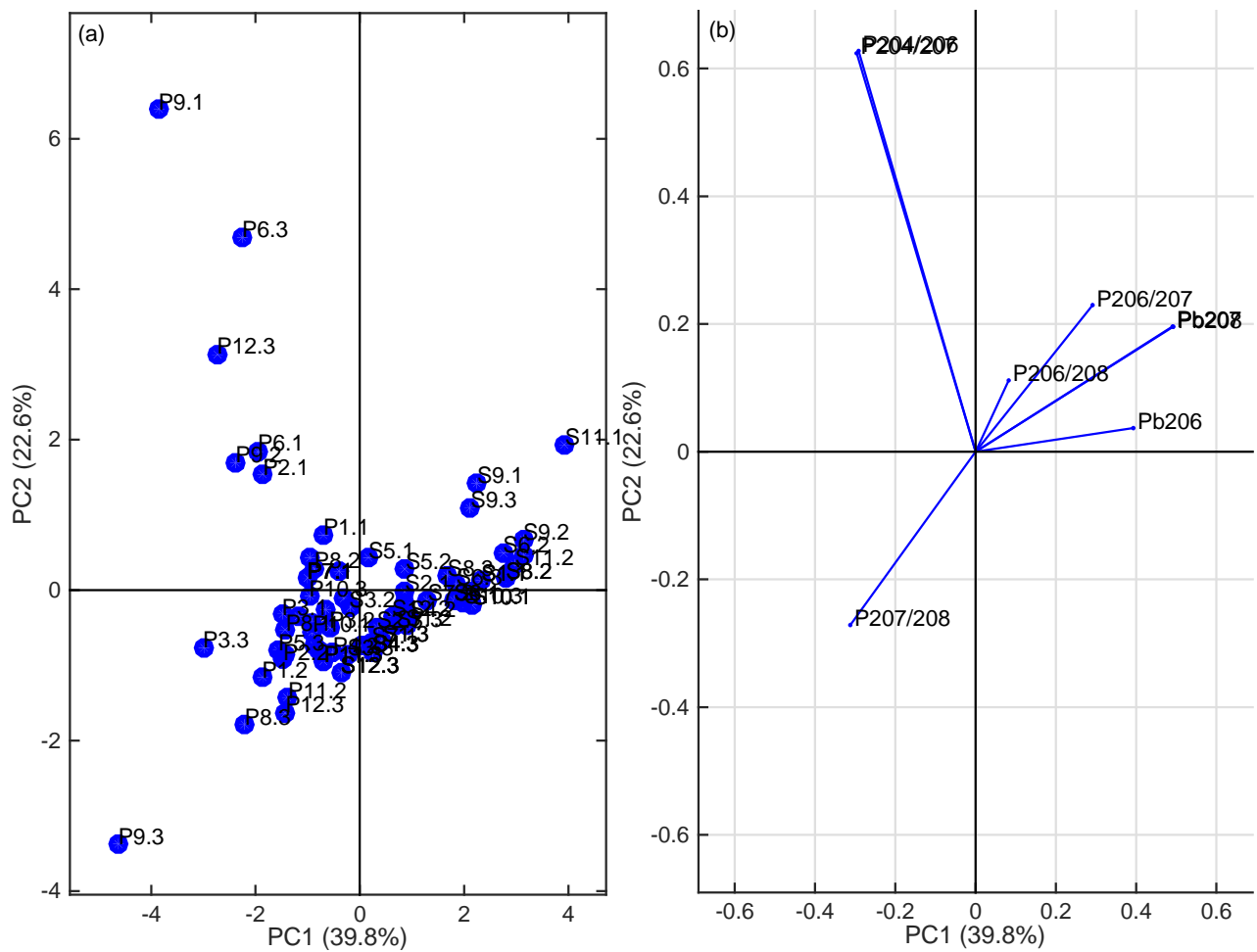


Figura 26. (a) Dispersão das amostras de solo e planta para as componentes principais 1(39,8%) e 2(22,6%) – média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb. (b) Pesos das variáveis sobre a dispersão das amostras nas componentes principais 1 e 2 – média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

Pode ser observado que algumas amostras de plantas, como as dos locais 6, 9 e 12 ficaram separadas, e que as razões $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{204}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{207}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ as influenciaram.

Na Figura 27(a) observa-se uma melhor distribuição das amostras pelas PC1, com 39,8% e PC3, com 17,4% da variância do conjunto de dados, e na Figura 27(b) o peso das variáveis que as influenciam.

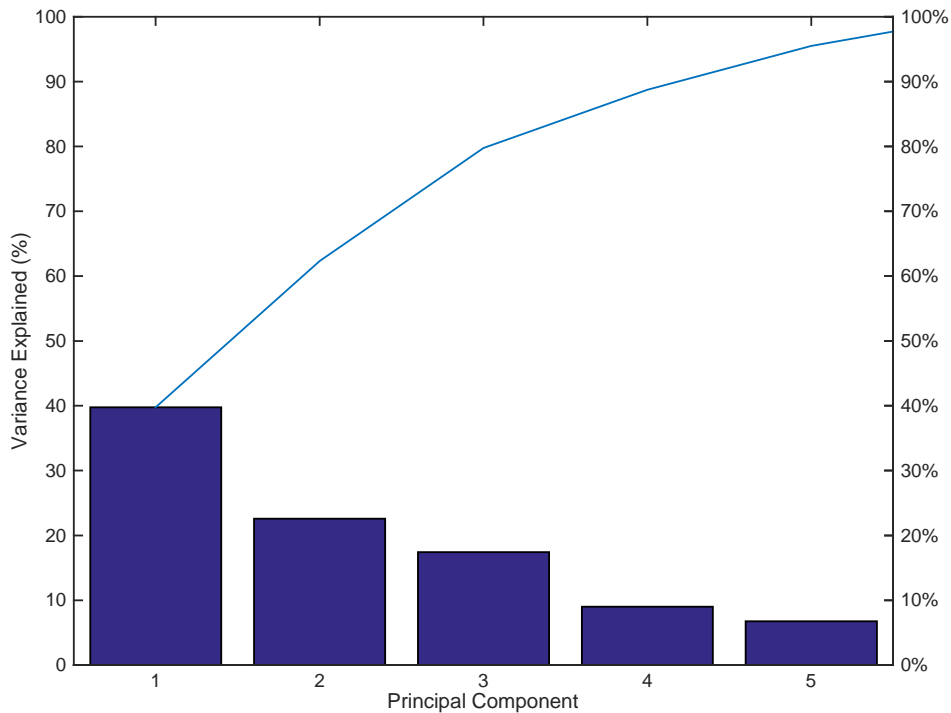


Figura 28. Diagrama de Pareto para PCs da média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

A Figura 29 representa o dendrograma de similaridade das variáveis da média dos dados, tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb. As variáveis agrupadas tem uma influência similar nas amostras, como vimos nas Figuras 27(a) e 27(b).

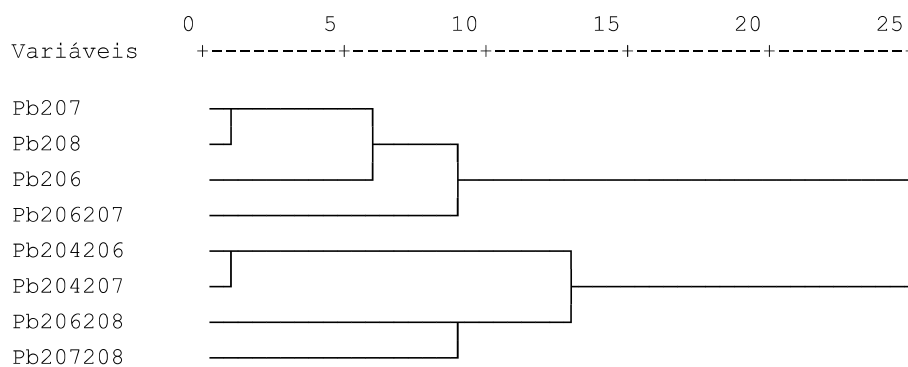
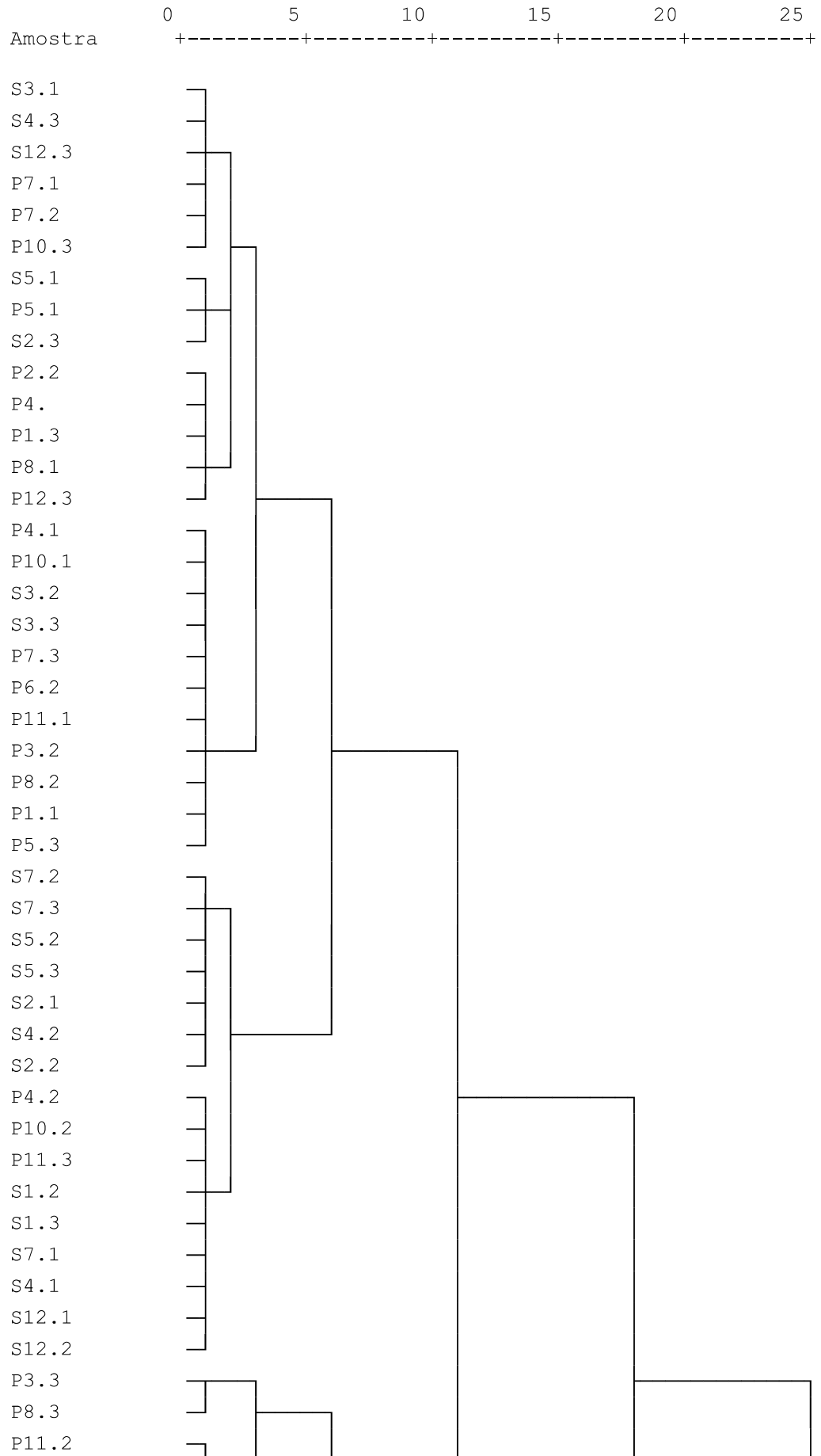


Figura 29. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as variáveis: média de dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb



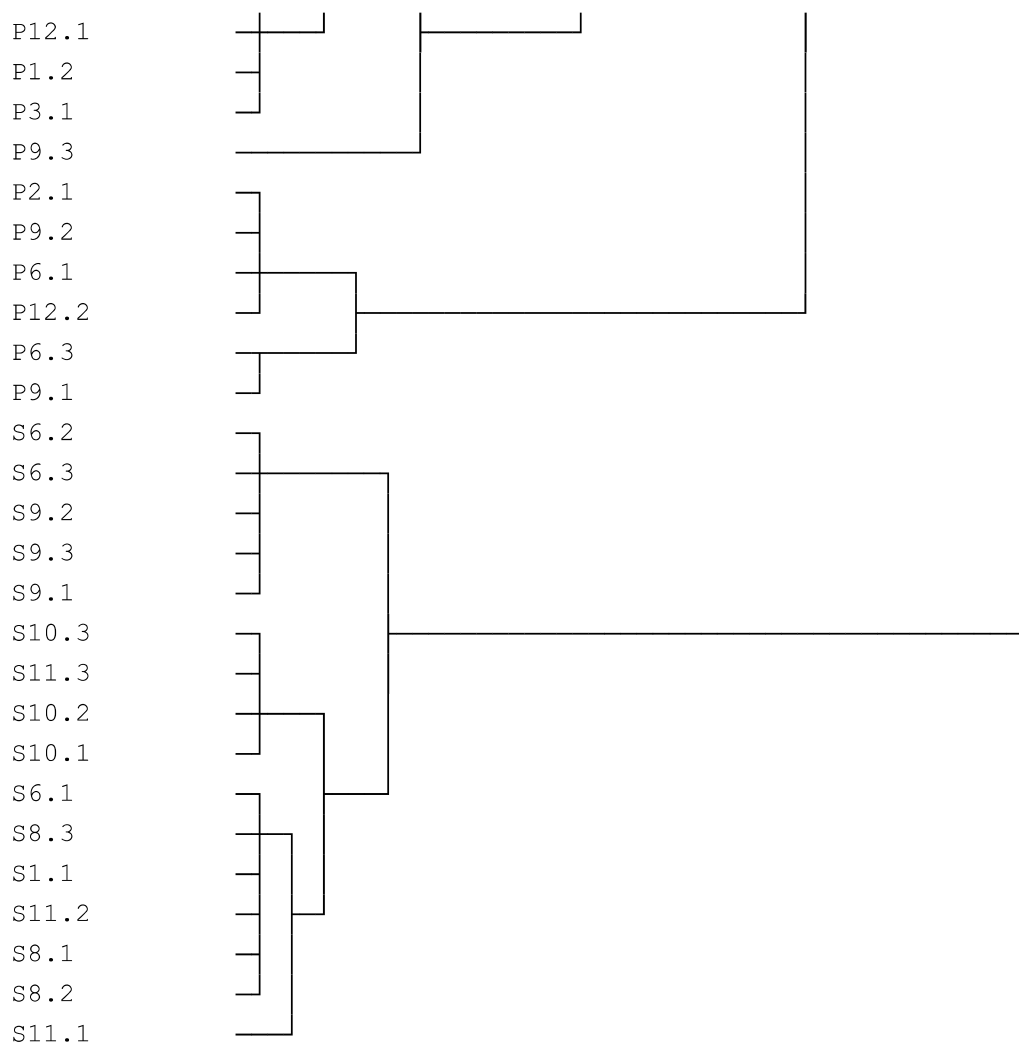


Figura 30. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras – média dos dados tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

A similaridade entre as médias das amostras pode ser observada na Figura 30. Nota-se que amostras do mesmo local ficaram melhor agrupadas em comparação com o dendrograma da Figura 14 e 25. Observamos que algumas amostras de planta e solo do mesmo local ficaram agrupadas, como dos locais 3, 4 e 5. Porém, os grupos ainda se separaram em plantas e solos.

Realizou-se também o tratamento dos dados de amostras de solo de todos os locais com amostra de planta de apenas um local para verificar a inserção da amostra no modelo gerado, e os dendrogramas são apresentados a seguir, nas Figuras 31-36.

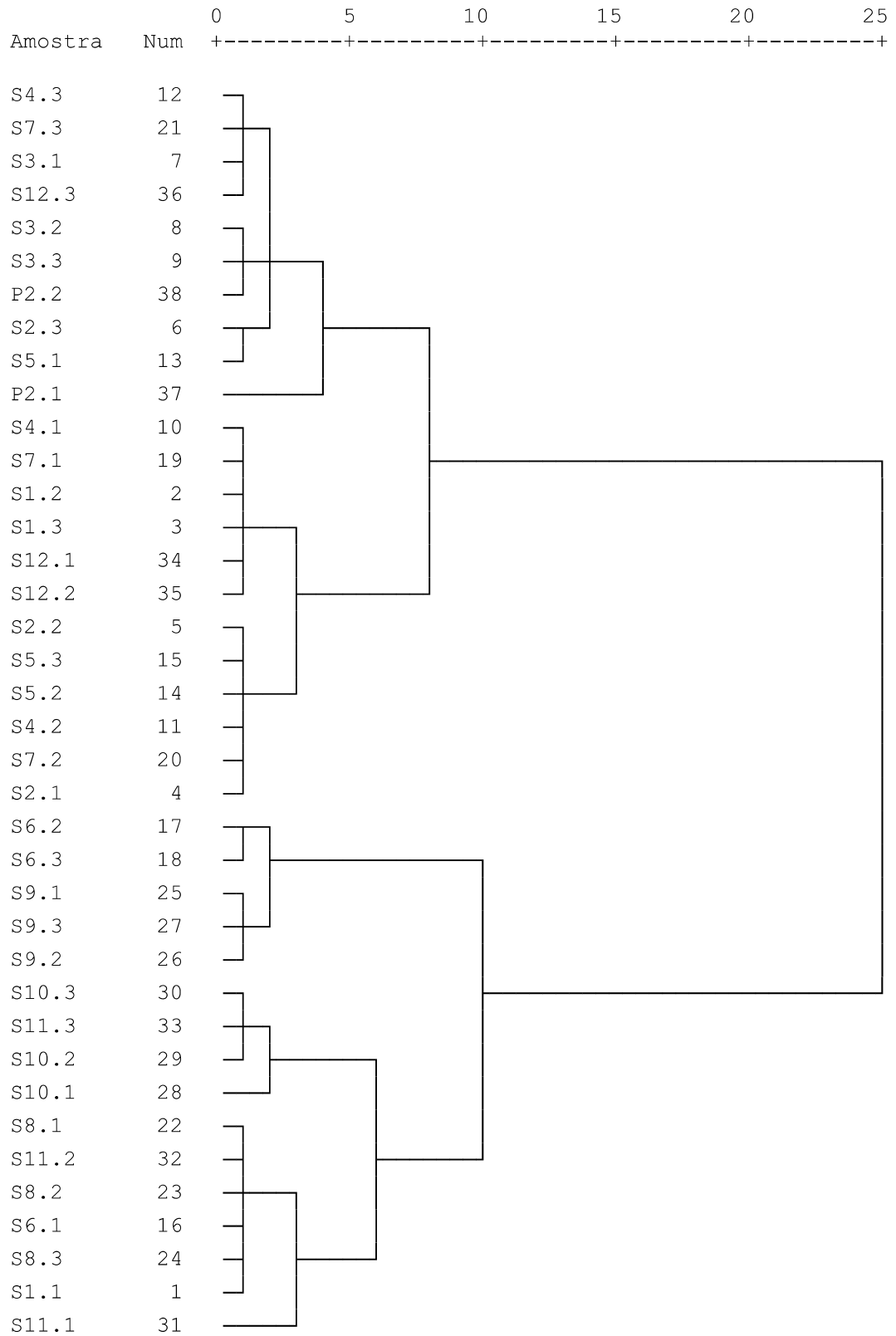


Figura 31. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 2 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

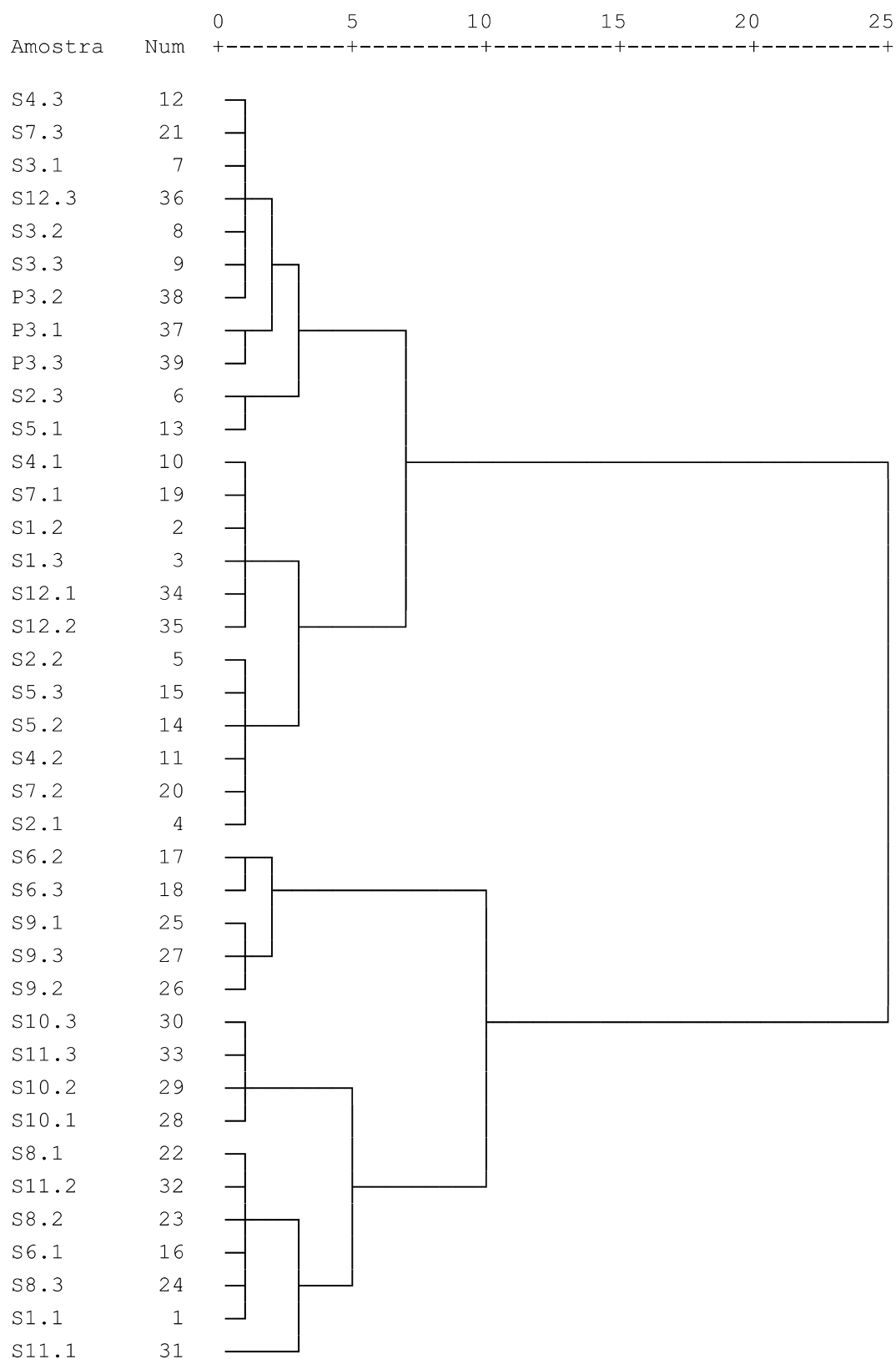


Figura 32. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras - média dos dados dos solos e plantas apenas do local 3 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

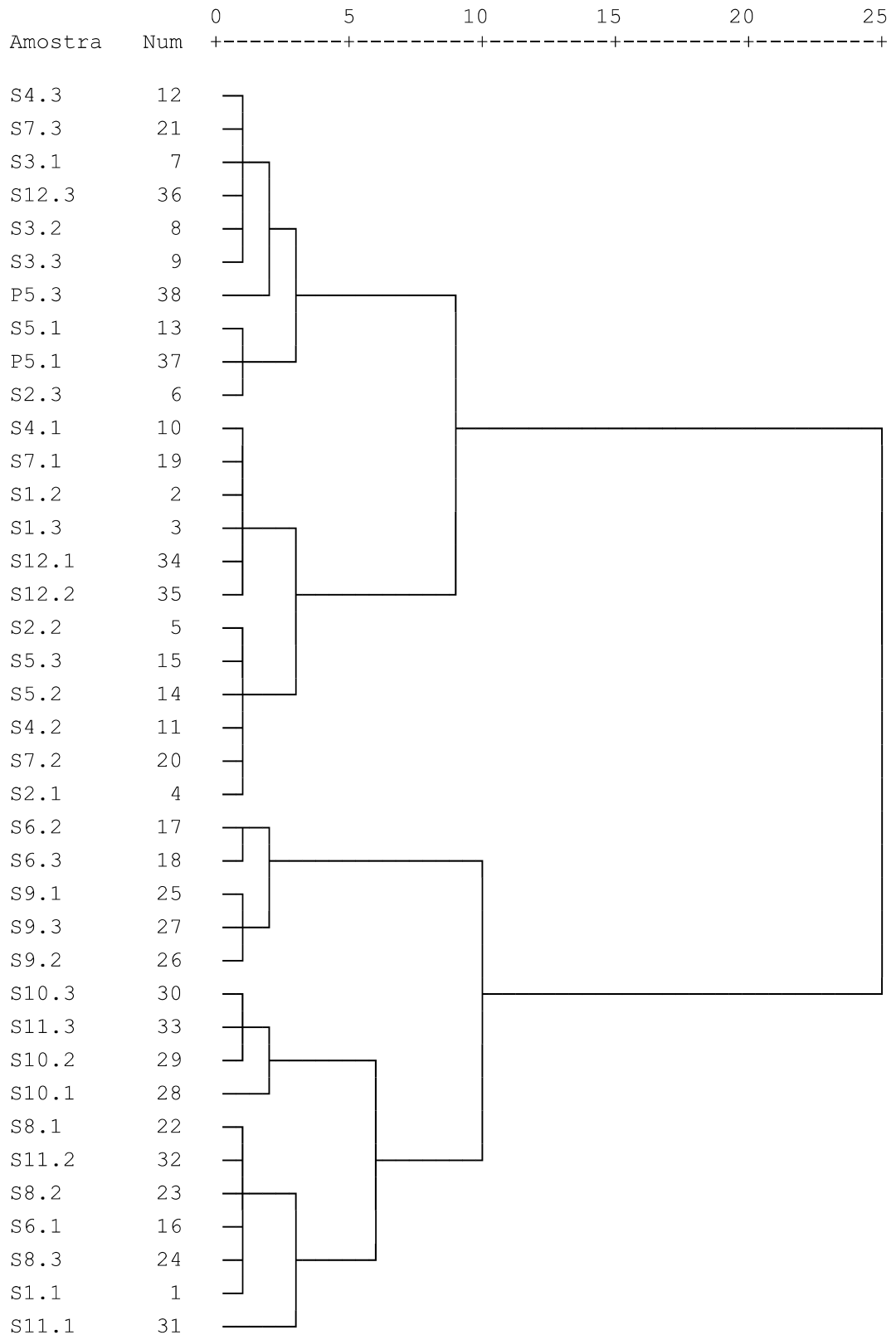


Figura 34. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras - média dos dados dos solos e plantas apenas do local 5 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

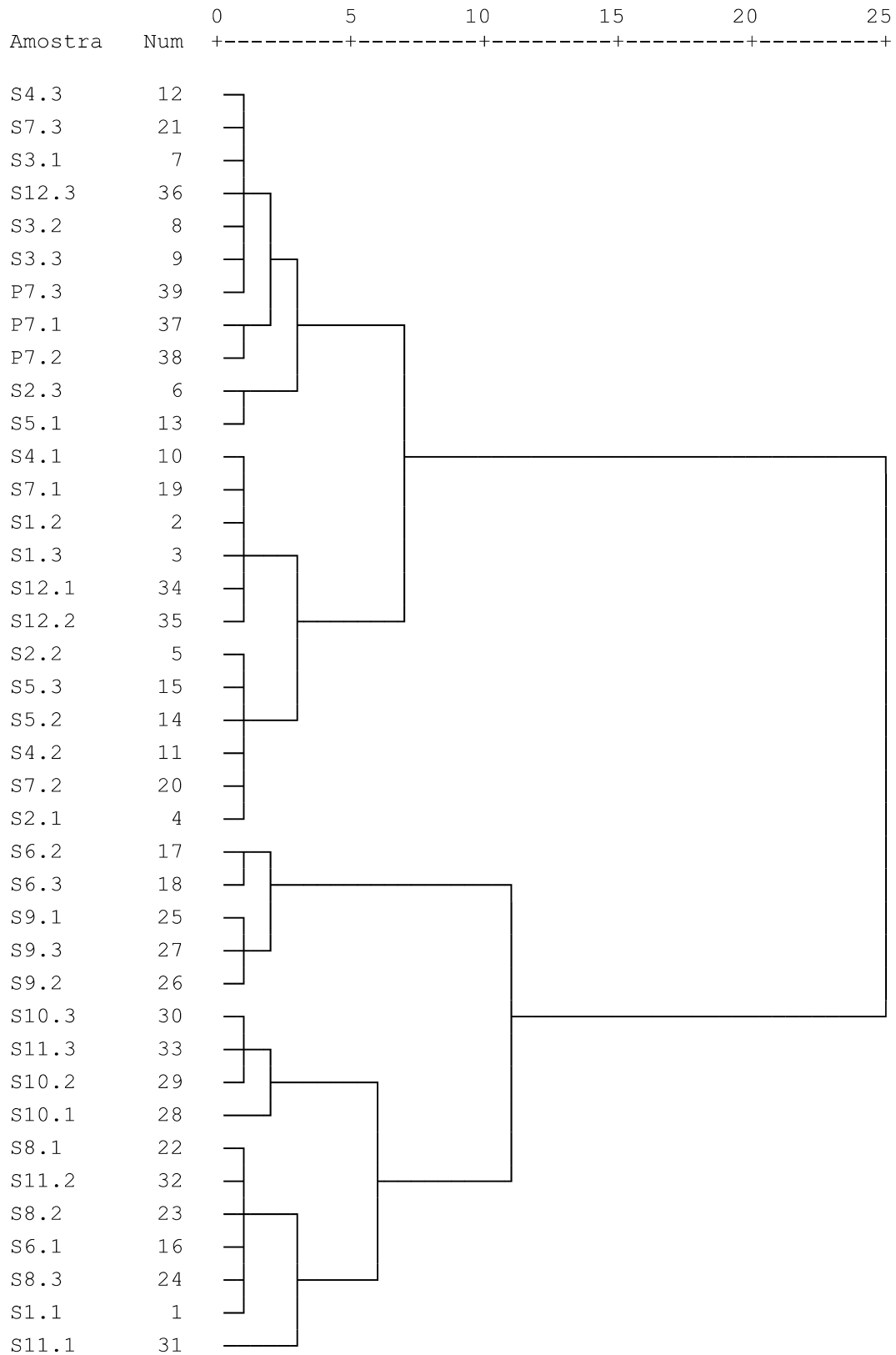


Figura 35. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 7 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

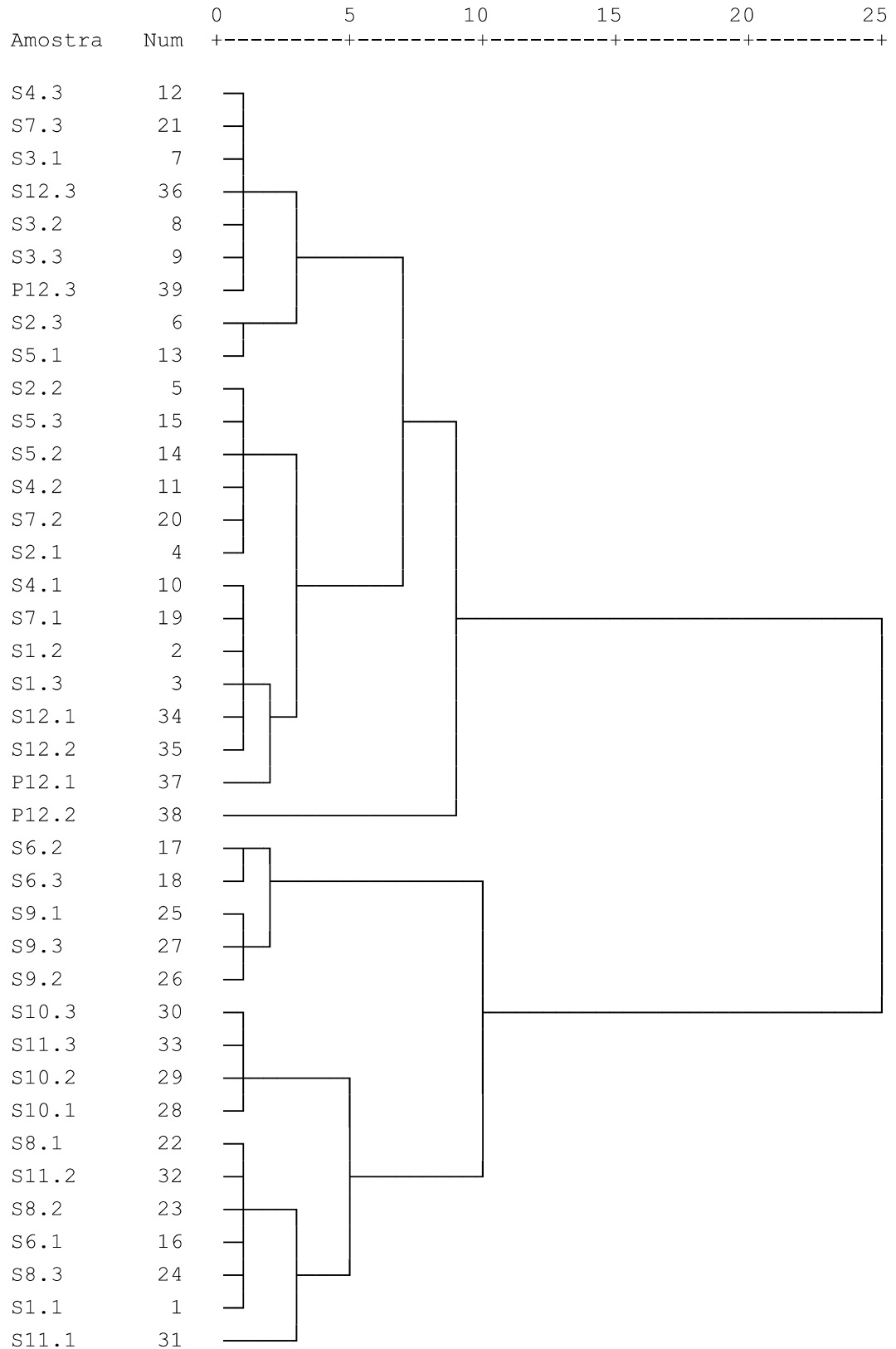


Figura 36. Dendrograma aplicando o método de Ward; agrupamento hierárquico - distância reescalada para as amostras – média dos dados dos solos e plantas apenas do local 12 tratados apenas com as variáveis relativas a isótopos de Pb

As amostras foram tratadas em separado com o objetivo de simulação de inserção de uma amostra de droga que por ventura tivesse sido apreendida. Nas Figuras 28-33 as amostras destacadas por similaridade com seus solos nos tratamentos antecedentes, puderam ser agrupadas conforme se observa na análise hierárquica. Assim, sugere-se um modelo de qualidade de solo, relativo às variáveis aqui escolhidas, e principalmente o chumbo de massas diversas e razão isotópica, para associar amostras de planta, neste caso a *Trema micrantha*, mas com o objetivo de selecionar *Cannabis sativa* e qualificar solos que possam ser buscados para o rastreamento de drogas. A amostra de droga apreendida poderá ser analisada quanto às variáveis pretendidas, e inserida no modelo estatístico gerado.

5. CONCLUSÕES

As amostras de solo foram caracterizadas quanto à sua composição, mostrando adequação para o cultivo da planta pois, apesar de possuírem uma composição mineralógica parecida e estarem localizadas no mesmo estado, apresentam diferenças entre si, como a granulometria e MO.

Os parâmetros da validação do método foram satisfatórias com exceção da exatidão que apresentou valores fora do esperado para o chumbo e cádmio. No entanto, como o método é de comparação relativa, não houve prejuízo para a interpretação dos resultados.

A análise estatística multivariada permitiu separar as amostras em grupos e observar as variáveis que têm maior influência sobre elas com base nas componentes principais. Os dados tratados apenas com os isótopos do Pb e suas razões isotópicas produziram um modelo estatístico que discriminou qualitativamente as amostras. Os dendrogramas resultantes do agrupamento hierárquico mostraram a similaridade entre as variáveis e a similaridade entre as amostras porém agrupando plantas em grupos diferentes dos solos. Na análise de dados das médias e tratadas apenas com isótopos de Pb foram melhor agrupados solos e plantas do mesmo local. Com os dendrogramas de solos e apenas amostra de planta de um local, foi possível agrupar algumas plantas no mesmo grupo do solo no qual foi cultivada, sendo melhor discriminatório do que os dendrogramas anteriores, pois as plantas, por conterem características similares ficavam agrupadas umas com as outras e os solos agrupados separadamente.

O ICP-MS proporciona uma análise rápida para determinar os metais presentes na planta e seus dados podem ser facilmente armazenados para referências futuras e quanto mais aprimorado esse tipo de base de dados facilitará a identificação da proveniência da planta e ajudará a rastrear seu local de crescimento. Apesar desse estudo não ter considerado as plantas ilícitas, no caso a *Cannabis sativa*, e sim uma planta bioquimicamente similar, a *Trema micrantha*, o método mostrou potencial para ajudar a solucionar um dos grandes problemas da área criminal do país, a partir da criação de um modelo estatístico, no qual deve ser aprimorado para poder inserir a amostra desejada e relacioná-la com determinado tipo de solo e conseqüentemente a região na qual foi cultivada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, C. Marisa, and M. Teresa SD Vasconcelos. "ICP-MS determination of strontium isotope ratio in wine in order to be used as a fingerprint of its regional origin." *J. Anal. At. Spectrom.* 16.6 (2001): 607-611.

Bandarra, Paulo M., et al. "Intoxicação experimental por *Trema micrantha* (Cannabaceae) em equinos." *Pesq. Vet. Bras* 31.11 (2011): 991-996.

Beebe, Kenneth R., Randy J. Pell, and Mary Beth Seasholtz. *Chemometrics: a practical guide*. Vol. 4. Wiley-Interscience, 1998.

Bermejo-Barrera, Pilar, et al. "A study of illicit cocaine seizure classification by pattern recognition techniques applied to metal data." *J. Forensic Sci.* 44 (1999): 270-274.

Besacier, Fabrice, et al. "Comparative chemical analyses of drug samples: general approach and application to heroin." *Forensic Sci. Int.* 85.2 (1997): 113-125.

Bettinelli, M., et al. "Determination of heavy metals in soils and sediments by microwave-assisted digestion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry analysis." *Analytica Chimica Acta* 424.2 (2000): 289-296.

Bievre, P. de. "Accurate isotope ratio mass spectrometry. Some problems and possibilities." *Adv. Mass Spectrom. Proceedings of the 7th international mass spectrometry conference held at Florence 30 August to 3 September 1976*. Vol. 7A. 1978.

Carlini, E. A., et al. "I Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 107 maiores cidades do país." São Paulo: Cebrid/Unifesp (2002).

Cheng, Hefa, and Yuanan Hu. "Lead (Pb) isotopic fingerprinting and its applications in lead pollution studies in China: a review." *Environmental Pollution* 158.5 (2010): 1134-1146.

da Silva Freddi, Onã, Antonio Sergio Ferraudo, and José Frederico Centurion. "Análise multivariada na compactação de um Latossolo Vermelho cultivado com milho." *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32.3 (2008): 953-961.

Daéid, Niamh Nic, and Ruth JH Waddell. "The analytical and chemometric procedures used to profile illicit drug seizures." *Talanta* 67.2 (2005): 280-285.

de Amorim, Isaac Lucena, Antonio Claudio Dadive, and Maria Madalena F. Chaves. "Morfologia do fruto e da semente, e germinação da semente de *Trema micrantha* (L.) Blum." (1997).

Ehleringer, James R., et al. "Geo-location of heroin and cocaine by stable isotope ratios." *Forensic Sci. Int.* 106.1 (1999): 27-35.

EMBRAPA. *Manual de Métodos de Análises de Solo*. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2. ed., 2011.

Ferreira, Edilene Cristina, Rodrigues, Silvia Helena Bonfim Gomes, Ferreira, Márcia Miguel Castro, Nóbrega, Joaquim Araújo, & Nogueira, Ana Rita Araujo. (2002). *Análise exploratória dos teores de constituintes inorgânicos em sucos e refrigerantes de uva*. *Eclética Química*, 27(spe), 77-90

Flanagan, Lawrence B., David S. Kubien, and James R. Ehleringer. "Spatial and temporal variation in the carbon and oxygen stable isotope ratio of respired CO₂ in a boreal forest ecosystem*." *Tellus B* 51.2 (1999): 367-384.

Leme, F. M., Teixeira, S. P. Flower development of Cannabaceae species using SEM. The 16th European Microscopy Congress, Lyon, France. <<http://emc-proceedings.com/abstract/flower-development-of-cannabaceae-species-using-sem>> Acesso em 18de outubro de 2016.

Florian, D., R. M. Barnes, and G. Knapp. "Comparison of microwave-assisted acid leaching techniques for the determination of heavy metals in sediments, soils, and sludges." *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 362.7-8 (1998): 558-565.

Fraga, Paulo Cesar Pontes. "Plantios ilícitos no Brasil: notas sobre a violência e o cultivo de cannabis no polígono da maconha." *Cadernos de Ciências Humanas–Especiaria, Ilhéus* 15 (2006): 95-118.

Fusar-Poli, Paolo, et al. "Distinct effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol on neural activation during emotional processing." *Arch. Gen. Psychiatry* 66.1 (2009): 95-05.

Galunin, Evgeny, et al. "Cadmium mobility in sediments and soils from a coal mining area on Tibagi River watershed: Environmental risk assessment." *Journal of Hazardous Materials* 265 (2014): 280-287.

Gomm, P. J., I. J. Humphreys, and N. A. Armstrong. "Physical methods for the comparison of illicitly produced tablets." *J. Forensic Sci.e Soc.* 16.4 (1976): 283-293.

Governo do Estado do Paraná/IAPAR/EMBRAPA/SUDESUL. Mapa de Levantamento do Reconhecimento dos Solos do Estado do Paraná. 1981 Disponível em <<http://www.geografia.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1538&evento=5>> . Acesso em 15 de abril de 2014.

Humphreys, I. J. "The work of the Drugs Intelligence Laboratory, Home Office Forensic Science Service." *Bull Narcotics* 36 (1984): 33.

Hurley, Janet M., Jason B. West, and James R. Ehleringer. "Stable isotope models to predict geographic origin and cultivation conditions of marijuana." *Sci. Justice* 50.2 (2010): 86-93.

Li, Fei-Li, et al. "Natural and anthropogenic lead in soils and vegetables around Guiyang city, southwest China: A Pb isotopic approach." *Sci. Total Environ.* 431 (2012): 339-347.

Marguí, E., et al. "Comparison of EDXRF and ICP-OES after microwave digestion for element determination in plant specimens from an abandoned mining area." *Analytica Chimica Acta* 549.1 (2005): 197-204.

Nascimento Filho, Virgílio F. "Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) e por reflexão total (TXRF)." Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (1999).

Nunes J. A. Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Ni, Pb e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino [doutorado]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2009

Pavan, Marcos Antonio. Manual de análise química de solo e controle de qualidade. No. 04; FOLLETO, 1846. 1992.

Resolução, R. E. "N 899, ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 29 de Maio de 2003." *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília DOU de 2.06 (2003).*

Ribani, Marcelo, et al. "Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos." *Química nova* 27 (2004): 771-780.

Sanches, Maria Cristina, et al. "Estudo comparativo do padrão de herbivoria sobre espécies de árvores com diferentes histórias de vida." *Resumo*, 8p ([http://www. ib.unicamp. br/profs/fsantos/ne313/2005/PC6. pdf](http://www.ib.unicamp.br/profs/fsantos/ne313/2005/PC6.pdf)) (2005).

Shibuya, Elisa K., et al. "Carbon and nitrogen stable isotopes as indicative of geographical origin of marijuana samples seized in the city of Sao Paulo (Brazil)." *Forensic Sci. Int.* 167.1 (2007): 8-15.

Shibuya, Elisa K., et al. "Sourcing Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples." *Forensic Sci. Int.* 160.1 (2006): 35-43.

Silva, F. C. da Silva, ed. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009.

Suzuki, Shin-Ichi, et al. "Analyses of impurities in methamphetamine by inductively coupled plasma mass spectrometry and ion chromatography." *J. Chromatogr. A* 437 (1988): 322-327.

Townsend, Ashley T., and Andrew J. Seen. "Historical lead isotope record of a sediment core from the Derwent River (Tasmania, Australia): A multiple source environment." *Science of the Total Environment* 424 (2012): 153-161.

Townsend, Ashley T., et al. "The determination of copper, zinc, cadmium and lead in urine by high resolution ICP-MS." *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13.11 (1998): 1213-1219.

Turner, Carlton E., Mahmoud A. Elsohly, and Edward G. Boeren. "Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the natural constituents." *J. Nat. Prod.* 43.2 (1980): 169-234.

United Nations Office on Drugs and Crime, World Drug Report 2014 (United Nations publication, Sales No. E.14.XI.7).

Valentin, Jean Louis. *Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos*. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

Venturin, Nelson, et al. "Avaliação nutricional da candiúva (*Trema micrantha* L. Blumes) em casa de vegetação." *Floresta, Curitiba* 29.1/2 (2000): 15-26.

Verweij, Anthonie MA. "Impurities in illicit drug preparations: amphetamine and methamphetamine." *Forensic Sci. Rev* 1.1 (1989): 1-11.

Watling, R. J. "Sourcing the provenance of *Cannabis* crops using inter-element association patterns 'fingerprinting' and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry." *J. of Anal. At. Spectrom.* 13.9 (1998): 917-926.

West, Jason B., et al. "The stable isotope ratios of marijuana. II. Strontium isotopes relate to geographic origin." *J. Forensic Sci.* 54.6 (2009): 1261-1269.

West, Jason B., Janet M. Hurley, and James R. Ehleringer. "Stable Isotope Ratios of Marijuana. I. Carbon and Nitrogen Stable Isotopes Describe Growth Conditions*." *J. Forensic Sci.* 54.1 (2009): 84-89.

West, Jason B., et al. "The stable isotope ratios of marijuana. II. Strontium isotopes relate to geographic origin." *J. Forensic Sci.* 54.6 (2009): 1261-1269.

West, Jason B., Janet M. Hurley, and James R. Ehleringer. "Stable Isotope Ratios of Marijuana. I. Carbon and Nitrogen Stable Isotopes Describe Growth Conditions*." *J. Forensic Sci.* 54.1 (2009): 84-89.