

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RAQUEL CAPILLA LOUREIRO ALVES DE SANTANA

A QUÍMICA DOS COGUMELOS ALUCINÓGENOS: Desenvolvimento de um
método de extração da substância psilocina em matrizes forenses.

Rio de Janeiro

2025

Raquel Capilla Loureiro Alves de Santana

**A QUÍMICA DOS COGUMELOS ALUCINÓGENOS:
Desenvolvimento de um método de extração da substância
psilocina em matrizes forenses.**

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química, Instituto de
Química, Universidade Federal do Rio
de Janeiro, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Gabriela Vanini Costa (IQ / UFRJ)

RIO DE JANEIRO

2025

CIP - Catalogação na Publicação

S232q Santana, Raquel Capilla Loureiro Alves de
A QUÍMICA DOS COGUMELOS ALUCINÓGENOS:
DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE EXTRAÇÃO DA
SUBSTÂNCIA PSILOCINA EM MATRIZES FORENSES. / Raquel
Capilla Loureiro Alves de Santana. -- Rio de
Janeiro, 2025.
101 f.

Orientador: Gabriela Vanini Costa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Programa de Pós Graduação em Química, 2025.

1. Cogumelos alucinógenos. 2. Psilocina. 3. Química Analítica. 4. CG-EM. I. Vanini Costa, Gabriela, orient. II. Título.

Raquel Capilla Loureiro Alves de Santana

A QUÍMICA DOS COGUMELOS ALUCINÓGENOS: DESENVOLVIMENTO DE
UM MÉTODO DE EXTRAÇÃO DA SUBSTÂNCIA PSILOCINA EM MATRIZES
FORENSES.

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química, Instituto de
Química, Universidade Federal do Rio
de Janeiro, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Aprovada por:

Gabriela Vanini Costa

Prof^a. Dr^a. Gabriela Vanini Costa (IQ/UFRJ)

Vinícius Kartnaller

Prof. Dr. Vinícius Tadeu Kartnaller Montalvão (IQ/UFRJ)

Marina Amaral Alves

Prof^a. Dr^a. Marina Amaral Alves (IPPN/UFRJ)

**Dedico esse trabalho à
minha mãe e meu pai que
sempre me aplaudiram tão
alto que mal pude perceber
quem não aplaudiu.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus e a todas as entidades e seres espirituais que têm me guiado e permitido trilhar o caminho que venho seguindo ao longo da vida.

Minha eterna gratidão aos meus pais, meus maiores companheiros, por sempre estarem ao meu lado com palavras de incentivo e um colo acolhedor quando mais precisei. Sem vocês, nada disso seria possível. Amo vocês de acabar o chão até acabar o céu.

Aos meus avós Beliene, Marlene e Zacarias, sou profundamente grata por todo o amor, carinho e apoio constantes. Que alegria é ter vocês ao meu lado para compartilhar cada conquista, seja pessoal ou profissional. Um agradecimento especial ao Ary, que está sempre presente, pronto para celebrar comigo a cada nova vitória.

Ao meu avô Lúcio (*in memoriam*), que permanece vivo em meus pensamentos. Tenho certeza de que está celebrando comigo este e todos os momentos felizes que ainda virão.

Aos meus amores de quatro patas – Zeca, Muquito, Barbie, Amiga e tantos outros – que me fizeram companhia nas noites viradas de escrita e estiveram comigo quando tudo o que eu precisava era de silêncio. Obrigada por tanto amor.

À Profª Drª Gabriela Vanini, meu agradecimento sincero por aceitar me orientar em mais essa etapa tão importante. Admiro profundamente o seu trabalho e sou grata por sua presença constante e por todo o tempo e dedicação aos seus alunos. É uma alegria enorme trilhar este caminho com você ao meu lado.

Não posso deixar de agradecer à pessoa que mais esteve comigo ao longo de todo o mestrado: obrigada, Ananda, por confiar em mim, por me ensinar, por me puxar de volta quando necessário, pelos comentários memoráveis na correção e pelos puxões de orelha. Tenho certeza de que, se consegui concluir essa etapa com tantos aprendizados, foi porque você esteve ao meu lado.

Aos amigos da faculdade, do teatro e da vida: Felippe, João, Raphael, Juliana, Andressa, Paula, Yan, Gabi, Raphaela, Larissa, Nado e Matheus –

vocês tornam a vida mais leve e me ajudam a acreditar mais em mim. Obrigada por tanto.

Aos colegas do laboratório, que sempre me aguentaram pedindo fotos para o Instagram, e que estiveram disponíveis para conversar, aconselhar e ensinar, meu carinho e gratidão. Um agradecimento especial à Vanessinha, minha parceira desde o início dos experimentos, que segue sendo minha duplinha de laboratório.

Aos técnicos Marcão, Vini, Marcelo, Thamara e Iasmin, obrigada por todo apoio e acolhimento, que tornaram a trajetória do mestrado mais leve e viável.

À Prof^a Dr^a Marina Amaral e ao Dr. Vinicius Kartnaller, agradeço imensamente por aceitarem compor minha banca e contribuírem com a melhoria do meu trabalho.

Agradeço à PCERJ pela disponibilização das amostras, bem como aos órgãos de fomento CAPES e CNPq pelo suporte financeiro.

Por fim, meu agradecimento aos professores do PGQu por todo o conhecimento compartilhado e aprendizado proporcionado ao longo dessa jornada.

RESUMO

Os cogumelos alucinógenos (CA) são drogas de abuso que afetam o sistema nervoso central. A substância psilocina (PSI) é a forma desfosforilada da psilocibina (PSB), sendo a responsável pelos efeitos alucinógenos dos cogumelos do gênero *Psilocybe*. Essas substâncias são termolábeis, o que dificulta a realização da extração por técnicas convencionais e análises através da cromatografia gasosa, limitando o desenvolvimento de processos específicos. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi desenvolver um método de extração da psilocina de CA utilizando a técnica de extração assistida por ultrassom com análise em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas *in Tandem* (CG-EM/EM). Para isso, foi avaliado o solvente e modificador para extração da PSI usando ferramentas estatísticas (ANOVA e Teste de Tukey). Os solventes avaliados foram: hexano, diclorometano, clorofórmio, acetona, acetato de etila e metanol; e os modificadores: hidróxido de amônio, ácido acético e ácido clorídrico. Em seguida, foi realizado um planejamento de experimentos fatorial fracionado (DoE) para análise das variáveis de tempo de extração (min), quantidade de ciclos de extração, proporção solvente:amostra (g:mL) e concentração do modificador (%). Todas as etapas de desenvolvimento e otimização usaram a área cromatográfica absoluta da Psi como variável- resposta. Por fim, foi realizada a análise qualitativa e quantitativa da PSI em 3 amostras de cogumelos comestíveis e 5 amostras de apreensão disponibilizadas pela Polícia Civil do Estado do Rio de Janeiro (PCERJ). A partir do DoE, as condições otimizadas de extração foram: 10 min de extração,

1 ciclo de extração, proporção de solvente:amostra de 5:1 (g:mL), e concentração do modificador em 6%. As concentrações encontradas para as amostras de apreensão variaram entre 0,0045 e 0,03279 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Não foi encontrado PSI em nenhum dos cogumelos comestíveis. Visto que a CG-EM/EM é a técnica mais empregada pela perícia, o método desenvolvido possibilita um aumento na quantidade de análises com maior sensibilidade analítica das amostras apreendidas pela PCERJ, viabilizando um melhor monitoramento de ocorrência de apreensões ilegais dessa matriz.

Palavras-chave: Psilocibina; Psilocina; Cromatografia gasosa; Espectrometria de massas; delineamento de experimentos.

ABSTRACT

Hallucinogenic mushrooms (HM) are drugs of abuse that affect the central nervous system. The substance psilocin (PSI) is the dephosphorylated form of psilocybin (PSB) and is responsible for the hallucinogenic effects of mushrooms of the *Psilocybe* genus. These substances are thermolabile, which hinders their extraction by conventional techniques and analysis through gas chromatography, limiting the development of specific processes. Therefore, the objective of this study was to develop a method for extracting psilocin from HM using ultrasound-assisted extraction followed by analysis through gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). To achieve this, solvents and modifiers were evaluated for the extraction of PSI using statistical tools (ANOVA and Tukey's HSD). The solvents tested were: hexane, dichloromethane, chloroform, acetone, ethyl acetate, and methanol; and the modifiers: ammonium hydroxide, acetic acid, and hydrochloric acid. Subsequently, a Design of Experiments fractional factorial (DoE) was conducted to analyze the variables: extraction time (min), number of extraction cycles, solvent-to-sample ratio (g:mL), and modifier concentration (%). All stages of development and optimization used the absolute chromatographic area of PSI as the response variable. Finally, qualitative and quantitative analyses of PSI were performed on three edible mushroom samples and five seized samples provided by the Civil Police of the State of Rio de Janeiro (PCERJ). Based on the DoE, the optimized extraction conditions were: 10 minutes of extraction, 1 extraction cycle, solvent-to-sample ratio of 5:1 (g:mL), and modifier concentration of 6%. The concentrations found in the seized samples ranged from 0.0045 to 0.03279 $\mu\text{g mL}^{-1}$. PSI was not detected in any of the edible mushroom samples. Considering that GC-MS/MS is the most commonly used technique in forensic analysis, the developed method enables an increase in the number of analyses with higher analytical sensitivity for samples seized by PCERJ, allowing for better monitoring of the occurrence of illegal seizures of this matrix.

Keywords: Psilocybin; Psilocin; Gas chromatography; Mass spectrometry; design of experiments.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma com as classificações das drogas e seus respectivos exemplos	17
Figura 2. Gráfico representativo da apreensão de cogumelos alucinógenos ao redor do mundo no período de 2018-2022.....	20
Figura 3. Ciclo de vida dos cogumelos.....	23
Figura 4. Imagem rupestre com possível representação de cogumelos da espécie <i>Psilocybe hispânica</i>	24
Figura 5. Síntese original de Hofmann para psilocibina.....	25
Figura 6. Gráfico com valores da produção de artigos na área de química ao redor do mundo com relação a psilocina, psilocibina e cogumelos alucinógenos de 2005 a 2025	27
Figura 7. Representação das formas de comercialização dos cogumelos alucinógenos (A) Cogumelo Fresco (B) Cogumelo seco (C) Cogumelo em pó em capsulas (D) Cogumelo seco utilizado no trabalho.....	28
Figura 8. Um exemplar de um cogumelo <i>Agaricus</i> com suas partes características ilustradas.....	28
Figura 9. Nuvem de palavras com as 50 mais citadas (título, abstract e palavras-chave) nas publicações realizadas entre 2020-2025. Dados adquiridos a partir de uma pesquisa no banco de dados Web of Science (Clarivate Analytics, Philadelphia, PA, Estados Unidos) usando os termos “Hallucinogenic mushrooms, psilocin e psilocybin”	30
Figura 10. Estrutura molecular da psilocibina, psilocina, serotonina e LSD.	33
Figura 11. Reação de desfosforilação da psilocibina se convertendo em psilocina.....	34
Figura 12. Diagrama de blocos da Cromatografia Gasosa (CG)	38
Figura 13. Diagrama de blocos do funcionamento do analisador de espectrometria de massas	39
Figura 14. Reação de derivatização da psilocina utilizando-se o MSTFA como derivatizante	40
Figura 15. Matriz de cogumelos alucinógenos desidratados adquiridos comercialmente para desenvolvimento do método	47

Figura 16. Amostras de cogumelos comestíveis (A-C) e de cogumelos apreendidos pelas PCERJ (D-H) que foram utilizadas para aplicação do método de extração desenvolvido. (A) Cogumelo Shimeji, (B) Cogumelo Funghi, (C) Cogumelo Shiitake, (D) Amostra de apreensão 01 (AP01), (E) Amostra de apreensão 02 (AP02), (F) Amostra de apreensão 03 (AP03), (G) Amostra de apreensão 04 (AP04), (H) Amostra de apreensão 05 (AP05). 48
Figura 17. Cogumelos na etapa de maceração (A) Amostra obtida comercialmente no triturador mecânico após maceração no gral e pistilo, (B) Amostra após segunda etapa de maceração com triturador..... 49
Figura 18. Cromatograma referente amostra de cogumelo alucinógeno obtida comercialmente apresentando a psilocina no t_R de 13,304 min..... 56
Figura 19. Espectro de massas da psilocina derivatizada e seus produtos da fragmentação..... 57
Figura 20. Diagrama de blocos com a comparação dos solventes utilizados em relação a área do pico cromatográfico da psilocina na amostra de cogumelo alucinógeno adquirida comercialmente 60
Figura 21. Solventes testados para extração da psilocina organizados em ordem crescente de polaridade e seus respectivos valores de constante dielétrica 61
Figura 22. Gráfico do Teste de Tukey de comparações múltiplas dos solventes utilizados para teste na extração da psilocina. A coloração vermelha indica as combinações que apresentam diferença significativa e a coloração preta não possui uma diferença significativa..... 62
Figura 23. Diagrama de blocos com os resultados obtidos a partir dos testes realizados dos solventes e modificadores..... 64
Figura 24. Gráfico de Pareto com a comparação dos parâmetros analisados no DoE com intervalo de confiança de 95%..... 69
Figura 25. Cromatograma da amostra de cogumelo alucinógeno obtida comercialmente no ano de 2023; t_R da psilocina = 13,42 realizado com as melhores condições de análise estudadas (1 ciclo de extração de 10 minutos, modificador na concentração de 6% e proporção de solvente:amostra de 5:1 (g:mL))..... 72
Figura 26. Curva analítica da psilocina..... 74

Figura 27. Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra A, de cogumelo comestível (<i>Shimeji</i>) obtida comercialmente no ano de 2023	75
Figura 28. Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra B, de cogumelo comestível (<i>Funghi</i>) obtida comercialmente no ano de 2024	76
Figura 29. Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra C, de cogumelo comestível (<i>Shiitake</i>) obtida comercialmente no ano de 2024	77
Figura 30. Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra D, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2021	78
Figura 31. Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra E, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2016	79
Figura 32. Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra F, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2021	80
Figura 33. Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra G, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2018	81
Figura 34. Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra H, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2016	82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Comparação dos trabalhos realizados para extração de psilocina em cogumelos alucinógenos	36
Quadro 2. Solubilidade da psilocina e psilocibina em alguns solventes orgânicos.....	58
Quadro 3. Representação das combinações de solvente extrator e modificadores testados e comportamento da psilocina com os mesmos	68

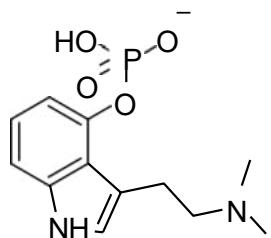
LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Solventes utilizados para extração da psilocina e massa de amostra de cogumelo obtido comercialmente pesada (mg) para o experimento	50
Tabela 2. Modificadores avaliados para extração da psilocina e suas respectivas concentrações (% v/v) utilizadas	51
Tabela 3. Combinações de solventes e modificadores testados para extração da psilocina e suas respectivas massas (mg) da amostra comercialmente adquirida.....	52
Tabela 4. Fatores e níveis avaliados no DoE para extração da psilocina	53
Tabela 5. Parâmetros utilizados no planejamento experimental	54
Tabela 6. Parâmetros cromatográficos utilizados para as análises no CG-EM/EM.....	55
Tabela 7. Valores de área, média e desvio padrão dos solventes testados utilizados para a geração do diagrama de blocos. Em cinza estão demarcados os valores de mediana.....	59
Tabela 8. Valores de área, média e desvio padrão das combinações de solvente e modificadores testados utilizados para a geração do diagrama de blocos	67
Tabela 9. Experimentos realizados pelo DoE com amostra de cogumelo alucinógeno adquirida comercialmente e os valores de média, desvio padrão e coeficiente de variação obtidos	71
Tabela 10. Amostras estudadas, ano de apreensão e concentração de psilocina identificada	83

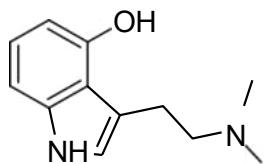
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variâncias (do inglês, <i>analysis of variance</i>)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CG	Cromatografia gasosa
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG-EM/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas <i>in Tandem</i>
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CL-EM	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
DCM	Diclorometano
DMS	Diferença mínima significativa
DoE	Planejamento de experimento (do inglês, <i>Design of experiment</i>)
EI	Ionização por impacto de elétrons (do inglês, <i>Electron ionization</i>)
ESI	Ionização por <i>electrospray</i> (do inglês, <i>Electrospray ionization</i>)
EUA	Estados Unidos da América
GDS	Pesquisa global sobre drogas (do inglês, <i>Global Drug Survey</i>)
H_0	Hipótese nula
H_a	Hipótese alternativa
LSD	Ácido Lisérgico da Dietilamida (do inglês, <i>Lysergic acid diethylamide</i>)
MeOH	Metanol
MRM	Monitoramento seletivo de reações
MSTFA	<i>N</i> -metil- <i>N</i> -(trimetilsilil) trifluoroacetamida
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCERJ	Polícia Civil do Estado do Rio de Janeiro
PSB	Psilocibina (4-fosforiloxi- N,N- dimetiltriptamina)
PSI	Psilocina (4-hidroxi- <i>N,N</i> -dimetiltriptamina)
SEPOL	Secretaria Estadual de Polícia Civil
SIM	Monitoramento seletivo dos íons
SNC	Sistema nervoso central
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
THC	Tetrahidrocanabidiol
UNODC	Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes (do inglês, <i>United Nations Office on Drugs and Crime</i>)

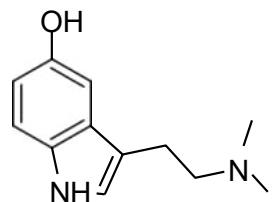
ESTRUTURAS QUÍMICAS DA PRINCIPAIS SUBSTÂNCIAS ESTUDADAS



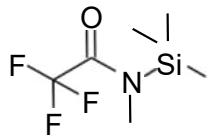
Psilocibina



Psilocina



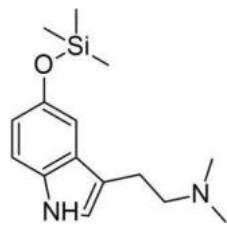
Bufotenina



MSTFA



Psilocina derivatizada
com MSTFA



Bufotenina derivatizada
com MSTFA

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 COGUMELOS	22
2.2 PERSPECTIVA HISTÓRICA	24
2.3 COGUMELOS ALUCINÓGENOS.....	27
2.4 PSILOCINA E PSILOCIBINA.....	33
2.5 ANÁLISES QUÍMICAS PARA A MATRIZ DE COGUMELOS ALUCINÓGENOS	36
2.5.1 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	37
2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	40
3 JUSTIFICATIVA.....	43
4 OBJETIVOS.....	45
5 EXPERIMENTAL	46
5.1 MATERIAL	46
5.2 EQUIPAMENTOS ANALÍTICOS	46
5.3 AMOSTRAS DE COGUMELOS (LEGAIS E ILEGAIS).....	47
5.4 PADRÕES ANALÍTICOS	48
5.5 PREPARO DE AMOSTRAS E OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO	49
5.6 AVALIAÇÃO DO SOLVENTE EXTRATOR	49
5.7 AVALIAÇÃO DE MODIFICADORES PARA O SOLVENTE EXTRATOR	51
5.8 TESTES ESTATÍSTICOS.....	52
5.9 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO DA PSILOCINA	53
5.10 ANÁLISES QUANTITATIVAS DE COGUMELOS ALUCINÓGENOS	54
5.11 ANÁLISE POR CG-EM/EM	55
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56

6.1 AVALIAÇÃO DO SOLVENTE EXTRATOR	57
6.2 AVALIAÇÃO DE MODIFICADORES PARA O SOLVENTE EXTRATOR	63
6.3 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO	68
6.4 QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE COGUMELOS ALUCINÓGENOS DE APREENSÃO.....	73
7 CONCLUSÃO	86
8 PERPECTIVAS FUTURAS	87
9 REFERENCIAS	88
APÊNDICE I.....	101

1 INTRODUÇÃO

O termo droga teve origem na palavra *droog*, proveniente do holandês antigo, cujo significado é folha seca, uma alusão ao fato de que, antigamente, quase todos os medicamentos eram à base de vegetais (CEBRID, 2010). A Organização Mundial de Saúde (OMS) define droga como sendo

“toda substância, natural ou sintética, capaz de produzir em doses variáveis os fenômenos de dependência psicológica ou dependência orgânica, sendo considerado um problema de saúde” (OMS, 1993).

Segundo a Portaria Nº.344/98 da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) o termo droga pode ser definido como “substância ou matéria prima que tenha finalidade medicamentosa ou sanitária” (Ministério da Saúde (SVS), 1998).

Existem diferentes formas de classificar as drogas podendo ser através do ponto de vista legal (lícita ou ilícita); forma de produção (natural, sintética ou semissintética); ou pelos efeitos que causam no sistema nervoso central (SNC) (estimulantes, depressoras ou perturbadoras) (**Figura 1**).

Figura 1 - Fluxograma com as classificações das drogas e seus respectivos exemplos.



Fonte: UNODC, 2023.

A diferença existente entre as drogas lícitas e ilícitas está baseada na sua legalidade. As drogas ilícitas têm sua produção e comercialização criminalizadas devido a sua periculosidade na sociedade e as lícitas podem ser controladas pelo governo ou não; em alguns casos são comercializadas em farmácias, por exemplo (Miracle House Foundation, 2024). Como exemplo de drogas lícitas temos os medicamentos, álcool e cigarro, e no caso das drogas ilícitas podemos citar a cocaína, maconha e heroína.

Drogas naturais são aquelas biossintetizadas por organismos da flora e fauna, como plantas ou fungos e, que são utilizadas sem a necessidade de reações químicas ou semelhantes. Essas drogas são utilizadas há muito tempo e incluem uma grande variedade de substâncias químicas (Raj; Rauniyar; Sapkale, 2023). Por outro lado, as drogas sintéticas são aquelas produzidas exclusivamente em laboratórios (UNODC, 2023), geralmente essas substâncias possuem efeitos mais potentes em menores doses (Mat Desa; Ismail, 2017). E as drogas semissintéticas são aquelas que possuem ocorrência na natureza, porém passam por processos laboratoriais para serem consumidas, como por exemplo o *crack* que provém da folha de coca.

No que tange os efeitos no SNC, as drogas classificadas como estimulantes são aquelas que geram um aumento de euforia e redução da fadiga no usuário induzindo um estado de alerta (Ciucă Anghel *et al.*, 2023). Seu mecanismo geral de ação é um aumento na ativação de vias estimulantes naturais do cérebro (UNODC, 2019a). Essas drogas são comumente utilizadas por caminhoneiros que precisam se manter ativos durante longas viagens, como por exemplo o *ecstasy* (Antoniassi *et al.*, 2016). Por outro lado, as drogas depressoras do SNC causam uma inibição, supressão ou redução da atividade cerebral deixando os usuários com as reações mais lentas (UNODC, 2019b). Como um grande exemplo desse tipo de efeito temos a ingestão de álcool que em 2024 foi responsável por 3.855 acidentes no Brasil (Agência Brasil, 2025), uma vez que quem consome tal substância fica com a ação de reflexo prejudicada. Por fim, as drogas alucinógenas, como o nome já descreve, ocasionam alterações nas percepções do usuário, induzindo a ocorrência de alucinações (UNODC, 2023). Essas drogas geram uma alteração no senso de identidade e do processamento afetivo (Vorobyeva; Kozlova, 2022).

Comumente as drogas alucinógenas exercem seus efeitos como agonistas (ou agonistas parciais) nos receptores de serotonina (Nichols, 2004). Vale ressaltar que algumas drogas podem pertencer a mais de um grupo dessa classificação, como é o caso do ácido lisérgico da dietilamida (LSD) que possui tanto efeitos estimulantes como alucinógenos (Cunha-Oliveira *et al.*, 2013).

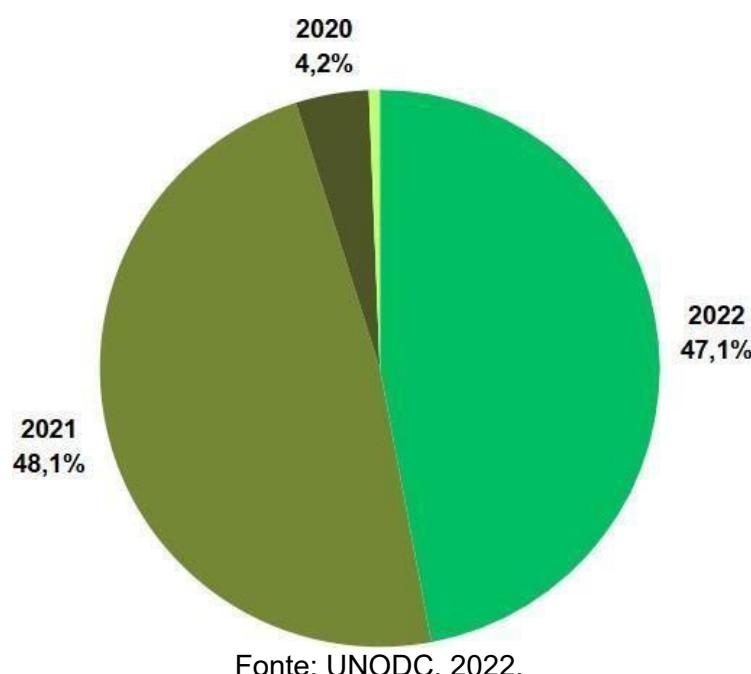
Todas as drogas causam uma dependência psicológica que faz com que seus usuários acreditem que precisam utilizar determinada substância para alcançar seu nível máximo de funcionalidade e se sentir bem (Zhou, 2021). Além disso, também há a dependência física (ou química) onde o corpo do indivíduo já se adaptou a receber constantes doses das drogas e consequentemente aumentam sua tolerância a elas, ingerindo cada vez maiores quantidades (Schuckit, 2000).

Os cogumelos alucinógenos são drogas naturais que alteram a percepção do usuário e são proibidos no Brasil apesar da existência de um vazio legal a ser abordado posteriormente. Eles têm sido muito utilizados pelos usuários que buscam uma experiência psicodélica. Em diversos casos, as pessoas optam por essa droga pois há uma crença popular que estas tenham um caráter mais benigno quando comparada as outras drogas psicodélicas como LSD, por exemplo (Matzopoulos *et al.*, 2022). Essa droga é frequentemente considerada menos perigosa por ser de origem natural, apresentar uma dose letal extremamente alta e possuir baixo potencial de causar dependência, especialmente quando comparados a outras drogas psicoativas. Porém deve-se levar em consideração o fato de elas servirem como porta de entrada para drogas com efeitos mais intensos e que causam uma dependência mais rápida e agressiva (Schuckit, 2000).

Apesar de sua fama popular de alto grau de segurança fisiológica e ausência de risco de dependência, os alucinógenos foram classificados pelas autoridades policiais como uma das drogas mais perigosas que existem, sendo incluídos na Lista I da Lei de Substâncias Controladas (Nichols, 2004). Essa classificação de perigo ocorre pelo fato de que essas drogas podem gerar um quadro de psicose prolongada, perda de julgamento, aumento na agressividade, vício psicológico e aumenta a chance de desenvolvimento de esquizofrenia (Nichols, 2024; UNODC, 2023).

Nos últimos anos, principalmente após a pandemia de COVID-19 houve um aumento exponencial do uso dessas substâncias alucinógenas. O oposto ocorreu com as apreensões de drogas derivadas de *Cannabis* e metanfetamina, que tiveram seus números de apreensões reduzidos após o início da pandemia e voltaram a aumentar após um tempo (Palamar *et al.*, 2024). Nos Estados Unidos da América (EUA), entre 2017 e 2022, foram apreendidos 4.380 kg de cogumelos em 4.526 apreensões feitas, sendo que dentre estas apreensões, 402 ocorreram em 2017, 443 em 2018, 539 em 2019, 673 em 2020, 1.073 em 2021 e 1.396 em 2022. Isso demonstra o crescimento no número de casos, o que evidencia a recente popularização dos cogumelos alucinógenos (Palamar *et al.*, 2024). O Relatório Mundial sobre Drogas 2021 (UNODC, 2021) divulgado pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC), avalia que a pandemia potencializou riscos de dependência, e, consequentemente houve um aumento nas apreensões de drogas onde os anos pós pandemia representam mais de 90% das apreensões de cogumelos realizadas mundialmente (**Figura 2**). Esse fator corrobora com os estudos realizados pela *Global Drug Survey* (GDS), que inclui o Brasil na lista de países onde houve um crescimento expressivo do consumo de drogas neste período (Oliveira, 2022).

Figura 2 - Gráfico representativo da apreensão de cogumelos alucinógenos ao redor do mundo no período de 2018-2022.



Os cogumelos alucinógenos possuem dois compostos em seu perfil químico molecular que causam os efeitos alucinógenos nos usuários, a psilocina (PSI) e psilocibina (PSB) (Kintz; Raul; Ameline, 2021; Zhou, 2021). Essas substâncias estão presentes em 25 gêneros de cogumelos, sendo o mais conhecido o *Psilocybe* (UNODC, 1989). A diferenciação de cogumelos alucinógenos dos que não possuem tais substâncias psicodélicas é difícil, pois não é possível realizar a identificação dessas espécies morfologicamente. Portanto, tem-se a necessidade do desenvolvimento de métodos analíticos que sejam capazes de identificar a presença de PSI e PSB de forma eficiente (Morita *et al.*, 2020).

As drogas em geral são um grande problema de saúde pública e, no caso dos cogumelos alucinógenos, essa questão por diversas vezes é negligenciada por serem consideradas substâncias menos problemáticas (Hinkle *et al.*, 2024).

Assim, se torna fundamental o estudo dos cogumelos alucinógenos para melhor regulamentação e controle dessas substâncias no país. Para que haja uma vigilância adequada do mercado de drogas no país é importante a existência de métodos analíticos otimizados e eficientes para identificação da PSB e PSI em amostras apreendidas possibilitando também a aplicação de políticas públicas para o controle do comércio dessas substâncias. Assim, essa pesquisa propõe o desenvolvimento de um método de extração e análise mais rápido e simples possibilitando a avaliação química dos cogumelos apreendidos com uma maior agilidade pela Polícia Civil do Estado do Rio de Janeiro (PCERJ) permitindo assim a diferenciação de espécies proibidas e reduzindo a impunidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 COGUMELOS

Os cogumelos, também denominados macromicetos, pertencem ao reino *Funghi* e são conhecidos há mais de 3.000 anos, pelos povos asiáticos. Basicamente os cogumelos são a frutificação dos fungos, a estrutura reprodutora (Hunn; Ramírez; Dávila, 2015). Todos os cogumelos são fungos, mas nem todo fungo é cogumelo. Os cogumelos não podem ser classificados como plantas porque não possuem sistema radicular e não possuem folhas, flores ou o principal constituinte das plantas, a clorofila, portanto são incapazes de acumular os compostos de carbono essenciais à vida (Phillips, 2006; Sarwar; Ph; Mcdonald, 2003). As plantas obtêm seu alimento por meio de raízes e folhas e por meio da fotossíntese, enquanto os cogumelos obtêm seu alimento ou nutrientes do ambiente circundante (Sarwar; Ph; Mcdonald, 2003). Estima-se que existam entre 2,2 e 3,8 milhões de cogumelos pelo mundo, sendo que dentre estes foram identificadas até o momento cerca de 14 a 22 mil cogumelos visíveis a olho nu (Hawksworth; Lücking, 2017). O cogumelo – ou, mais genericamente, o corpo de frutificação de um fungo- corresponde à estrutura reprodutiva multicelular (esporocarpo) desenvolvida a partir do micélio para produzir e dispersar esporos (Phillips, 2006).

Um fungo é composto por pequenos filamentos, as hifas, que se desenvolvem em uma fina rede denominada micélio que geralmente só pode ser visualizado com auxílio de microscópio. Resumidamente o ciclo de vida dos cogumelos tem quatro estágios: esporos, micélio, cabeça de alfinete ou primordial e o fruto maduro (**Figura 3**). Os esporos são as sementes dos fungos e o corpo de frutificação é o cogumelo como é popularmente conhecido e comercializado (Oliveira, 2022; Sarwar; Ph; Mcdonald, 2003).

Figura 3 - Ciclo de vida dos cogumelos.



Fonte: Dreamstime, 2025

Os cogumelos comestíveis são uma classe dos fungos que podem ser consumidos pelas pessoas e possuem um grande valor nutricional e medicinal (Wang; Zhao, 2023). Eles são usados pela medicina tradicional chinesa, com o objetivo de fortalecer e de promover maior resistência contra doenças. Além disso, são também considerados excelentes fontes proteicas, razão pela qual se constituem em alimentos especiais, consumidos não apenas por seu sabor e textura, mas também por seu valor nutricional e terapêutico (EMBRAPA, 2019). Os cogumelos também são fontes de vitamina B em abundância e possuem em menores quantidades a vitamina C (Wang; Zhao, 2023). Em decorrência da baixa produção e do elevado custo, os cogumelos não fazem parte da cultura nem da dieta alimentar cotidiana do povo brasileiro (EMBRAPA, 2019).

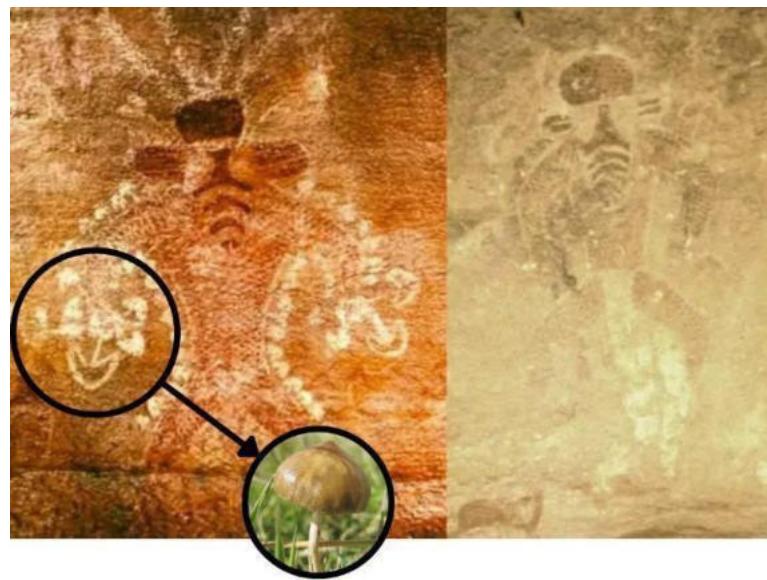
Apesar do grande valor medicinal e nutricional dos cogumelos comestíveis, existem também mais de 150 cogumelos que possuem atividade alucinógena e podem causar alterações na percepção e estado mental dos usuários (Guzmán, 2008; Phillips, 2006). Além dos cogumelos alucinógenos, também existem espécies tóxicas que, quando consumidas, podem levar um indivíduo à morte (alguns cogumelos venenosos apresentam dose letal a partir de 5 mg)

(He *et al.*, 2022), como ocorreu com o imperador romano Claudius (Tran; Juergens, 2023). Os cogumelos encontrados na natureza podem conter substâncias nocivas tornando essencial uma identificação precisa antes do uso, seja ele qual for.

2.2 CONTEXTO HISTÓRICO

Uma das primeiras representações de cogumelos é datada em 4.000 a.C em pinturas rupestres (**Figura 4**) localizadas em cavernas na Espanha. Há relatos também de pinturas em uma caverna no Deserto do Saara que datam 8.000 anos atrás que estariam representando o cogumelo da espécie *Psilocybe. mairei* Singer (Van Der Merwe *et al.*, 2024). Na imagem é possível identificar o que parece ser uma figura humana segurando cogumelos supostamente da espécie *Psilocybe hispânica* que possui propriedades alucinógenas.

Figura 4 - Imagem rupestre com possível representação de cogumelos da espécie *Psilocybe hispânica*.



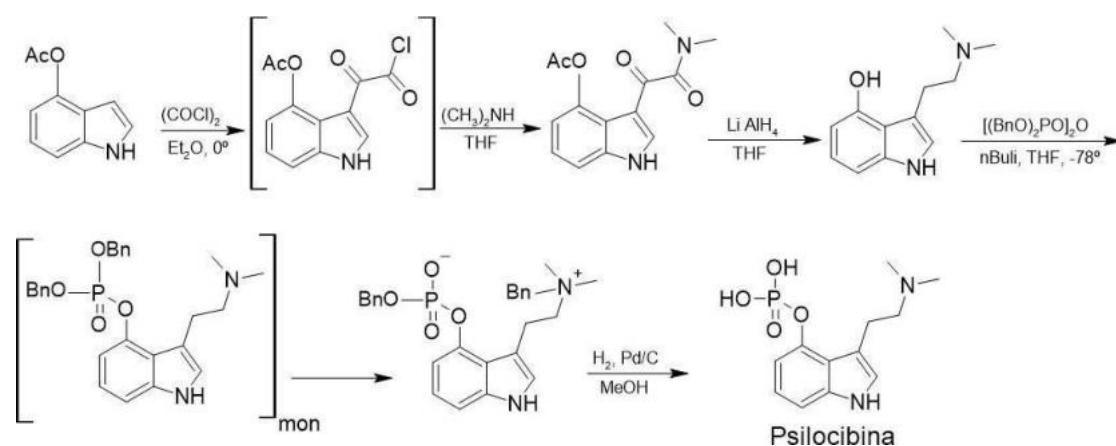
Fonte: Akers *et al.*, 2011.

Os primeiros relatos sobre os cogumelos alucinógenos são do México, nos séculos XVI e XVII, e mencionavam cogumelos que eram consumidos pelos indígenas desde os tempos antigos, durante cerimônias religiosas e por sacerdotes para adquirir poderes de clarividência (Hofmann *et al.*, 1959). Os cogumelos eram conhecidos nessa época como “a carne dos deuses” (Guzmán, 2008). Ao longo do tempo, lendas e mitos foram criados sobre os

cogumelos, sendo-lhes atribuído inclusive o *status* de divindade, tal como se verifica nos achados arqueológicos pré-colombianos e egípcios (EMBRAPA, 2019). Apesar de não existirem estudos que confirmam a origem dos cogumelos do gênero *Psilocybe*, é possível que eles sejam originários do continente africano (Van Der Merwe *et al.*, 2024).

Os cogumelos alucinógenos foram introduzidos na Europa da década de 1950 quando George Wasson os trouxe da Xamã Maria Sabino, da tribo Mazateca (Gotvaldová *et al.*, 2021). Em 1957 G. Wasson e sua esposa Valentina Pavlovna Wasson saíram em uma viagem ao México em busca desses cogumelos para estudos. Ao encontrarem com outros cientistas conseguiram obter novas informações e amostras, que foram enviadas a Albert Hoffman (descobridor dos efeitos do LSD) para serem analisadas (Nichols, 2020; Guzmán, 2008). Após diversos estudos, Hofmann conseguiu sintetizar isoladamente pela primeira vez, em 1958, o composto a ser nomeado psilocibina (**Figura 5**) (Pepe *et al.*, 2023), que foi o primeiro composto derivado de indol contendo fósforo de ocorrência natural a ser identificado (Hofmann *et al.*, 1959).

Figura 5 - Síntese original de Hofmann para psilocibina.



Fontes: Troxler; Seeman; Hofmann, 1959.

Hofmann também foi capaz de identificar um composto minoritário que posteriormente foi denominado psilocina. A quantificação dessas substâncias identificadas foi possível utilizando-se a técnica de espectroscopia no infravermelho e ultravioleta (Beug; Bigwood, 1981). A psilocina e psilocibina ao serem descritas por Hofmann eram os primeiros compostos indólicos encontrados na natureza que possuíam uma função hidroxila na posição 4

(Hofmann *et al.*, 1959). A principal diferença dessas duas substâncias é que a psilocina é a psilocibina desfosforilada e com isso, ela é pouco solúvel em água e se decompõe mais devagar quando comparado a psilocibina (Nichols, 2020).

O método de síntese da psilocibina mais utilizado é o descrito por Nichols e Frescas, 1999 (Eklund *et al.*, 2025; Nichols; Frescas, 1999), porém ela apresenta um problema na etapa final de fosforilação que tem um baixo rendimento. Com isso ainda é muito comum a obtenção dessas substâncias através da extração realizada diretamente dos cogumelos (Eklund *et al.*, 2025).

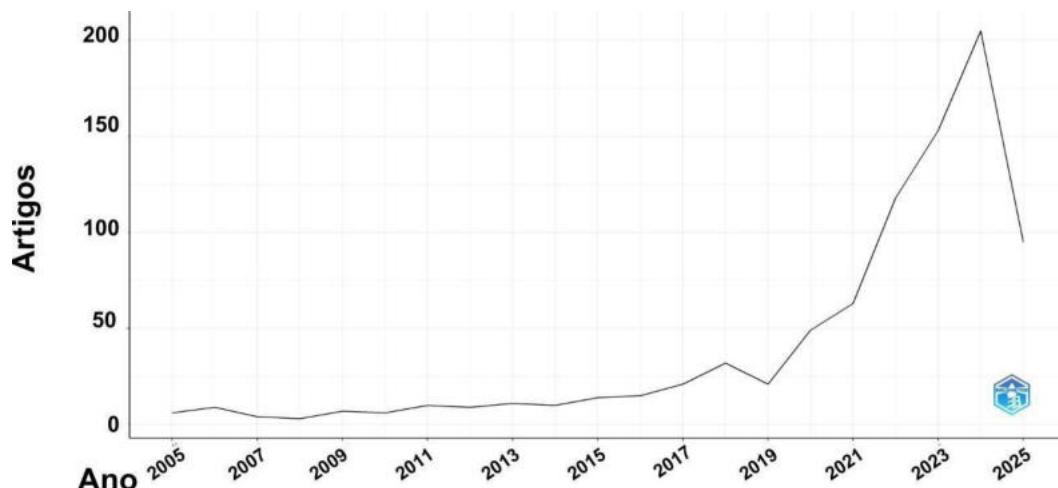
Plantas psicoativas já são utilizadas de forma recreativa há mais de 5.000 anos (Vorobyeva; Kozlova, 2022), mas os cogumelos alucinógenos se tornaram mais populares em 1960 nos EUA, quando foram descobertas suas possíveis funções medicinais. Um fator que auxiliou ainda mais na disseminação dessa substância com fins recreativos foi o movimento *hippie* em 1965 (Guzmán, 2008). Atualmente no Brasil existem diversos rituais religiosos que se utilizam de produtos naturais, podendo ser plantas ou cogumelos para experiências psicodélicas, o mais conhecido é o chá de *ayahuasca*, consumido em cerimônias na Amazônia, por exemplo (Nichols, 2004).

Nos anos de 2020 a 2025, houve um aumento nos estudos dos cogumelos alucinógenos com uma nova vertente, buscando-se o tratamento de doenças psicológicas (Matzopoulos *et al.*, 2022). A pandemia do COVID-19 foi outro fator que fez aumentar o consumo dessa droga principalmente entre os jovens adultos de 18 a 25 anos (CNN, 2025a; Galhego *et al.*, 2025; Zhou, 2021). O isolamento trouxe um aumento no nível de estresse social fazendo com que muitas pessoas recorressem a automedicação e utilização de drogas de forma recreativa para diminuição da ansiedade e depressão, tratamento de transtornos obsessivos compulsivos e para enxaquecas (Palamar *et al.*, 2024; Matzopoulos *et al.*, 2022; Gotvaldová *et al.*, 2021). Além disso houve um aumento na facilidade de obtenção dessas drogas através das “*smart shops*” que realizam as vendas de forma *online* (Mishraki-Berkowitz *et al.*, 2020; Nelson; Bryant; Aks, 2014).

Nos dias atuais tem-se aumentado os estudos com relação as drogas naturais, porém ainda há muito a se aprender a respeito da sua biologia, ecologia e histórico evolutivo. Nos anos de 2020 a 2024, através de pesquisas realizadas no *Web of Science*, observou-se um aumento considerável em

estudos químicos sobre os cogumelos alucinógenos e suas substâncias (**Figura 6**). As pesquisas, em sua maioria, visam a utilização dos cogumelos alucinógenos para o tratamento de depressão, transtornos de estresse pós-traumáticos, entre outros (Merino, 2022). Os cogumelos alucinógenos vem sendo um problema em ascensão em diversos países ao redor do mundo (Keller *et al.*, 1999). Esse problema associa-se principalmente ao fato já mencionado dessas drogas servirem como porta de entrada para substâncias mais agressivas aos usuários.

Figura 6 - Gráfico com valores da produção de artigos na área de química ao redor do mundo com relação a psilocina, psilocibina e cogumelos alucinógenos de 2005 a 2025.



Fonte: *Web of Science*, 2025

2.3 COGUMELOS ALUCINÓGENOS

O termo "psicodélico", usado pela primeira vez pelo psiquiatra Humphrey Osmond em uma carta de 1956 a Aldous Huxley, vem dos antigos termos gregos "*psyche*" (que significa "mente" ou "alma") e "*dēlein*" (que significa "revelar") (Raj; Rauniyar; Sapkale, 2023). Os cogumelos com efeitos psicodélicos, quando comercializados, são encontrados na sua forma fresca, seca, ou até mesmo em pó dentro de cápsulas (**Figura 7**) (Laussmann; Meier-Giebing, 2010). O consumo dessa droga é comumente feito via oral na forma de preparação à base de ervas ou fumado (Vorobyeva; Kozlova, 2022). A

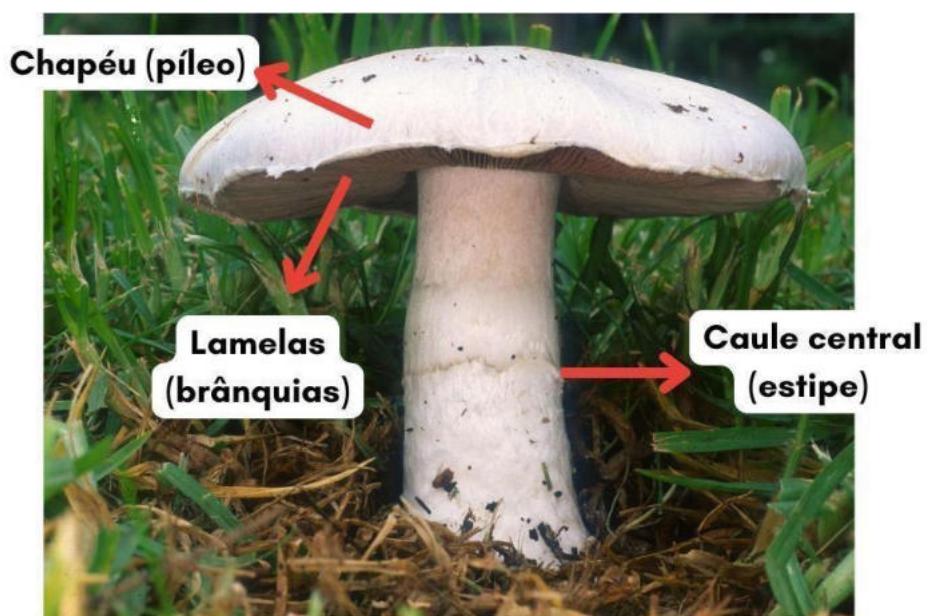
maioria dos usuários tem entre 20 e 25 anos e o consumo geralmente acontece de forma casual sem que se crie uma dependência na substância (Nichols, 2004).

Figura 7 - Representação das formas de comercialização dos cogumelos alucinógenos **(A)** Cogumelo fresco **(B)** Cogumelo seco **(C)** Cogumelo em pó em capsulas **(D)** Cogumelo seco utilizado no trabalho.



Os cogumelos alucinógenos até agora conhecidos pertencem, em sua maioria, as famílias *Hymenogastraceae* e *Strophariaceai*. Em geral, essas famílias são conhecidas por conter cogumelos que tem forma de guarda-chuva consistido de um chapéu sobre um caule central e estruturas radiais em formas de placas, as lamelas (**Figura 8**) (UNODC, 1989).

Figura 8 - Um exemplar de um cogumelo *Agaricus* com suas partes características ilustradas.



Fonte: Adaptado de *Wikipedia*, 2024.

Esses cogumelos comumente são do gênero *Psilocybe* (e.g, *Psilocybe cubensis*, *Psilocybe mexicana* e *Psilocybe lanceata*) pertencente à família *Strophariaceai* (UNODC, 1989), e popularmente são conhecidos como “cogumelos mágicos” (Morita *et al.*, 2020). O gênero *Psilocybe* apresenta mais de 140 espécies sendo pelo menos 80 delas conhecidas por apresentarem atividades psicotrópicas (UNODC, 1989). Algumas outras espécies de cogumelos dos gêneros *Panaeolous* (*Coprinaceae*), *Conocybe* (*Bolbitiaceae*), *Inocybe* (*Cortinariaceae*), *Gymnopilus*, *Stropharia*, *Pluteus* (*Pluteaceae*) e *Panaeolina* também já tiveram a comprovação de psilocibina e seu derivado desfosforilado, psilocina, na sua composição (Vorobyeva; Kozlova, 2022; Laussmann; Meier-Giebing, 2010; UNODC, 1989;). Outros análogos da psilocibina, conhecidos como *baeocistina* (3-[2-(Metilamônio)etil]-1H-indol-4-il hidrogenofosfato), *norbaeocistina* (3-(2-aminoetil)-1H-indol-4-il hidrogenofosfato) e *aeruginascina* ([3-[2-(Trimetilazônio)etil]-1H-indol-4-il]), também foram encontrados em cogumelos alucinógenos (Wieczorek *et al.*, 2015).

Os efeitos da utilização dos cogumelos alucinógenos podem ser sentidos a partir de 30 minutos após o consumo da substância. Esse tempo para alguns usuários pode acabar gerando uma superdosagem uma vez que ao não sentir os efeitos em um curto espaço de tempo as pessoas tendem a aumentar a dose da droga (Honyiglo *et al.*, 2019). Os alucinógenos não causam alterações fatais na função cardiovascular, renal ou hepática porque têm pouca ou nenhuma afinidade pelos receptores e alvos biológicos que intervém nas funções vegetativas vitais (Nichols, 2004).

Um estudo bibliométrico utilizando o banco de dados *Web of Science* (Clarivate Analytics, Philadelphia, PA, Estados Unidos) com os termos “*Hallucinogenic mushrooms*”, “*psilocin*” e “*psilocybin*”, e com auxílio do programa “RStudio”, evidenciou as 50 palavras com maior destaque (entre o título, resumo e palavras-chave) nas produções científicas voltadas para estudos químicos de cogumelos alucinógenos dos últimos 5 anos (período compreendido de 2020-2025). A partir da bibliometria (**Figura 9**) pode-se inferir quais os campos de estudos que mais vem sendo explorados nos últimos anos. As palavras mais mencionadas foram “*psilocybin*” (psilocibina), “*anxiety*”

(ansiedade), “*life-threatening cancer*” (câncer com risco de vida), LSD e “*depression*” (depressão). Essas palavras em destaque evidenciam a preocupação da comunidade científica da utilização desses cogumelos para o tratamento de doenças, principalmente as psicológicas. Pode-se observar também em destaque as palavras “*mass spectrometry*” (espectrometria de massas), “*liquid-chromatography*” (cromatografia líquida), “*identification*” (identificação) e “*validation*” (validação). Todas essas palavras estão relacionadas a análises químicas voltadas para estudos com a psilocina. A cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas é uma das técnicas que também apresenta bons resultados de análise da psilocina, uma vez que não são utilizadas altas temperaturas durante a injeção. Além disso, a identificação da psilocina é necessária para que possa haver a distinção dos cogumelos alucinógenos dos comestíveis e para isso é necessário o desenvolvimento e validação de métodos analíticos eficazes.

Figura 9 - Nuvem de palavras com as 50 mais citadas (título, abstract e palavras-chave) nas publicações realizadas entre 2020-2025. Dados adquiridos a partir de uma pesquisa no banco de dados Web of Science (Clarivate Analytics, Philadelphia, PA, Estados Unidos) usando os termos “Hallucinogenic mushrooms, psilocin e psilocybin”.



Fonte: *Web of Science*, 2025

Os cogumelos alucinógenos foram considerados a droga menos nociva entre outras 19 substâncias ilegais em termos de dependência, efeitos adversos agudos e crônicos, prevalência, danos sociais e criminais, segundo Honyiglo *et al.*, 2019. No Brasil temos a legislação a respeito de drogas que determina na Lei Nº. 11.343/06 Art.31 que:

“é indispensável a licença prévia da autoridade competente para produzir, extrair, fabricar, transformar, preparar, possuir, manter em depósito, importar, exportar, reexportar, remeter, transportar, expor, oferecer, vender, comprar, trocar, ceder ou adquirir, para qualquer fim, drogas ou matéria-prima destinada à sua preparação, observadas as demais exigências legais”

e no Art.33 tem-se que:

“Importar, exportar, remeter, preparar, produzir, fabricar, adquirir, vender, expor à venda, oferecer, ter em depósito, transportar, trazer consigo, guardar, prescrever, ministrar, entregar a consumo ou fornecer drogas, ainda que gratuitamente, sem autorização ou em desacordo com determinação legal ou regulamentar. §1º Nas mesmas penas incorrem quem: I- Importa, exporta, remete, produz, fabrica, adquire, vende, expõe à venda, oferece, fornece, tem em depósito, transporta, traz consigo ou guarda, ainda que gratuitamente, sem autorização ou em desacordo com determinação legal ou regulamentar, matéria prima, insumo ou produto químico destinado à preparação de drogas. II- Semeia, cultiva, ou faz colheita, sem autorização ou em desacordo com determinação legal ou regulamentar, de plantas que se constituam em matéria-prima para a preparação de drogas”.

Na lista F que foi criada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com objetivo de regularizar as substâncias de uso proscrito (proibida) no Brasil contém na listagem F2 as substâncias:

“166. Psilocibina ou fostato dihidrogenado de 3-[2-(dimetilaminoetil)]indol-4-ilo
167. Psilocina ou Psilotsina ou 3-[2-(dimetilamino)etil]indol-4-ol”

Há um “vazio legal” quando falamos dos cogumelos uma vez que os mesmos não são classificados como plantas e sim fungos, e com isso não se

enquadram na lei citada acima (Nº.11.343/06) no Art.33 parágrafo II. Portanto os cogumelos em si, mesmo que contendo as substâncias proscritas (psilocibina e psilocina) não poderiam ser criminalizados uma vez que não são proibidos em lei. A legislação brasileira acaba criando uma ambiguidade que pode causar divergências nas interpretações legais.

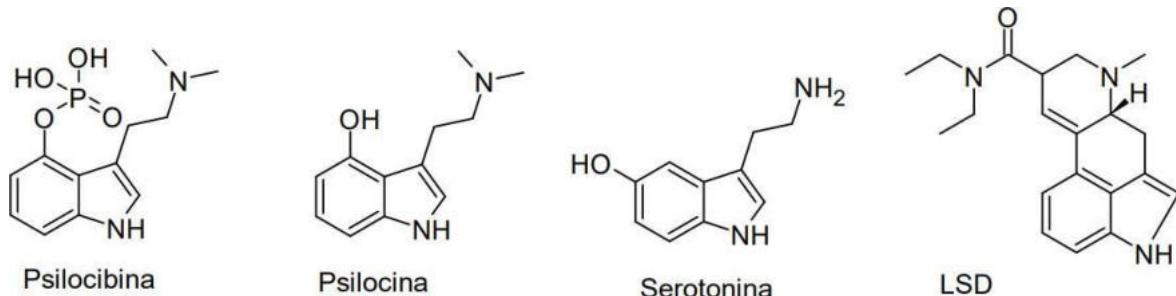
Em setembro de 2024 foi noticiado a prisão de um homem que possuía um laboratório onde manipulava cogumelos alucinógenos e fazia cápsulas desses produtos. O homem foi preso em flagrante após a identificação de psilocina, a confirmação da presença da substância foi realizada pela polícia técnico científico de Goiás, estado onde ocorreu o caso (CNN, 2025b). Por outro lado, em um caso ocorrido em abril de 2025 relata-se um homem que cultivava cogumelos alucinógenos e foi inocentado em segunda instância. Nesse caso, houve a acusação de tráfico de drogas devido à identificação do cultivo de substância ilegal, sendo realizada em Mato Grosso do Sul. Porém, o cultivador alegou não saber se tratar de cogumelos proibidos e os advogados do acusado utilizaram-se do argumento de não existir a proibição de cogumelos alucinógenos na legislação brasileira e a ambiguidade da lei, garantindo assim a inocência do acusado (Carta Capital, 2024). Com esses casos podemos observar a existência de uma falha na legislação brasileira que impede um controle adequado da comercialização e consequente uso dessas substâncias (Governo Federal, 2024). Esses fatos demonstram a importância da inclusão de forma correta dos cogumelos na legislação possibilitando assim uma melhor vigilância dessa droga e punição dos envolvidos.

2.4 PSILOCINA E PSILOCIBINA

A psilocibina (PSB), ou 4-fosforiloxi-N,N-dimetiltriptamina, é uma triptamina alcalina de fórmula $C_{12}H_{17}N_2O_4P$ e massa molecular de 284,25 g mol⁻¹ (Pubchem, 2005a). A psilocina (PSI), ou 4-hidroxi-N,N-dimetiltriptamina, também é uma triptamina alcalina que possui um grupo hidroxi na posição 4, sua fórmula molecular é $C_{12}H_{16}N_2O$ e massa molecular de 204,27 g mol⁻¹ (Pubchem, 2005b). Essas duas substâncias alucinógenas possuem uma

estrutura molecular semelhante a serotonina (5-hidroxitriptamina), que é um neurotransmissor envolvido em manifestações comportamentais como agressividade, apetite e sono (Wieczorek *et al.*, 2015; Rossato, 2008) e que também se assemelham ao LSD por serem da mesma classe de triptaminas (Honyiglo *et al.*, 2019) (**Figura 10**).

Figura 10 - Estrutura molecular da psilocibina, psilocina, serotonina e LSD.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

A PSI é uma substância com efeitos psicoativos de ocorrência natural e é encontrada com a PSB em cogumelos alucinógenos. Geralmente essas substâncias estão presentes em baixas quantidades nessas matrizes. A PSB é inativa na sua forma original, mas quando aquecida ou exposta a condições ácidas, como no estômago, ocorre a desfosforilação gerando a PSI (**Figura 11**) (Kintz; Raul; Ameline, 2021). A psilocibina se degrada em psilocina em casos de altas temperaturas e elevadas variações nos valores de pH, acima de 8 ou abaixo de 6 (Gutman; Tenne; Bretler, 2023).

Figura 11 - Reação de desfosforilação da psilocibina se convertendo em psilocina.



Fonte: Chen *et al.*, 2025

A psilocina é o verdadeiro agente farmacologicamente ativo presente nos cogumelos (Hasler *et al.*, 1997). Ambas as substâncias possuem baixa estabilidade quando expostos a luz e temperaturas elevadas (Wieczorek *et al.*, 2015). A PSB é muito lábil e sua degradação pode ocorrer mesmo quando a substância está armazenada a -80 °C (Kintz; Raul; Ameline, 2021). Em estudos realizados por Kintz (2021), ao analisar cabelos humanos, apenas a psilocina era identificada devido à instabilidade da psilocibina. Devido a este fator, a PSI deve ser analisada na sua forma derivatizada possibilitando a redução das consequências de degradação (Kintz; Raul; Ameline, 2021).

A PSI e PSB são consideradas ilegais na maioria dos países tendo como exemplo o Reino Unido, Canadá, Alemanha e Austrália. Nos cogumelos alucinógenos secos, esses alcaloides estão presentes na concentração de 1-2% sendo a concentração de psilocibina superior à de psilocina (Laussmann; Meier-Giebing, 2010). Nas espécies *P. semilanceata* (cogumelo da liberdade) e *P. cubensis* (cogumelo dourado) há relatos da presença de psilocibina em quantidades de 2 a 16 mg g⁻¹ de peso seco e de psilocina até 10 mg g⁻¹ de peso seco (Ojanperä, 2008).

Um estudo realizado para determinar a farmacocinética da psilocibina em humanos mostrou uma rápida desfosforilação da psilocibina em psilocina com posterior metabolização em 4-hidroxitriptofol e ácido 4-hidroxiindol-3-acético (Cody, 2008). Essas substâncias estão associadas aos efeitos alucinógenos dos cogumelos, atuando como agonistas parciais nos receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, dopaminérgicos e adrenérgicos e serotoninérgicos (Polo-Castellano *et al.*, 2022; Lim; Wasywich; Ruygrok, 2012).

A psilocibina é absorvida no trato gastrointestinal e seus efeitos fisiológicos começam cerca de 10 a 30 minutos após a ingestão e podem durar de 2 a 6 horas (Honyiglo *et al.*, 2019). A PSB é ativa por via oral, com doses efetivas na faixa de 6 a 20 mg. Os maiores efeitos psicológicos ocorreram cerca de 80 minutos após a administração. Da substância e coincidem com o pico de concentração plasmática de psilocina (Nichols, 2004). A toxicidade da psilocina é baixa (LD₅₀= 280 mg kg⁻¹ em ratos), de modo que para uma pessoa de 60 kg seria necessária a ingestão de 17kg de cogumelos frescos para atingir essa

dose (Honyiglo *et al.*, 2019; Lim; Wasywich; Ruygrok, 2012). Dentre os efeitos mais comuns na ingestão de cogumelos alucinógenos pode se destacar náusea, vômito, taquicardia, hipertermia, ataxia, fraqueza, sonolência, transpiração intensa e em alguns casos raros, convulsões (Nelson; Bryant; Aks, 2014; Curry; Rose, 1985). Mortes causadas por cogumelos alucinógenos são raras, porém, existem diversos relatos de mortes indiretamente causadas pela utilização dessas substâncias (Honyiglo *et al.*, 2019; Ojanperä, 2008). Existem informações recentes da identificação de tetrahidrocanabidiol (THC) em cogumelos alucinógenos, o que nos alerta de que essas drogas podem estar sendo contaminadas ou adulteradas (Mishraki-Berkowitz *et al.*, 2020).

Segundo Curry (1985), tem-se o estudo de caso de um homem de 30 anos que, supostamente, alegou ter injetado de forma intravenosa um volume indeterminado de cogumelo fresco do gênero *Psilocybe* em uma festa. Os cogumelos frescos foram aquecidos e espremidos e o “suco” obtido foi colocado em uma seringa e injetado no usuário. Uma análise de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foi feita em algumas amostras retiradas do paciente, mas não foi viável a identificação da psilocina ou psilocibina na técnica. Como já era esperado, as elevadas temperaturas utilizadas na análise por cromatografia gasosa provocam a degradação da psilocina, o que impede sua identificação e, no caso em questão a PSI não foi localizada na amostra (Curry; Rose, 1985). Através desse caso pode-se notar a relevância de uma técnica eficiente para detecção da psilocina em análises realizadas no CG-EM uma vez que a mesma foi utilizada e não possibilitou a identificação da substância ilegal.

2.5 ANÁLISES QUÍMICAS PARA A MATRIZ DE COGUMELOS ALUCINÓGENOS

Os trabalhos que vem sendo desenvolvidos para extração e identificação da psilocina em cogumelos alucinógenos ainda são muito escassos quando comparados ao número de apreensões, com longos tempos de extração -em alguns estudos - (mais de 2 horas) e análise, além do uso de modificadores e solventes que não apresentam os melhores resultados de extração (**Quadro 1**).

Quadro 1. Comparação dos principais trabalhos realizados para extração de

psilocina em cogumelos alucinógenos.

Solvente	Modificador	Método de extração	Tempo de extração	Referência
Clorofórmio	MSTFA	Ultrassom	15 minutos	(Keller <i>et al.</i> , 1999)
Acetato de etila	---X---	Ultrassom	30 minutos	(Saito <i>et al.</i> , 2004)
Metanol	---X---	Ultrassom	60 minutos	(Laussmann; Meier-Giebing, 2010)
Metanol	---X---	Ultrassom	3 horas	(Zhuk <i>et al.</i> , 2015)
Metanol	Água	Maceração	---X---	(Lenz <i>et al.</i> , 2020)
Diclorometano	Hidróxido de amônio	Maceração	---X---	(Gutman; Tenne; Bretler, 2023)
Metanol	Ácido acético	Maceração	---X---	(Goff <i>et al.</i> , 2024)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025

Análises de produtos naturais, como é o caso dos cogumelos, sempre apresentam um problema inerente da matriz que é sua grande complexidade devido a presença de muitos compostos, sendo necessário a realização de um processo extrativo seletivo. Entre as técnicas mais utilizadas, pode-se destacar o ultrassom (**Quadro 1**).

O ultrassom apresenta bons resultados na extração dos cogumelos quando comparado com a maceração (Zhuk *et al.*, 2015; Laussmann; Meier-Giebing, 2010; Saito *et al.*, 2004; Keller *et al.*, 1999), e utiliza a energia cinética para separar os analitos da matriz complexa através da destruição da parede celular de matrizes biológicas (Pingret; Tixier; Sylvie; Chemat, 2013). O ultrassom é capaz de produzir efeitos físicos e químicos no meio facilitando e/ou acelerando reações químicas. Além disso, essa técnica possui a vantagem de ser mais rápida, barata e efetiva que outras já reportadas na literatura (por exemplo, extração em fase sólida e extração em fase líquida) (Wieczorek *et al.*,

2015; Pingret; Tixier; Sylvie; Chemat, 2013).

2.5.1 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

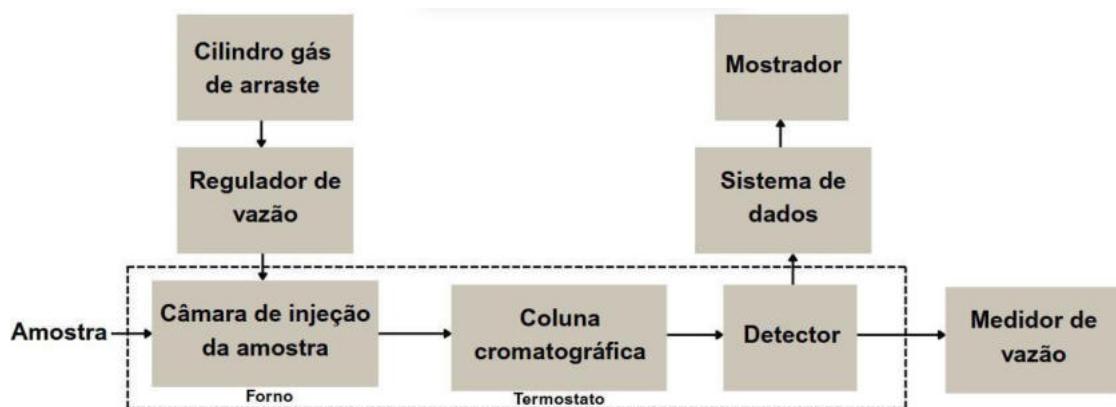
A cromatografia gasosa (CG) é uma técnica analítica onde uma amostra é transportada pela coluna cromatográfica tendo como fase móvel um gás de arraste que deve ser inerte que é responsável pelo transporte da amostra pela fase estacionária (Harris, 2012). O conceito de CG foi enunciado pela primeira vez em 1941 por Martin e Synge, mas apenas em 1955 surgiu o seu primeiro instrumento comercial (Skoog, 2010).

A separação dos compostos nessa técnica está baseada na interação das moléculas presentes na amostra apenas com a fase estacionária utilizada, visto que a fase móvel é inerte. A escolha da coluna deve ser realizada baseando-se no conceito de “semelhante dissolve semelhante”, portanto, colunas mais polares interagem mais com compostos polares, por exemplo (Harris, 2012). Uma coluna com maior polaridade faz com que haja mais interações entre os compostos polares presentes em uma amostra e isso faz com que o tempo de travessia no sistema cromatográfico aumente. Nos casos de compostos apolares em colunas polares, por exemplo, há uma menor interação e com isso o tempo de retenção é menor e esses compostos chegam primeiro ao detector utilizado. Assim, a separação acontece baseado na interação dos constituintes da amostra com a fase estacionária através das interações de *Van Der Waals* (Dal Sasso, 2023). Essa técnica analítica apresenta como vantagens a robustez, seletividade, repetibilidade e a possibilidade de trabalhar com limites de detecção que podem chegar até 10 ng mg^{-1} em biomassa seca (Kurzbaum *et al.*, 2025) e análise de múltiplos analitos simultaneamente em um curto tempo de análise (Gotvaldová *et al.*, 2021).

Os principais componentes do CG são o gás de arraste, o injetor de amostra, a coluna cromatográfica e o detector (**Figura 12**). O gás de arraste a ser utilizado é um gás inerte que não interage com as moléculas do analito apenas realiza o seu transporte ao longo da coluna (Skoog, 2010). Os gases mais utilizados são He, H₂ e N₂ (Harris, 2012). O injetor é responsável por inserir a amostra para a coluna cromatográfica, essa injeção pode ocorrer no modo *split* ou *splitless*. No modo *split* há divisão de fluxo e apenas uma parcela da amostra é injetada na coluna cromatográfica, assim, esse modo de injeção é mais

utilizado em amostras que são muito concentradas. Por outro lado, no modo *splitless* não há divisão do fluxo e toda a amostra é injetada na coluna, logo, esse tipo de injeção é preferível para amostras que possuem baixas concentrações de analito (Harris, 2012; Skoog, 2010).

Figura 12 - Diagrama de blocos da Cromatografia Gasosa (CG).

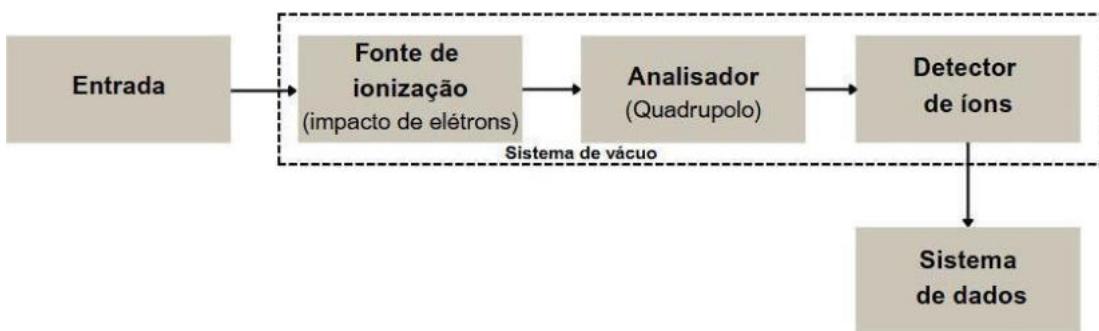


Fonte: Harris, 2012.

Após a separação cromatográfica a amostra é direcionada para um detector, que pode compreender diferentes técnicas, como por exemplo, a espectroscopia de ionização em chama, espectrometria de absorção na faixa do ultravioleta-visível, espectrometria de massas, entre outros. Para a escolha do melhor detector a ser utilizado na análise, é necessária a avaliação de diversos fatores, dentre eles deve-se verificar se o detector possui a sensibilidade adequada para análise a ser realizada, se possui uma boa estabilidade e reproduzibilidade, uma ampla faixa de temperatura de trabalho, além do fato de que ele não pode destruir a amostra, entre outros pontos a serem inferidos (Skoog, 2010).

No presente trabalho o detector utilizado foi um espectrômetro de massas (EM) que mede a razão massa carga (m/z) dos íons produzidos pela amostra (Harris, 2012; Skoog, 2010). O espectrômetro de massas é composto por um sistema de injeção, fonte de ionização, analisador de massas, detector e sistema de dados (**Figura 13**).

Figura 13 - Diagrama de blocos do funcionamento do analisador de espectrometria de massas.



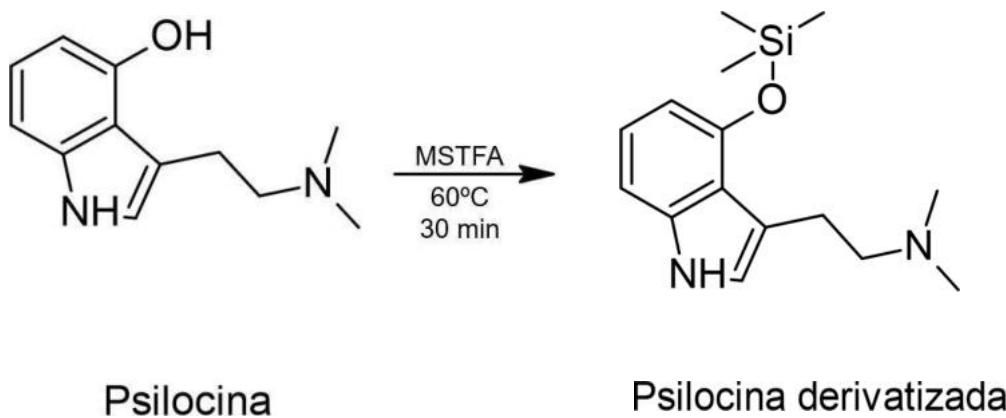
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Os analisadores do tipo triplo quadrupolo utilizados nas análises realizadas combinam dois analisadores de massas com uma célula de colisão (Soler; Mañes; Picó, 2005). Nesse caso há a possibilidade de análise de monitoramento seletivo dos íons (SIM) e monitoramento seletivo de reações (MRM). No SIM apenas uma massa selecionada é medida. No modo MRM seleciona-se um íon precursor no primeiro quadrupolo (Q_1) que é direcionado para a célula de colisão (q_2) onde esse íon é fragmentado e por fim conduzido para o segundo quadrupolo (Q_3) que atua como detector do filtro de massas (Harris, 2012). Esse tipo de análise (MRM) possibilita um aumento na razão sinal/ruído e elimina quase que todas as interferências presentes na análise.

A cromatografia gasosa é aplicada para espécies que possuem uma volatilidade e são termicamente estáveis a altas temperaturas (Skoog, 2010). A psilocina, como já mencionado anteriormente, é uma substância muito sensível o que a princípio não condiz com a aplicação da CG pois pode ocorrer sua degradação (Beug; Bigwood, 1981). Porém há a possibilidade da realização da reação de derivatização da psilocina que faz com que ela se torne mais estável e suporte as temperaturas mais elevadas utilizadas na análise de CG-EM (Cody, 2008) (**Figura 14**). A derivatização de uma molécula permite uma análise mais adequada de compostos que são termossensíveis, possibilitando a obtenção de melhores resultados (Moldoveanu; David, 2016). A reação de derivatização deve ser realizada pouco tempo antes da injeção acontecer no equipamento pois a mesma é uma reação reversível. Além disso a escolha do derivatizante utilizado é de suma importância. No caso da psilocina utilizou-se o N-Metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MSTFA) pois ele é capaz de aumentar a volatilidade da substância alvo favorecendo uma maior termoestabilidade da mesma. Além disso, o MSTFA com a psilocina tem uma reação rápida,

completa e reproduzível garantindo bons resultados nas análises (Keller *et al.*, 1999).

Figura 14 - Reação de derivatização da psilocina utilizando-se o MSTFA como derivatizante.



Fonte: Grieshaber; Moore; Levine, 2001.

2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Essas análises permitem categorizar e caracterizar os dados de diferentes maneiras, auxiliando na tomada de decisões assertivas acerca da qualidade de interpretação dos dados (Skoog, 2010).

As análises estatísticas incluem os testes de hipóteses como uma de suas principais ferramentas. Esses testes são metodologias estatísticas que consistem em verificar, a partir das observações de uma amostra, se uma afirmação (denominada hipótese) sobre a distribuição de uma ou mais variáveis de uma população é verdadeira ou não.

Entre os testes de hipótese temos o teste T de *Student* ou teste t que é um método de testar hipóteses sobre a média de uma pequena amostra retirada de uma população distribuída normalmente quando o desvio padrão da população é desconhecido (Britannica, 2025). O teste t é usado para comparação da média de dois grupos sem a necessidade de múltiplas comparações e ele pode ser utilizado para um grupo de até 30 amostras (Mishra *et al.*, 2019; Harris, 2012).

Outro teste estatístico amplamente utilizado é a análise de variâncias (ANOVA) que também é definida como um teste de hipótese responsável por realizar a comparação simultânea de valores de três ou mais grupos diferentes

e independentes tendo como resposta a informação se aqueles grupos são estatisticamente iguais ou não (Mishra *et al.*, 2019; Araújo, 2003; Snee, 1976).

A ANOVA realiza a comparação de variâncias dentro dos grupos analisados e entre os grupos e assim encontra-se o valor de F que é a razão entre essas variâncias (Mishra *et al.*, 2019). Porém esse teste não é específico e não consegue identificar quais são os grupos que diferem entre si, nesse caso precisamos da utilização de um segundo teste de comparações múltiplas como o teste de Tukey.

O teste de Tukey é capaz de realizar uma comparação entre todos os pares de dados utilizados no estudo. Quando os tamanhos amostrais dos grupos são iguais, o Teste de Tukey é considerado um teste exato. Isso significa que, para o conjunto de todas as comparações par a par, a taxa de erro do conjunto dos testes é exatamente igual a α (intervalo de confiança) (Oliveira, 2019). Sendo assim, a escolha do teste que se deve adotar depende de suas qualidades estatísticas (Clayton; Mario; Rinaldo, 2015).

Além dos testes estatísticos de comparação entre valores obtidos, tem-se o planejamento de experimentos (DoE) que pode ser definido como o ramo da estatística envolvido no planejamento, coleta e análise de dados experimentais para garantir que conclusões válidas e objetivas sejam alcançadas (Román-Ramírez; Marco, 2022). O DoE é responsável por melhorar os rendimentos dos processos estudados, auxilia a organizar os experimentos maximizando a precisão dos resultados, ter um tempo de análise reduzido e um menor gasto com recursos em geral (Montgomery, 2017). Em suma, ele tem como objetivo determinar quais as melhores condições experimentais para a obtenção de dados confiáveis e representativos.

Para realização desse experimento é necessária a definição de quantos fatores e níveis serão avaliados. Os fatores são as variáveis a serem estudadas como por exemplo o tempo de extração, temperatura e quantidade de solvente. Os níveis são como esses fatores irão variar, sendo assim valores numéricos a serem escolhidos, define-se então um valor máximo e mínimo para que o estudo seja realizado (Antonio, 2020). Além disso é necessária a definição de uma variável resposta para comparação estatística posteriormente para que no fim seja determinado o efeito que os fatores têm nas amostras

analisadas. O DoE apresenta diversas modalidades, sendo elas: fatorial completo, fatorial fracionado, blocagem, superfície de resposta, planos aleatórios, blocos aleatórios e combinatórios (Román-Ramírez; Marco, 2022).

Para o estudo realizado foi utilizado o fatorial fracionado que testa uma fração de todas as combinações possíveis de acordo com os fatores avaliados. Ao realizar a variação de mais de um fator simultaneamente é possível determinar os efeitos das interações que acontecem (Minitab, 2025).

Neste contexto, os testes estatísticos desempenham um papel fundamental para que haja uma análise mais eficiente dos parâmetros avaliados na criação ou otimização de um método analítico. Eles possibilitam uma economia de tempo e recursos durante os experimentos. Além disso, esses testes ajudam a garantir a precisão e confiabilidade dos resultados reduzindo a necessidade de repetição dos experimentos ou análises adicionais (Teófilo; Ferreira, 2006).

3. JUSTIFICATIVA

Atualmente há um crescimento da utilização dos cogumelos seja na alimentação (*shitake*, *shimeji* e *champingnon*) ou de forma ilegal. Esses fungos podem conter substâncias alucinógenas, como a psilocina e psilocibina.

No aspecto forense o estudo de cogumelos alucinógenos (CA) é essencial para o bom andamento de investigações criminais e processos judiciais. Por exemplo, para que haja a materialidade do crime de porte de CA como droga

de abuso este precisa ser identificado. Entretanto, quando secos os CA não possuem nenhuma diferença morfológica que possibilite a distinção deles dos cogumelos legais (comestíveis).

Considerando que as apreensões de droga são comumente utilizadas como um indicador da disponibilidade das mesmas no mercado (Palamar *et al.*, 2024), o maior monitoramento do comércio de cogumelos alucinógenos permite a criação de políticas públicas mais específicas que visem controlar e reduzir a utilização dessas substâncias. Outro problema que deve ser levado em consideração é a possibilidade da presença de THC nessas matrizes que pode levar à dependência física dos usuários que por vezes podem não saber da mistura de substâncias ali presentes. Apesar dos cogumelos alucinógenos não serem tipicamente associados à dependência física eles podem causar dependência psicológica, onde os usuários acreditam necessitar de tais substâncias para seu bem-estar. Além disso, sua associação com outras drogas de abuso pode servir como “porta de entrada” para o consumo de outras drogas de abuso que causam dependência física.

A instabilidade térmica da psilocina é um dos principais motivos da escassez de métodos para sua identificação. Essa molécula apresenta alguns desafios analíticos relacionados a sua fácil degradação e baixa concentração nas amostras apreendidas. As concentrações de PSI e PSB nos cogumelos é de cerca de 2% e, como já mencionado, a diferenciação visual é dificultada e gera erros de interpretação.

A tecnologia tem avançado e a partir disso temos novos tipos de análise que podem auxiliar a inteligência policial na identificação desses compostos ilegais em cogumelos apreendidos. Sendo assim, a utilização da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas se torna uma grande aliada para

esse tipo de análise, por estar presente na maioria dos laboratórios periciais no Brasil, e apresentar custo operacional inferior quando comparada à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Na CLAE, há a necessidade da utilização de grandes volumes de solventes orgânicos, gerando resíduos líquidos, o que implica em mais uma etapa de cuidados a serem tomados após a realização das análises aumentando também o custo de análise. Por não gerar resíduos, a técnica de CG também possui um menor impacto ambiental o que a torna mais verde.

Neste contexto, é importante ressaltar que na polícia científica o procedimento padrão para análise de substâncias possivelmente ilegais é a realização do teste colorimétrico que pode indicar a presença ou ausência dessas substâncias. Porém, por serem testes de caráter preliminar eles apresentam baixa sensibilidade (Oliveira, 2022), assim podem apresentar falsos negativos, principalmente se houver uma baixa concentração de PSI e PSB nos cogumelos. Em comunicação pessoal com a PCERJ, foi informado que ainda não existe um método padrão preconizado especificamente para análise de cogumelos. Por isso, há uma subnotificação da quantidade de apreensões de cogumelos alucinógenos podendo contribuir para a invisibilização de um problema que vem se agravando.

Com esses fatores expostos torna-se relevante a existência de um método de identificação e quantificação de psilocina em cogumelos alucinógenos através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, permitindo assim a confirmação da materialidade do crime. Ou seja, a pesquisa aqui apresentada, representa uma aplicação direta em rotinas periciais, com transferência e formação de conhecimento através do acordo de colaboração vigente entre Polícia Científica e universidade.

4. OBJETIVOS

Desenvolver um método de extração da psilocina de cogumelos alucinógenos utilizando a técnica de extração assistida de ultrassom com posterior análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM/EM). Esse estudo possibilitará a realização de análises com maior confiabilidade analítica das amostras apreendidas pela Polícia Civil do Estado do Rio de Janeiro (PCERJ), viabilizando um aumento e rapidez nos registros de ocorrência de apreensões ilegais dessa matriz.

Para o cumprimento de todas as etapas propostas são apresentados os seguintes objetivos específicos:

- Desenvolvimento de um método de preparo e análise de cogumelos alucinógenos com aplicações diretas em rotinas periciais;
- Avaliação da etapa de preparo das amostras considerando a escolha do solvente e modificador para melhor extração da psilocina de cogumelos alucinógenos;
- Aplicação do DoE para análise dos parâmetros tempo, ciclo de extração, proporção solvente:amostra e concentração do modificador na extração da psilocina em cogumelos alucinógenos;
- Avaliação qualitativa de cogumelos apreendidos pela Secretaria Estadual de Polícia Civil (SEPOL) através da técnica CG-EM/EM;
- Avaliação quantificação de psilocina nas amostras de cogumelos alucinógenos;
- Padronização de um procedimento de análise molecular completa em cogumelos alucinógenos de apreensão e diferenciação com os comestíveis;
- Estudo do perfil molecular das amostras de cogumelos alucinógenos apreendidos pela PCERJ.

5 EXPERIMENTAL

5.1 MATERIAL

As seguintes vidrarias foram utilizadas: frascos de vidro de 1,5 mL, tubos de ensaio de 12 e 15 mL, *insert* de 200 μ L, pipetas de vidro, pipetas automáticas, bêchers (50 e 100 mL), triturador de plástico, espátulas metálicas, gral e pistilo de porcelana.

Os solventes utilizados foram metanol (MeOH) (99,9%, Biograde, GO-Brasil), diclorometano (DCM) (99,9%, estabilizado com amileno, Biograde GO-Brasil), clorofórmio (99,8%, estabilizado com amileno, Tedia Brazil), acetato de etila (99,9%, Tedia Brazil), *n*-hexano (Supelco, Alemanha), acetona (99,5%, Tedia Brazil). Como derivatizante utilizou-se *N*-metil-*N*-(trimetilsilil) trifluoroacetamida (MSTFA) (Fabrik Karl Bucher GmbH, Alemanha).

Os modificadores utilizados foram hidróxido de amônio (NH₄OH) (25%, Merck Alemanha), ácido acético (CH₃COOH) (99,7%, Tedia Brazil) e ácido clorídrico (HCl) (37%, Sigma-Aldrich, USA).

5.2 EQUIPAMENTOS ANALÍTICOS

Esta pesquisa utilizou os equipamentos: vórtex (LP Vortex Mixer, Thermo Scientific, Áustria), centrífuga (Sorvall Legend RT, Marshall Scientific, EUA), banho seco (DB-H, Loccus, Brasil), banho ultrassônico com aquecimento (SolidSteel, Brasil), banho seco de nitrogênio (TurboVap LV, Biotage, Suécia), concentrador de amostras (SL23-40, Qualicien, Brasil). Todas as amostras de cogumelos *in natura* e amostras extraídas foram armazenadas em um freezer a -20 °C.

As análises foram realizadas em um sistema de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas *in Tandem* constituído de um cromatógrafo a gás (Agilent 7890A, Agilent Technologies, USA) acoplado a um analisador de massas do tipo triplo quadrupolo (Agilent 7000, Agilent Technologies, USA) com uma fonte de ionização por elétrons (EI, voltagem 70 eV). A coluna cromatográfica utilizada foi HP-5MS (Agilent Technologies, USA), 5%-fenil-95%-dimetilpolisiloxano (30 m, 250 μ m, 0,25 μ m).

5.3 AMOSTRAS DE COGUMELOS (LEGAIS E ILEGAIS)

A amostra de cogumelos alucinógenos da espécie *Psilocybe cubensis* utilizada para o desenvolvimento do método de extração foi adquirida comercialmente em fevereiro de 2024 através do website (<https://www.cogudasminas.com.br/>). A compra foi realizada para o desenvolvimento da etapa de otimização do método, com finalidade de pesquisa. Os cogumelos encontravam-se inteiros e desidratados (**Figura 15**).

Figura 15 - Matriz de cogumelos alucinógenos desidratados adquiridos comercialmente para desenvolvimento do método.

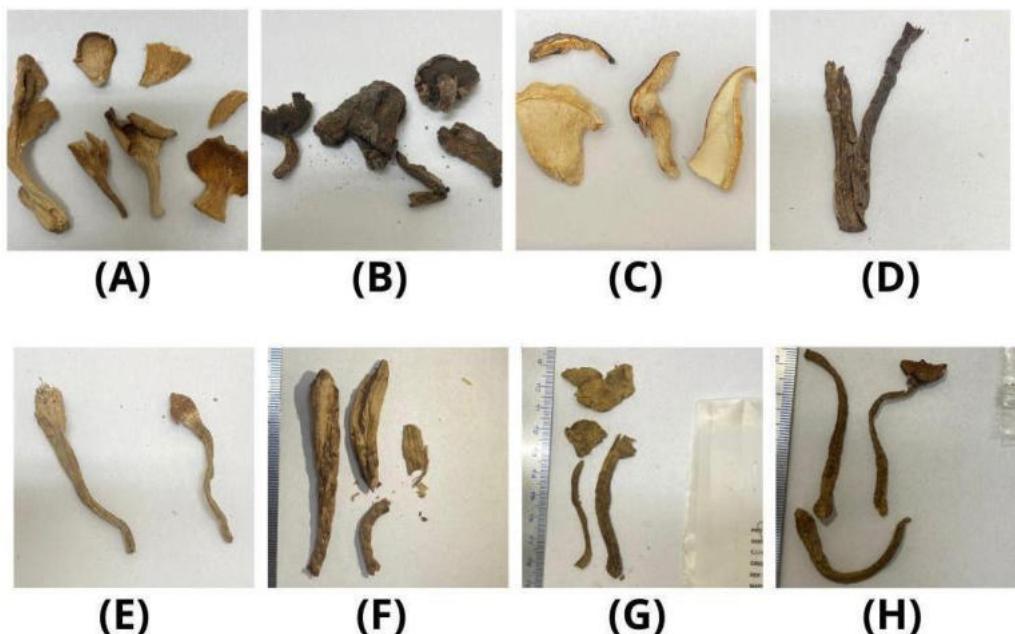


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2024.

A posterior aplicação do método desenvolvido foi feita com 03 amostras de cogumelos comestíveis (*Shimeji*, *Funghi* e *Shiitake*) adquiridas comercialmente em loja física Casas Pedro em 2024 (**Figura 16A-C**) e 05 amostras de apreensões da SEPOL realizadas entre os anos de 2016 e 2021 (**Figura 16D-H**).

As amostras disponibilizadas para este estudo foram obtidas através do Acordo de Parceria para Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação nº013/2024 entre SEPOL e UFRJ (IQ – NAF/LADETEC) – número de processos SEI-SEPOL: 360007/001207/2023 e SEI-UFRJ: 23079.202338/2024-71.

Figura 16 - Amostras de cogumelos comestíveis (A-C) e de cogumelos apreendidos pelas PCERJ (D-H) que foram utilizadas para aplicação do método de extração desenvolvido. (A) Cogumelo *Shimeji*, (B) Cogumelo *Funghi*, (C) Cogumelo *Shiitake*, (D) Amostra de apreensão 01 (AP01), (E) Amostra de apreensão 02 (AP02), (F) Amostra de apreensão 03 (AP03), (G) Amostra de apreensão 04 (AP04), (H) Amostra de apreensão 05 (AP05).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2024.

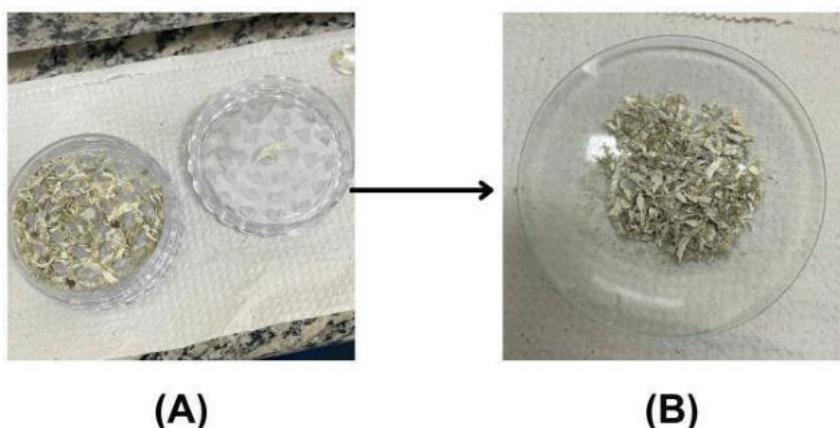
5.4 PADRÕES ANALÍTICOS

O padrão de psilocina com pureza de $\geq 95\%$ (Cayman Chemical, EUA.; CAS:520-53-6) foi utilizado para a construção da curva analítica. Como padrão interno empregou-se a bufotenina (oxalato de 5-hidroxi-N,N-dimetiltriptamina monohidratado) (LipoMed AG, Suíça; CAS: 487-93-4) na concentração 1 mg mL $^{-1}$. O padrão de psilocina foi solubilizado em metanol nas concentrações de 0,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$; 0,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$; 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$; 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$; 0,075 $\mu\text{g mL}^{-1}$; 0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$; 0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$; 0,005 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,001 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O padrão da bufotenina foi utilizado na concentração de 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, também diluído em metanol.

5.5 PREPARO DE AMOSTRAS E OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO

As amostras de cogumelos alucinógenos adquiridas comercialmente foram recebidas na sua forma desidratada e, para que houvesse um aumento na superfície de contato, foram inicialmente maceradas. A maceração ocorreu em duas etapas, sendo a primeira delas utilizando o gral e pistilo e a segunda com auxílio de um triturador de plástico. Após essas etapas foi possível a obtenção de amostras com suas partículas menores facilitando a extração (**Figura 17**).

Figura 17 - Cogumelos na etapa de maceração **(A)** Amostra obtida comercialmente no triturador mecânico após maceração no gral e pistilo; **(B)** Amostra após segunda etapa de maceração com triturador.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2024.

Após a maceração, deu-se início o processo de análise dos parâmetros de extração a serem utilizados. Toda etapa de otimização do método utilizou a amostra de cogumelo obtida comercialmente. Os estudos para análise do solvente extrator e modificador foram feitos pesando aproximadamente 5,0 mg de amostra.

5.6 AVALIAÇÃO DO SOLVENTE EXTRATOR

Os solventes selecionados para a extração da psilocina em cogumelos foram hexano, diclorometano, acetato de etila, clorofórmio, metanol e acetona (Gutman; Tenne; Bretler, 2023; SWGDRUG, 2005). O processo de extração foi realizado em triplicata (**Tabela 1**). Após a pesagem foram adicionados 5,0 mL

de solvente nas amostras. A mistura foi levada ao vórtex por 30 segundos. Em seguida, a amostra extraída permaneceu em banho de ultrassom por 30 minutos à temperatura ambiente, e foi submetida a centrifugação durante 5 minutos a 3.000 rpm.

Tabela 1. Solventes utilizados para extração da psilocina e massa de amostra de cogumelo obtido comercialmente pesada (mg) para o experimento.

Solvente	Massa pesada (mg)
	5,11
Metanol	5,09
	5,07
	5,06
Diclorometano	5,03
	5,07
	5,05
Clorofórmio	5,07
	5,03
	5,13
Acetato de Etila	5,02
	5,16
	5,03
Acetona	5,08
	5,00
	5,05
Hexano	5,10
	5,15

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Então, separou-se o corpo de fundo da solução. A solução foi levada a secura com auxílio do banho seco de nitrogênio. Após a secagem a amostra foi transferida, com auxílio do solvente utilizado na extração, para um frasco de vidro de 1,5 mL.

Novamente os frascos foram secos em banho de nitrogênio e a amostra foi

ressuspendida com 1 mL do solvente utilizado na extração. Após esse processo foi feita a derivatização da amostra. O processo de derivatização foi realizado pipetando-se 100 μ L de amostra em um *insert*. Essa alíquota foi novamente seca em fluxo de nitrogênio e então adicionou-se 100 μ L de derivatizante (MSTFA). A reação de derivatização ocorreu em banho seco a 60°C por 30 minutos para todas as amostras analisadas.

As reações de derivatização foram realizadas no dia da injeção devido à instabilidade dessa reação que dura cerca de 24 horas. Após a etapa de derivatização todas as amostras foram injetadas no CG-EM/EM para obtenção dos resultados e análise dos dados.

5.7 AVALIAÇÃO DE MODIFICADORES PARA O SOLVENTE EXTRATOR

A avaliação do solvente com maior capacidade de extração ocorreu pelo estudo da área cromatográfica como variável-resposta. Após a observação dos resultados e realização de uma análise estatística, foram escolhidos dois solventes com os melhores valores de área para o estudo dos modificadores a serem realizados na sequência. A escolha dos modificadores e suas concentrações que foram estudados (**Tabela 2**) foi baseada na ocorrência dos mesmos na literatura (Goff *et al.*, 2024; Gutman; Tenne; Bretler, 2023; Laussmann; Meier-Giebing, 2010).

Tabela 2. Modificadores avaliados para extração da psilocina e suas respectivas concentrações (% v/v) utilizadas.

Modificador	Concentração (v/v)
Ácido clorídrico (HCl)	0,0000114%
Ácido acético (CH ₃ COOH)	0,2%
Hidróxido de amônio (NH ₄ OH)	6%

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Os modificadores foram adicionados junto com o solvente no início do processo de extração, sendo adicionados 100 μ L de modificador para cada análise realizada. Todos os experimentos foram feitos em triplicata com aproximadamente 5,0 mg de amostra adquirida comercialmente (**Tabela 3**). O processo de extração e análise estatística dos resultados ocorreu conforme

descrito na avaliação dos solventes (**Tópico 5.6**).

Tabela 3. Combinações de solventes e modificadores testados para extração da psilocina e suas respectivas massas (mg) da amostra comercialmente adquirida.

Solvente	Modificador	Massa pesada de amostra adquirida comercialmente (mg)
Acetona		5,15
	Ácido acético	5,02
		5,07
		5,00
	Ácido Clorídrico	5,03
		5,08
		5,04
	Hidróxido de amônio	5,10
		5,09
		5,04
Diclorometano	Ácido Acético	5,13
		5,04
		5,08
	Ácido Clorídrico	5,04
		5,04
		5,05
	Hidróxido de amônio	5,00
		5,05

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

5.8 TESTES ESTATÍSTICOS

Todas as análises envolvendo o teste de solvente e de modificadores foram realizadas em triplicatas e, com isso foi possível o cálculo da média dos valores obtidos. Com os valores e média medidos, calculou-se a variância, desvio padrão e foi realizado ANOVA e posteriormente o teste de Tukey para

comparação das médias. Para uma melhor visualização dos resultados foram gerados um o diagrama de blocos e um diagrama de comparação significativa que foram estudados para conclusão dos melhores resultados. Os testes estatísticos de hipótese foram realizados utilizando o *software OriginPro* 2021 (Northampton, MA, USA) enquanto a análise estatística descritiva foi realizada no *Microsoft Excel* 2016.

5.9 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO DA PSILOCINA

Para o desenvolvimento do método de extração foi utilizado um DoE de análise fatorial fracionada com ponto central. Deste modo, o solvente e modificadores com os melhores resultados avaliados previamente foram empregados, sendo eles o diclorometano e hidróxido de amônio, respectivamente. Os seguintes parâmetros foram avaliados no DoE: proporção de amostra e solvente; concentração da solução de modificador utilizada, tempo de extração e quantidade de ciclos de extração (**Tabela 4**).

Tabela 4. Fatores e níveis avaliados no DoE para extração da psilocina.

Fatores	-1	+1
Ciclos de Extração	01	03
Tempo de extração (min)	10	30
Concentração do modificador (%)	6	12
Proporção solvente:amostra	2:1	5:1

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Para a escolha de todos os valores a serem analisados experimentalmente utilizou-se o *software Chemoface* (Nunes; Freitas; Pinheiro; Bastos, 2012). As análises de fatorial fracionado utilizaram a fórmula $2^{(k-1)}$, sendo k a quantidade de fatores. Porém como foi utilizado também o ponto central para cálculo de erros padrões, foram acrescidos mais 3 experimentos a serem realizados. Ao todo 11 ensaios foram elencados para serem estudados (**Tabela 5**). Para cada experimento realizado foi pesado cerca de 3,00 mg de amostra adquirida comercialmente. Houve uma redução da massa pesada para garantia de amostra ao longo de todas as análises a serem realizadas.

Tabela 5. Parâmetros utilizados no planejamento experimental.

Ensaio	MA (mg)	Prop. S:A	Conc. Mod (%)	T. de extração (min)	Quant. de ciclos de extração
01	3,07	2 : 1	6	10	1
02	3,01	2 : 1	12	10	3
03	3,02	5 : 1	6	10	3
04	3,05	5 : 1	12	10	1
05	3,09	2 : 1	6	30	3
06	3,02	2 : 1	12	30	1
07	3,00	5 : 1	6	30	1
08	3,08	5 : 1	12	30	3
09	2,98	3,5 : 1	9	20	2
10	3,03	3,5 : 1	9	20	2
11	2,97	3,5 : 1	9	20	2

#: número do experimento; MA: massa de amostra extraída (mg); Prop S:A: Proporção de solvente e amostra; Conc. Mod: Concentração do modificador; T. de extração: Tempo de extração.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

5.10 ANÁLISES QUANTITATIVAS DE COGUMELOS ALUCINÓGENOS

Após todas as etapas realizadas visando a otimização de extração foi feita a implementação do método desenvolvido. Uma curva analítica foi plotada utilizando o padrão de psilocina e a bufotenina como padrão interno. As concentrações de psilocina utilizadas foram 0,001; 0,0025; 0,005; 0,01; 0,05; 0,075; 0,1 e 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e os padrões foram solubilizados em metanol. Para todos os pontos da curva foram adicionados 10 μL de bufotenina (0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) que foi seco com auxílio do TurboVap; em seguida adicionou-se 100 μL do padrão de psilocina na concentração pré-estabelecida, que foi seco mais uma vez para que, finalmente fosse realizada a derivatização e posterior análise no equipamento CG-EM/EM.

Previamente as análises quantitativas, todas as amostras de cogumelos, sendo 3 comestíveis (comerciais) e 5 de apreensão, passaram pelo processo de extração com os parâmetros otimizados anteriormente (**Item 5.9**). Após a

extração dessas 08 amostras foi retirado uma alíquota de 300 μL de cada uma, adicionou-se 10 μL de bufotenina (0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e em seguida foi feita a derivatização com MSTFA e posterior análise no CG-EM/EM.

5.11 ANÁLISE POR CG-EM/EM

As condições cromatográficas utilizadas são apresentadas na **Tabela 6** (Goff *et al.*, 2024; Gutman; Tenne; Bretler, 2023; Laussmann; Meier-Giebing, 2010; Keller *et al.*, 1999;).

Tabela 6. Parâmetros cromatográficos utilizados para as análises no CG-EM/EM.

Parâmetros Cromatográficos	
Volume de injeção (μL)	1
Temperatura do injetor ($^{\circ}\text{C}$)	250
Modo de injeção	Sem divisão de fluxo (<i>splitless</i>)
Temperatura inicial ($^{\circ}\text{C}$)	100
Taxa de aquecimento ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	10
Temperatura final ($^{\circ}\text{C}$)	300
Temperatura da fonte ($^{\circ}\text{C}$)	250
Modo de análise	<i>Full scan</i> (varredura completa)
Faixa de massas analisada (m/z)	50 a 500

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

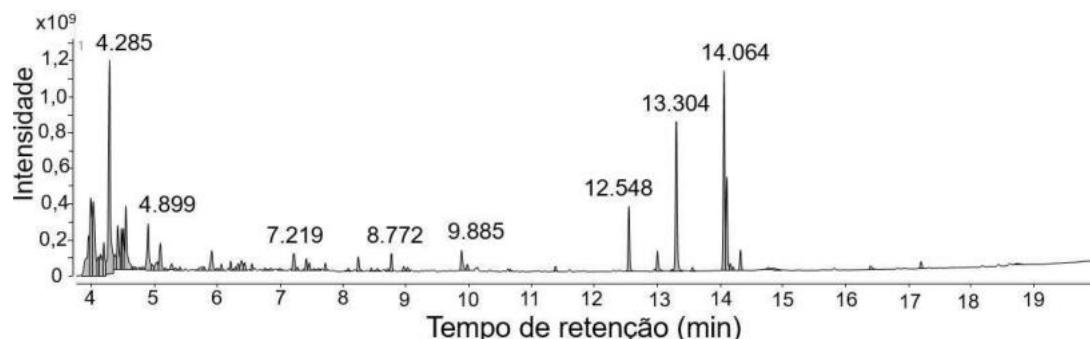
A identificação da psilocina derivatizada foi realizada através do monitoramento dos íons m/z 58, 290 e 348. O tratamento dos dados foi realizado no software AgilentMassHunter Qualitative versão 10.0. As análises por CG-EM/EM para o teste de solvente, modificador e DoE foram realizadas no modo *Full Scan*; e as análises para a construção da curva analítica e experimentos de quantificação das amostras (3 cogumelos comestíveis e 5 amostras de apreensão da PCERJ) foram realizadas no modo MRM tendo como íon pseudomolecular a psilocina derivatizada m/z 348, e os fragmentos m/z 290 e 58.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a etapa de otimização do método, foram utilizadas as amostras de cogumelos adquiridas comercialmente através da análise de psilocina na sua composição. Apenas a psilocina foi monitorada devido a degradação térmica que ocorre com a psilocibina. Dependendo das condições de armazenamento essa degradação pode ocorrer em pouco tempo. O tempo e temperatura estão interligados, a partir de 50°C a degradação da psilocibina já ocorre em uma taxa de 7% e a 70°C a escala de degradação já passa a ser mensurada em horas (Gotvaldová *et al.*, 2021). Portanto, para unificação do trabalho e melhor aproveitamento dos resultados, todos os experimentos foram realizados com foco na observação e identificação da psilocina.

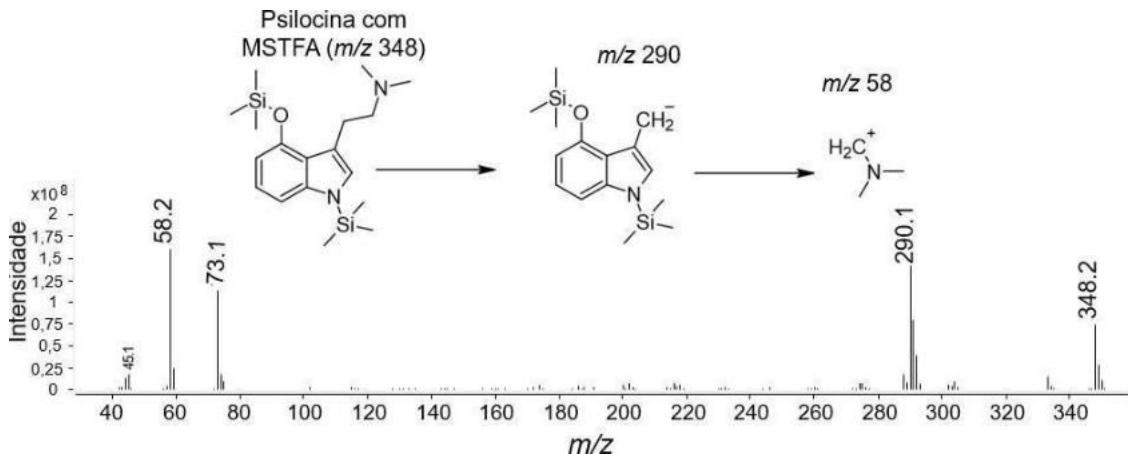
As análises CG-EM/EM foram realizadas inicialmente como um estudo preliminar para observação do comportamento da psilocina. Nessa etapa do estudo foi utilizado um método de extração e análise instrumental dos cogumelos desenvolvido anteriormente pelo grupo de pesquisa Núcleo de Análises Forenses da UFRJ (Oliveira, 2022). A partir desse teste preliminar pode-se confirmar o tempo de retenção da psilocina (**Figura 18**) e seu padrão de fragmentação (**Figura 19**). A área do pico cromatográfico da psilocina ($t_R=13,3$) foi então escolhida como variável-resposta na otimização do método.

Figura 18 - Cromatograma referente amostra de cogumelo alucinógeno obtida comercialmente apresentando a psilocina no t_R de 13,304 min.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Figura 19 - Espectro de massas da psilocina derivatizada e seus produtos da fragmentação.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Vale ressaltar que o enfoque deste trabalho foi uma análise alvo da psilocina não tendo sido realizado a identificação dos demais picos cromatográficos observados na amostra (**Figura 18**).

6.1 AVALIAÇÃO DO SOLVENTE EXTRATOR

Nesta etapa inicialmente levou-se em consideração que a psilocina possui polaridade moderada devido aos momentos dipolo que são formados com o grupo amino ($-NH_2$) e hidroxila ($-OH$) uma vez que o oxigênio e nitrogênio são mais eletronegativos que o carbono e atraem com mais intensidade os elétrons presentes na ligação. Além disso, esses momentos dipolo são gerados em pontos assimétricos da molécula e, portanto, não se anulam, conferindo essa polaridade a psilocina. Por outro lado, a polaridade da psilocibina é muito maior devido ao grupo fosforilado que ela apresenta na sua estrutura molecular.

Os solventes propostos foram baseados em sua estrutura química e na da psilocina (Galhego *et al.*, 2025; Oliveira, 2022). Como referência, foi utilizado o *Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs* (SWGDRUG) para verificação da solubilidade da psilocina e psilocibina (**Quadro 2**) (SWGDRUG, 2005).

Quadro 2. Solubilidade da psilocina e psilocibina em alguns solventes orgânicos.

Molécula	Acetona	Clorofórmio	Etanol	Hexano	Metanol	Água
Psilocina	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Pouco solúvel
Psilocibina	Pouco Solúvel	Insolúvel	Pouco solúvel	Insolúvel	Pouco Solúvel	Solúvel

Fonte: Adaptado de SWGDRUG, 2005.

Nessa etapa foram avaliados os solventes extratores: acetato de etila, acetona, clorofórmio, diclorometano, hexano e metanol. Entre esses, apenas o hexano não possui uma polaridade moderada, que é importante para uma boa interação com a psilocina considerando o fato de que é necessária uma polaridade semelhante entre solvente e molécula-alvo (Wieczorek *et al.*, 2015). De acordo com o **Quadro 2**, todos os solventes listados são capazes de solubilizar a psilocina, e, consequentemente, podem realizar a extração desta em uma determinada proporção. Em teoria, a água seria o solvente menos efetivo visto ser classificado como pouco solúvel para psilocina.

Todas as análises de solvente foram feitas em triplicata, realizando a extração da amostra adquirida comercialmente e com isso foi feito o cálculo das médias de área de cada solvente utilizado e identificação da mediana de cada um deles (**Tabela 7**).

Tabela 7. Valores de área, média e desvio padrão dos solventes testados utilizados para a geração do diagrama de blocos. Em cinza estão demarcados os valores de mediana.

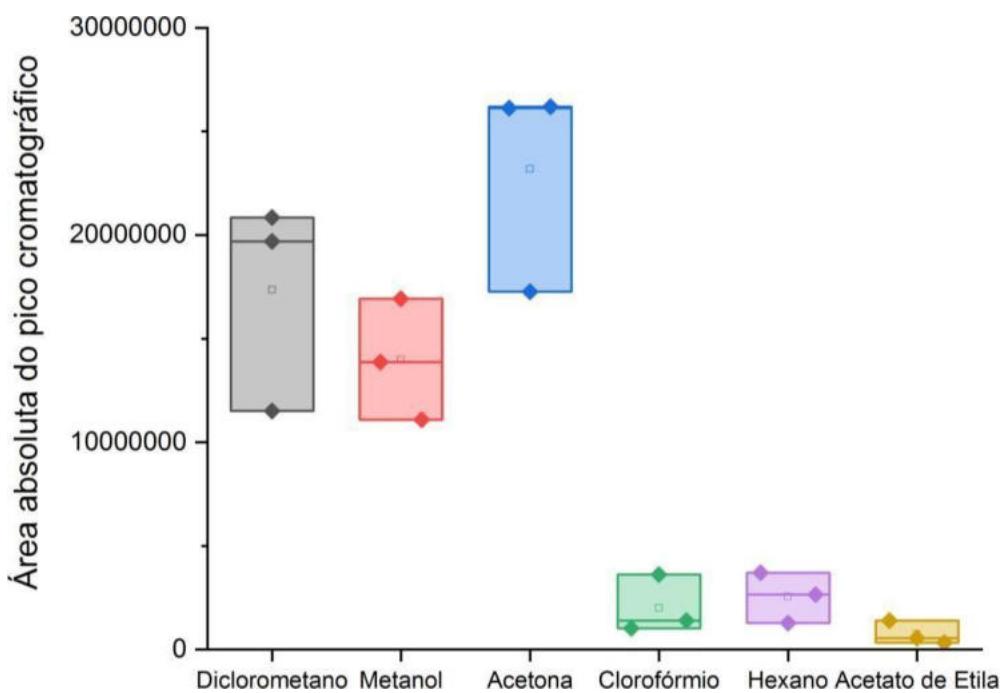
Solvente	Área	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de variação (%)
	$1,15 \times 10^7$			
Diclorometano	$1,97 \times 10^7$	$1,73 \times 10^7$	$5,09 \times 10^6$	29,34
	$2,08 \times 10^7$			
	$3,62 \times 10^6$			
Clorofórmio	$1,02 \times 10^6$	$2,01 \times 10^6$	$1,41 \times 10^6$	69,85
	$1,39 \times 10^6$			
	$1,11 \times 10^7$			
Metanol	$1,39 \times 10^7$	$1,40 \times 10^7$	$2,92 \times 10^6$	20,91
	$1,69 \times 10^7$			
	$1,72 \times 10^7$			
Acetona	$2,61 \times 10^7$	$2,32 \times 10^7$	$5,14 \times 10^6$	22,16
	$2,62 \times 10^7$			
	$1,28 \times 10^6$			
Hexano	$2,64 \times 10^6$	$2,54 \times 10^6$	$1,21 \times 10^6$	47,66
	$3,70 \times 10^6$			
	$3,33 \times 10^5$			
Acetato de Etila	$5,42 \times 10^5$	$7,58 \times 10^5$	$5,65 \times 10^5$	74,55
	$1,40 \times 10^6$			

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Após os valores de média obtidos pode-se calcular as variâncias e desvio padrão, sendo possível a geração do diagrama de blocos (**Figura 20**). Neste diagrama de blocos é apresentado a informação dos valores máximo e mínimo identificados referente à área de psilocina, à mediana, e do valor central do conjunto de áreas inseridos, de cada solvente testado. A partir desse diagrama podemos observar que os melhores solventes extratores foram o metanol, diclorometano e acetona, uma vez que apresentaram maiores valores de área

obtida.

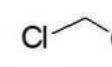
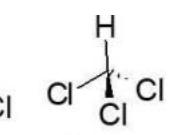
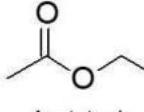
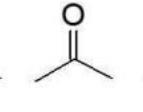
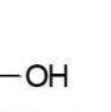
Figura 20 - Diagrama de blocos com a comparação dos solventes utilizados em relação a área do pico cromatográfico da psilocina na amostra de cogumelo alucinógeno adquirida comercialmente.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

O fenômeno observado (**Figura 20**) onde diclorometano, metanol e acetona apresentaram a maior área de pico cromatográfico da psilocina pode ser explicado pela constante dielétrica (**Figura 21**). A constante dielétrica é uma medida de polaridade e capacidade de dissolução de compostos iônico. Observou-se que o diclorometano, metanol e acetona são os solventes com maior constante dielétrica o que resultou na sua maior capacidade de solubilizar a psilocina entre os solventes avaliados. Isso indica a necessidade de uso de solvente de média polaridade para melhor interação intermolecular com a psilocina.

Figura 21 - Solventes testados para extração da psilocina organizados em ordem crescente de polaridade e seus respectivos valores de constante dielétrica.

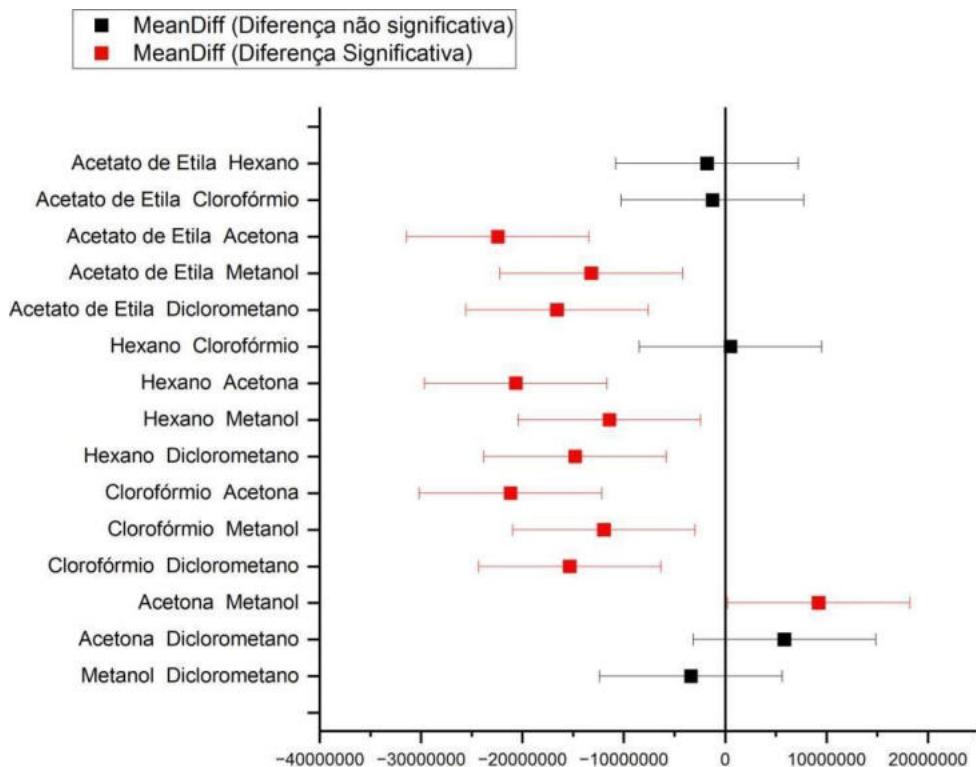
						
- Polar	Hexano	Diclorometano	Clorofórmio	Acetato de etila	Acetona	Metanol + Polar
Constante dielétrica (25°C)	1,89	9,14	4,87	6,02	20,7	33,6
Densidade (g cm ⁻³)	0,661	1,33	1,49	0,902	0,784	0,792

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

A dispersão dos valores de área absoluta do pico cromatográfico (**Figura 20**), indica uma baixa repetibilidade gerando uma maior amplitude interquartil, ou seja, os valores de área encontrados estão amplamente distribuídos em torno da mediana calculada. Esse comportamento era esperado devido a matriz trabalhada, que por ser um produto natural, pode apresentar variáveis ao longo da extração que influenciem no aumento da dispersão de valores, como: partes diferentes maceradas juntas (no caso o caule e chapéu do cogumelo) tornando a composição da amostra preparada não homogênea. No caso dos solventes com menores áreas (clorofórmio, hexano e acetato de etila), indica que a extração da psilocina ocorreu com menor eficiência e consequentemente a variação de seus valores de área tornou-se pequena, apresentando uma menor amplitude interquartil.

O teste de Tukey realizado através de comparações múltiplas de médias para verificação de diferenças estatísticas entre os valores demonstrou que não ocorreu uma diferença estatística significativa entre a utilização de acetona ou diclorometano; metanol ou diclorometano, dentre os solventes que obtiveram maior área do pico cromatográfico (**Figura 22**).

Figura 22 - Gráfico do Teste de Tukey de comparações múltiplas dos solventes utilizados para teste na extração da psilocina. A coloração vermelha indica as combinações que apresentam diferença significativa e a coloração preta não possui uma diferença significativa.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

O melhor desempenho dos solventes além de possuir uma relação com a polaridade semelhante à da molécula-alvo (psilocina) também é influenciado pela cavitação, que é um fenômeno que ocorre durante a utilização do banho ultrassônico. A cavitação é um processo de redução da pressão com a aceleração do líquido, gerando a formação de bolhas de ar instáveis. Essas bolhas geradas se movem rapidamente e ao se chocarem umas com as outras são capazes de quebrar ligações ou acelerar reações. Algumas reações ocorrem mais rapidamente durante a utilização do ultrassom pois há um aumento na temperatura do meio. O processo de cavitação também é capaz de gerar alterações na estrutura molecular dos compostos ali presentes e gera influências nas interações intermoleculares (Chemat *et al.*, 2017).

Portanto, pode-se inferir que a cavitação que ocorre durante o processo de extração também favorece a utilização de determinado solvente (diclorometano e acetona) em detrimento de outros. Esse favorecimento tem relação com a

densidade dos solventes utilizados. Durante o processo de cavitação há um aumento na velocidade das ondas ultrassônicas com os solventes de menor densidade, porém há um maior efeito do impacto das moléculas com solventes de maior densidade, em ambos os casos há um favorecimento da extração (Chen *et al.*, 2021; Pingret; Tixier, Sylvie; Chemat, 2013).

Assim, ao se comparar a densidade dos solventes (**Figura 21**) temos que o DCM apresenta um dos maiores valores ($d = 1,33 \text{ g cm}^{-3}$), e, com isso, é favorecido no processo de cavitação uma vez que há uma maior energia no choque de suas moléculas com as demais, possibilitando maior disponibilidade de psilocina em solução.

Portanto foi feita a escolha de dois solventes para realização dos testes com modificadores: acetona e diclorometano, por terem apresentado as maiores áreas (**Figura 20**) e serem estatisticamente semelhantes entre si (**Figura 22**). Sendo assim, estes foram utilizados na etapa subsequente para a seleção do melhor modificador para extração da psilocina.

6.2 AVALIAÇÃO DE MODIFICADORES PARA O SOLVENTE EXTRATOR

Os modificadores são utilizados na extração com o objetivo de aumentar a disponibilidade de psilocina durante o processo. O pH é um fator muito importante a ser trabalhado uma vez que entendendo o funcionamento da psilocina em diferentes condições ácidas e básicas pode-se obter uma extração mais vantajosa. Os modificadores também auxiliam na redução de interferências e impurezas obtidas durante o processo extrativo. Tal fato é importante considerando que o trabalho é realizado com produto natural que é composto por uma gama de metabolitos especializados. Portanto, é muito importante a utilização de recursos que possibilitem uma maior seletividade ao longo do processo extrativo.

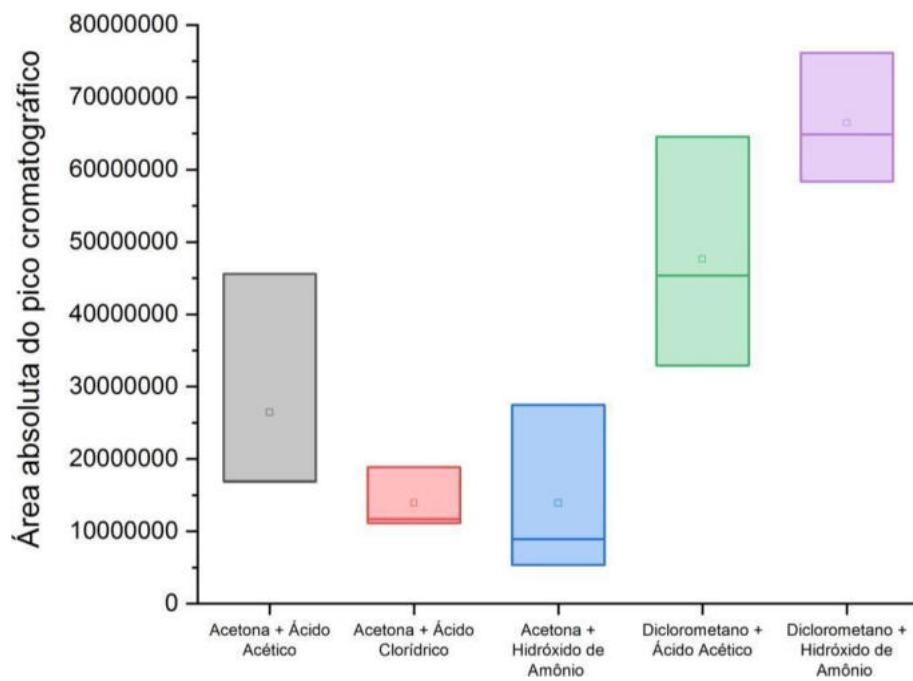
Como já mencionado anteriormente, a psilocibina passa pela reação de desfosforilação se convertendo em psilocina (**Figura 11**), portanto, os modificadores testados visam promover as condições necessárias para ocorrência dessa reação, consequentemente aumentando a disponibilidade da psilocina para extração. Os testes foram realizados utilizando a proposta de um ácido forte (HCl), um ácido fraco (CH_3COOH) e uma base fraca (NH_4OH) que já foram relatados na literatura com o mesmo objetivo do trabalho (Goff *et al.*,

2024; Gutman; Tenne; Bretler, 2023; Mishraki-Berkowitz *et al.*, 2020; Laussmann; Meier-Giebing, 2010).

A psilocina, que é uma molécula que apresenta atividade psicoativa, possui um grupo amina livre o que lhe confere um caráter básico enquanto a psilocibina apresenta um caráter ácido na sua forma neutra. A psilocina em meio ácido pode sofrer protonação do seu grupo amina, aumentando sua solubilidade em solventes polares (Horita; Weber, 1962). Por outro lado, a mesma substância em meio básico se apresenta na sua forma neutra que possui mais afinidade com compostos apolares. Essa alteração de afinidade da molécula com o solvente terá grande influência na escolha da melhor combinação de solvente extrator e modificador.

Os solventes testados foram os que obtiveram o melhor rendimento extrativo na primeira etapa do trabalho (diclorometano e acetona). Entre as combinações de solvente e modificador avaliadas, aquelas que utilizaram diclorometano apresentaram as maiores áreas de pico cromatográfico, sendo que a combinação de diclorometano com hidróxido de amônio foi a que obteve o maior resultado nessa variável resposta com o menor desvio padrão (**Figura 23**).

Figura 23 - Diagrama de blocos com os resultados obtidos a partir dos testes realizados dos solventes e modificadores.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

O hidróxido de amônio foi capaz de realizar a melhor extração da psilocina (**Figura 23**) pois este modificador é capaz de promover uma alcalinização do meio favorecendo a desfosforilação alcalina da psilocibina, além de garantir a disponibilidade da psilocina na sua forma livre (desprotonada) para ser extraída através do deslocamento da reação de desprotonação no sentido dos produtos. A reação de desfosforilação, que é a remoção do grupo fosfato da psilocibina, ocorre tanto em meio ácido como alcalino, a diferença está nas enzimas envolvidas no processo. No caso da desfosforilação básica os cogumelos alucinógenos têm sua psilocibina rapidamente convertida a psilocina pela fosfatase alcalina. Nos usuários essa reação ocorre comumente no fígado pela esterase inespecífica na mucosa intestinal, em pH em torno de 7,4 (Meng *et al.*, 2025; Horita; Weber, 1961). Em contraste, a fosfatase ácida geralmente ocorre de forma espontânea no estômago dos usuários e gera-se uma psilocina mais lipofílica que tem a sua absorção facilitada pelas membranas celulares (Meng *et al.*, 2025; Gotvaldová *et al.*, 2021).

Além da desfosforilação da PSB também é importante que ocorra a desprotonação da PSI uma vez que a psilocina nessa forma é mais apolar e consequentemente mais solúvel em solventes orgânicos. A partir do momento que utilizamos um modificador adequado junto a um solvente que seja capaz de solubilizar o nosso composto alvo, conseguimos um resultado melhor e uma maior concentração da psilocina ali presente.

Outro ponto importante a ser mencionado é que a psilocina por ser muito sensível se degrada em pH muito ácido e nos pH básicos corre sua desprotonação (Sarwar; Ph; McDonald, 2003). Sendo assim, nenhum valor de pH extremo (abaixo de 2,0 ou acima de 12,0) favorece a extração da psilocina, consequentemente bases ou ácidos fortes não são recomendados para serem utilizados como modificadores e isso pode ser constatado na combinação de acetona e ácido clorídrico utilizado (**Figura 23**). O ácido clorídrico por ser um ácido forte ($K_a \approx 10^7$) gera uma protonação muito intensa na psilocina o que pode ocasionar na sua degradação. Por isso é preferível a utilização de um ácido fraco como o ácido acético que apresenta $K_a = 3,75 \times 10^{-5}$ para que a molécula seja protonado de uma forma mais controlada e a extração apresente

melhores resultados.

Os modificadores testados geraram uma maior disponibilidade da psilocina de duas formas: com a utilização do NH₄OH temos ela na sua forma neutra e com CH₃COOH sua forma protonada. Quando a psilocina encontra-se com uma carga positiva ela se torna mais polar o que garante uma melhor solubilidade em compostos de polaridade semelhante, que é o caso da acetona. E quando há a utilização da base fraca a psilocina encontra-se neutra e com uma melhor solubilidade em compostos de baixa polaridade, como o DCM, por exemplo.

Porém, pode-se notar que mesmo quando é utilizado o CH₃COOH junto ao DCM a psilocina ainda apresenta uma extração com pelo menos 40% a mais de psilocina quando comparado as combinações de acetona avaliadas, considerando a área absoluta do pico cromatográfico (**Tabela 8**). Isso se deve ao fato da psilocina possuir na sua estrutura um anel indol aromático e uma cadeia lateral com hidroxila que garantem uma região apolar capaz de interagir com o diclorometano por forças de dispersão (*Van Der Waals*) (Casale, 1985). No caso da utilização do hidróxido de amônio com a acetona para o processo extractivo acontece uma redução na solubilidade da psilocina e por isso uma menor área da psilocina (13924457,32) é observado (**Tabela 8**), o que indica uma menor quantidade de substância extraída. Caso a concentração do NH₄OH utilizado fosse maior isso poderia provocar inclusive uma precipitação no meio pois seria excedido o limite de solubilidade dando início ao processo de precipitação por supersaturação, que é um sistema mais instável.

Tabela 8. Valores de área, média e desvio padrão das combinações de solvente e modificadores testados utilizados para a geração do diagrama de blocos.

Solvente + Modificador	Área	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação (%)
Diclorometano + Ácido acético	$3,29 \times 10^7$			
	$4,54 \times 10^7$	$4,76 \times 10^7$	$1,59 \times 10^7$	33,45
	$6,45 \times 10^7$			
Diclorometano + Hidróxido de amônio	$5,84 \times 10^7$			
	$6,49 \times 10^7$	$6,65 \times 10^7$	$8,99 \times 10^6$	13,54
	$7,61 \times 10^7$			
Acetona + Ácido clorídrico	$1,89 \times 10^7$			
	$1,11 \times 10^7$	$1,39 \times 10^7$	$4,33 \times 10^6$	31,10
	$1,17 \times 10^7$			
Acetona + Ácido acético	$1,69 \times 10^7$			
	$1,69 \times 10^7$	$2,65 \times 10^7$	$1,65 \times 10^7$	62,55
	$4,56 \times 10^7$			
Acetona + Hidróxido de amônio	$5,37 \times 10^6$			
	$8,92 \times 10^6$	$1,39 \times 10^7$	$1,18 \times 10^7$	85,23
	$2,75 \times 10^7$			

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Portanto, a escolha do modificador tem relação não apenas com a psilocina, mas com o solvente a ser utilizado, uma vez que modificadores diferentes fazem a psilocina assumir caráter de acidez diferentes, o que interfere na sua interação com os solventes (**Quadro 3**).

Quadro 3. Representação das combinações de solvente extrator e modificadores testados e comportamento da psilocina com os mesmos.

Solvente + Modificador	Forma da psilocina	Solubilidade no solvente
Diclorometano + Ácido acético	Protonada	Pouco solúvel
Diclorometano + Hidróxido de amônio	Neutra	Muito solúvel
Acetona + Ácido acético	Protonada	Muito solúvel
Acetona + Hidróxido de amônio	Neutra	Pouco solúvel

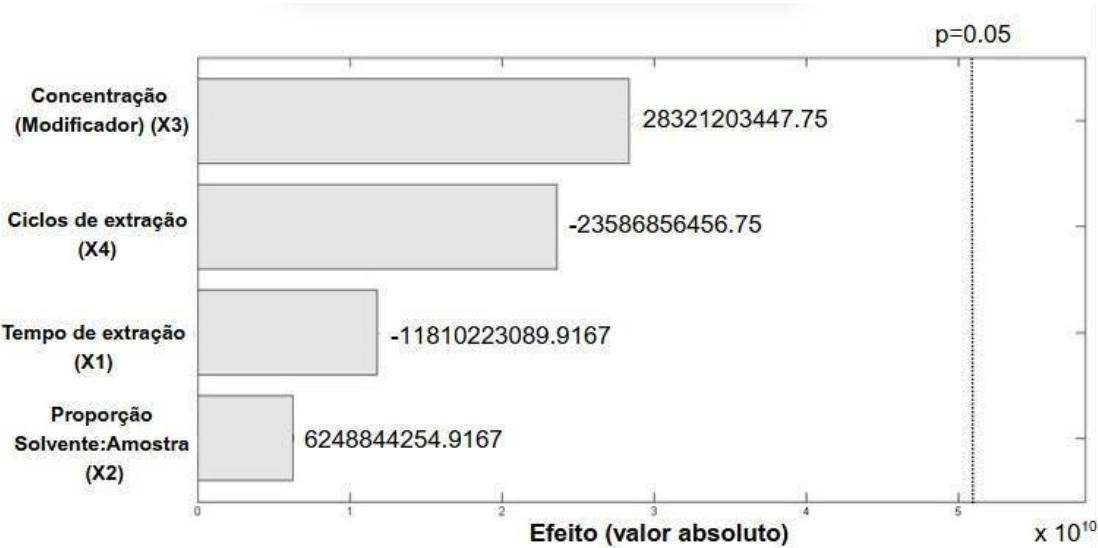
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Em decorrência dos fatores expostos e resultados obtidos tem-se como melhor combinação para extração da psilocina a utilização do diclorometano como solvente extrator e o hidróxido de amônio para a função de modificador. Os estudos que se seguiram foram realizados utilizando esses parâmetros.

6.3 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO

A partir da definição do diclorometano e o hidróxido de amônio como solvente e modificador, respectivamente, os dados obtidos foram aplicados no DoE para avaliação de outros parâmetros que poderiam influenciar na extração da psilocina em cogumelos alucinógenos. Os parâmetros avaliados foram: tempo de extração (X_1), proporção solvente:amostra (g:mL) (X_2), concentração do modificador (X_3) e quantidade de ciclos de extração (X_4). De acordo com o gráfico de Pareto podemos observar que o efeito das variáveis foi menor do que o p-valor crítico para o intervalo de confiança de 95% ($p=0,05$) (**Figura 24**). Isso indica que não existe uma diferença estatística entre os níveis avaliados. Como os parâmetros avaliados não apresentaram efeito significativo podemos considerar as tendências relacionadas a magnitude dos efeitos para determinar as melhores condições de extração. Os sinais atrelados aos valores de efeito observados indicam qual nível apresentou o maior resultado na variável resposta (área absoluta do pico cromatográfico da psilocina). Assim foram selecionados os níveis com maior influência na variável resposta observando-se o valor do sinal de cada efeito e avaliando os melhores resultados de coeficiente de variância atrelado a redução de gastos.

Figura 24 - Gráfico de Pareto com a comparação dos parâmetros analisados no DoE com intervalo de confiança de 95%.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Avaliando o valor dos efeitos e levando em consideração o sinal matemático de cada um, pode-se observar que para o tempo de extração que apresentou um efeito com o sinal - atrelado (**Figura 24**), indicando o nível -1 (**Tabela 4**) que estava relacionado ao tempo de 10 minutos apresentou uma maior resposta, ou seja, uma maior área do pico cromatográfico da PSI. Para entender como o tempo de extração afetou o resultado foram considerados todos os processos que ocorreram durante a sonicação.

A utilização do ultrassom gera um aumento da temperatura, o que no caso da psilocina pode levar a sua degradação pelo fato dessa ser uma substância termossensível que se degrada em temperaturas a partir de 50 °C (Gotvaldová *et al.*, 2021). Além disso, a cavitação também pode promover a formação de radicais livres que geram a oxidação da psilocina, podendo transformá-la em compostos indesejados que interferem na extração. Ainda, expor as amostras a longos períodos de extração no ultrassom pode gerar um rompimento excessivo da parede celular dos cogumelos, ocasionando assim a liberação de compostos indesejados que podem mascarar a concentração de psilocina presente, como outras triptaminas, compostos fenólicos ou ácidos orgânicos, e contaminação do extrato final (Sherwood *et al.*, 2020). Em suma, todos esses fatores podem causar a degradação da psilocina e sua reação com outros compostos ali presentes. Estudos comprovam que o tempo ideal de utilização

do ultrassom para extração da psilocina está entre 5 e 15 minutos (Keller *et al.*, 1999) o que condiz com os resultados aqui apresentados. Portanto com essas propostas tem-se uma explicação plausível do motivo de serem obtidos melhores resultados com um tempo de utilização do ultrassom reduzido.

No que diz respeito à proporção de solvente:amostra, o valor do efeito estava atrelado a um sinal positivo (**Figura 24**) indicando o nível +1 (**Tabela 4**), de proporção 5:1, como o que ocasionou um aumento na área do pico cromatográfico da psilocina. A proporção entre solvente extrator e amostra é um fator crucial na extração de produtos naturais visto a ocorrência do gradiente de concentração. No processo de extração da amostra toda a psilocina inicialmente encontra-se na matriz (cogumelo), porém após a quebra da parede celular, a PSI passa a ter acesso ao solvente disponibilizado para extração e tem-se início o processo de difusão das moléculas por gradiente de concentração. O gradiente de concentração se dá sempre que há um ponto de maior concentração que induz a difusão do analito para o solvente extrator (menor concentração). Com maior proporção de solvente:amostra o gradiente de concentração se torna maior e a difusão mais efetiva favorecendo a extração da psilocina. Justificando assim o nível +1 (proporção de solvente:amostra de 5:1 (g:mL)) apresentar um melhor desempenho de extração.

Para a quantidade de ciclos de extração o nível que apresentou o maior efeito foi o nível -1 (**Figura 24** e **Tabela 4**) que representa apenas 1 ciclo de extração. Todo solvente possui um limite de saturação que ao ser atingido impossibilita a continuidade de um processo extrator. Esse fenômeno de saturação do solvente e utilização de ciclos de extração contínuos é a mesma estratégia utilizada na extração por *Soxhlet*. Geralmente se utiliza mais de 1 ciclo de extração quando o analito-alvo se encontra em uma concentração suficiente para saturar o solvente extrator. No caso dos cogumelos alucinógenos há uma baixa concentração da psilocina em sua composição, de 1 a 2% (Laussmann; Meier-Giebing, 2010), o que leva a hipótese de que com 1 ciclo de extração não houve a saturação do solvente. Portanto, o uso de 3 ciclos (nível +1, **Tabela 4**) não causa um aumento na área do pico cromatográfico da psilocina (variável-resposta). Com isso, o efeito desse parâmetro é favorável para apenas 1 ciclo. Uma vez que não há diferença

estatística entre 1 ou 3 ciclos de extração, não é necessário a utilização de mais ciclos possibilitando uma maior economia de tempo e insumos (Galdino *et al.*, 2025).

Por fim, no que diz respeito a concentração dos modificadores, o nível +1 (**Figura 24** e **Tabela 4**), o modificador com concentração de 12%, apresentou maior efeito na variável-resposta. Entretanto, ao utilizar o modificador em maior concentração (nível +1) foi observado que o coeficiente de variação (CV) aumentava em relação ao nível -1. Sendo que o experimento 6 (**Tabela 9**) que utilizou os melhores parâmetros de extração seguindo a tendência do gráfico de Pareto foi o que apresentou o maior CV, indicando uma perda de precisão do método. Considerando a hipótese de que quanto maior o desvio do pH de valores entre 4-7, maiores são as chances de ocorrer uma degradação da psilocina, que é muito instável, foi tomada a decisão de realizar o experimento utilizando o tempo de extração de 10 minutos com apenas 1 ciclo de extração e proporção de solvente:amostra de 5:1 (g:mL) (condições com maior efeito na variável-resposta), porém com a concentração do modificador em 6%.

Tabela 9. Experimentos realizados pelo DoE com amostra de cogumelo alucinógeno adquirida comercialmente e os valores de média, desvio padrão e coeficiente de variação obtidos.

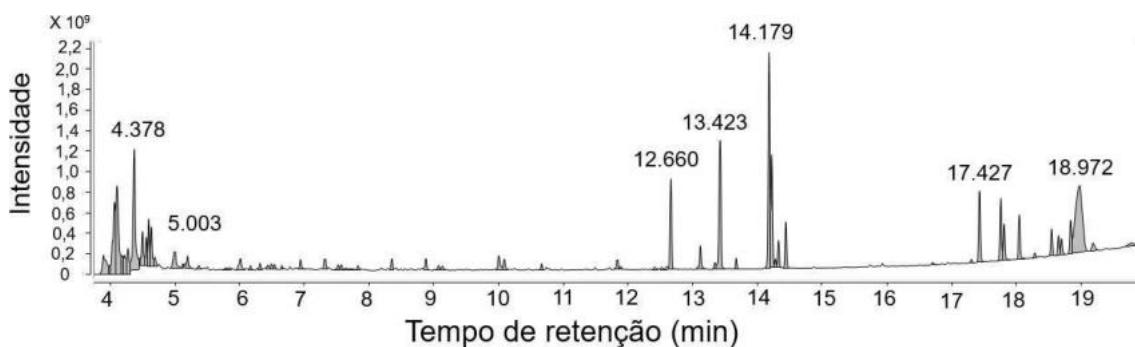
Exp.	Prop. S:A (g:mL)	Conc. Mod. (%)	Tempo (min)	Ciclos	Média	Desv. Pad.	CV (%)
1	2:1	6	10	1	$1,86 \times 10^9$	$4,51 \times 10^9$	24,21
2	2:1	12	10	3	$2,20 \times 10^9$	$7,73 \times 10^8$	35,08
3	5:1	6	10	3	$1,90 \times 10^9$	$3,51 \times 10^8$	18,47
4	5:1	12	10	1	$2,46 \times 10^9$	$9,99 \times 10^8$	40,54
5	2:1	6	30	3	$1,76 \times 10^9$	$4,76 \times 10^8$	26,95
6	2:1	12	30	1	$2,23 \times 10^9$	$6,00 \times 10^8$	26,83
7	5:1	6	30	1	$2,10 \times 10^9$	$3,17 \times 10^8$	15,1
8	5:1	12	30	3	$1,85 \times 10^9$	$3,66 \times 10^8$	19,76

Exp.: número do experimento; Prop S:A: Proporção de solvente e amostra; Conc. Mod: Concentração do modificador; Tempo: Tempo de extração, Média: média da área dos picos cromatográficos, Desv. Pad: desvio padrão, CV: coeficiente de

variação. Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Ao realizar esse teste (**Figura 25**) observou-se um aumento na variável-resposta (área do pico cromatográfico da psilocina) e redução do CV para 5,06%. Isso comprova que o nível -1 (**Tabela 4**) para a concentração do modificador, resultou em uma maior precisão na extração da psilocina.

Figura 25 - Cromatograma da amostra de cogumelo alucinógeno obtida comercialmente no ano de 2023; t_R da psilocina = 13,42 realizado com as melhores condições de análise estudadas (1 ciclo de extração de 10 minutos, modificador na concentração de 6% e proporção de solvente:amostra de 5:1 (g:mL)).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

O método desenvolvido possibilitou uma rápida e eficaz extração da psilocina. Nesse trabalho pode-se reduzir em até 90% o tempo de extração quando a comparado a outros relatos da literatura que utilizam o ultrassom por 1 a 3 horas (Zhuk *et al.*, 2015; Laussmann; Meier-Giebing, 2010). Além disso, os gastos de extração foram reduzidos por não haver a necessidade da utilização de aquecimento e pela proporção de solvente:amostra (g:mL) ser menor que relatado na literatura (Goff *et al.*, 2024; Gutman; Tenne; Bretler, 2023; Mishraki-Berkowitz *et al.*, 2020; Laussmann; Meier-Giebing, 2010). Deve-se elencar também como um fator favorável ao método desenvolvido o lado ambiental e mais verde que essa extração possui, associada a posterior análise por CG.

Com isso, as condições de extração otimizadas foram: 1 ciclo de extração; 10 minutos de extração; proporção solvente:amostra de 5:1 (g:mL); e

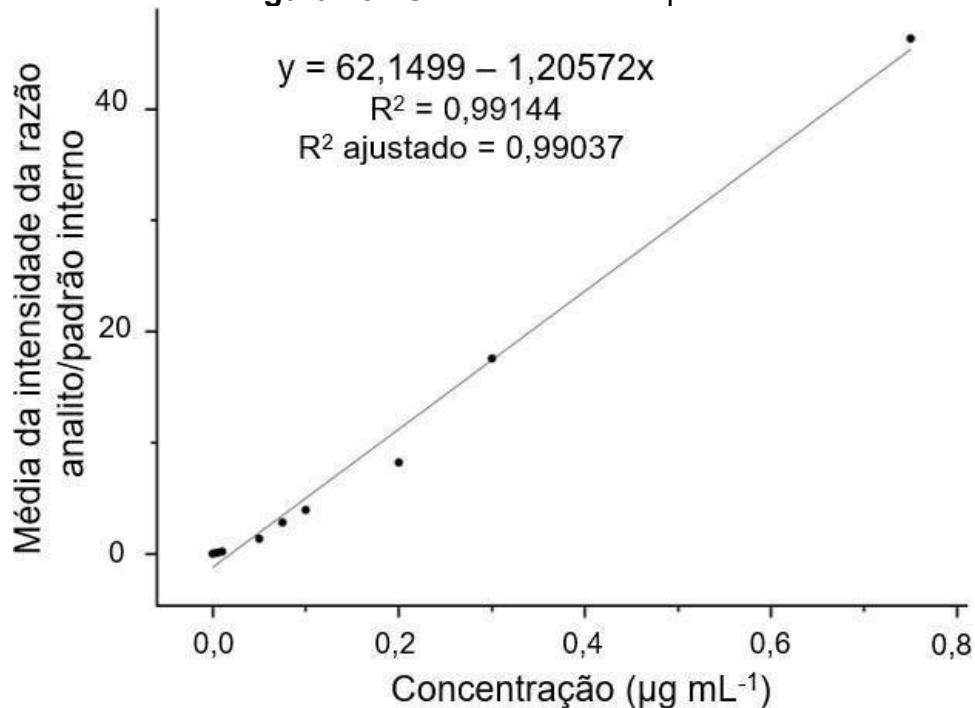
concentração do modificador de 6%. Essas condições foram aplicadas em todas as análises realizadas com as 3 amostras de cogumelos comestíveis e 5 amostras de apreensão da PCERJ.

6.4 QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE COGUMELOS ALUCINÓGENOS DE APREENSÃO

A quantificação da psilocina nas amostras de cogumelos alucinógenos foi realizada baseando-se em uma curva analítica com o padrão de psilocina, utilizando uma faixa de trabalho de 0,005 a 0,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (**Figura 26**). Para a construção da curva foi utilizado a média da intensidade de cada ponto para obtenção de uma maior precisão e representatividade dos dados a serem obtidos.

Em todos os pontos de concentração foi utilizado como padrão interno a bufotenina com o objetivo principal de corrigir variações experimentais possibilitando um aumento da precisão e exatidão. Todas as quantificações foram realizadas utilizando o experimento de MRM monitorando a transição m/z 348 \rightarrow 58 como variável-resposta. Assim, utilizou- se a intensidade absoluta desse íon quantificador (pico base) (**Figura 18**) m/z 58 para construção da curva analítica por ser o que se encontra em maior intensidade. Vale ressaltar que a transição m/z 348 \rightarrow 290 foi utilizada como íon identificador da psilocina.

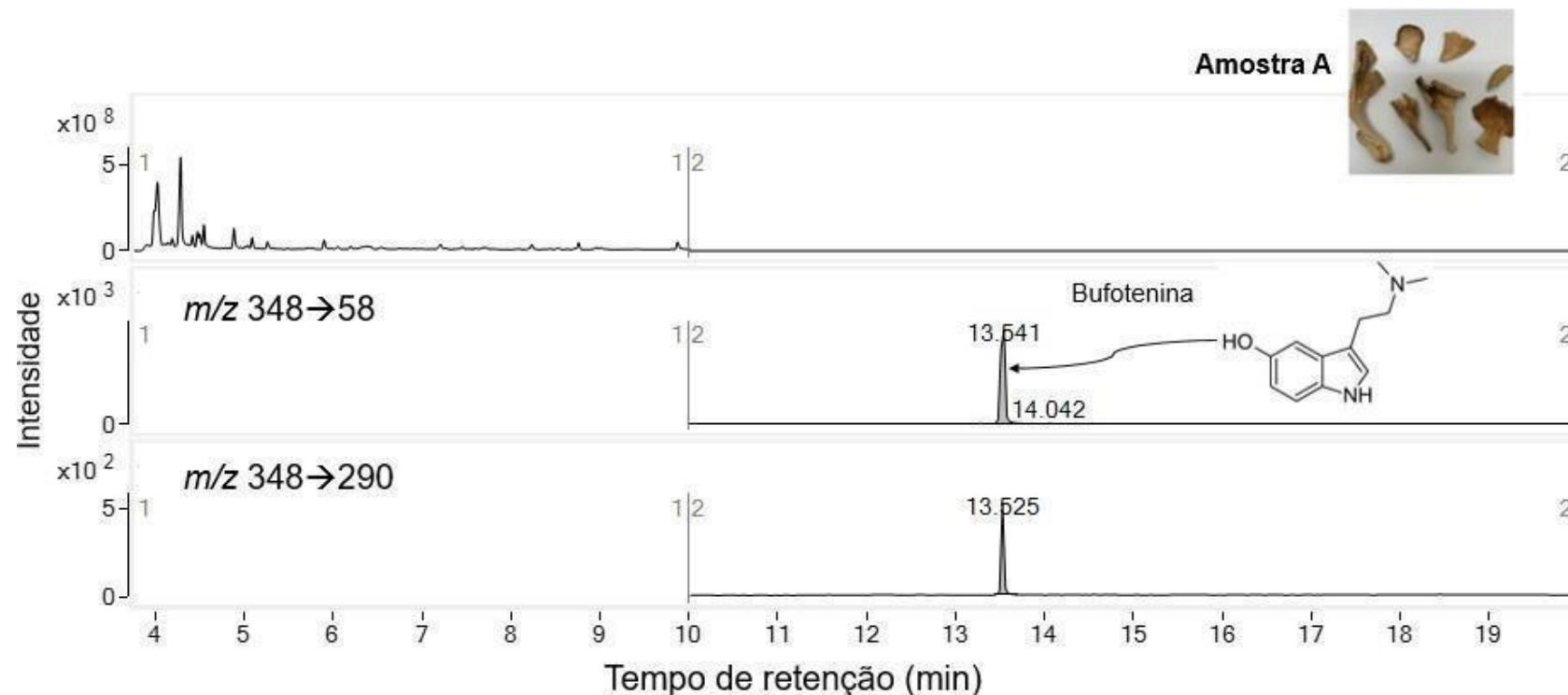
A curva analítica gerada apresentou um R^2 de 0,99144, que de acordo com a literatura indica uma relação linear bem próxima (Guimarães *et al.*, 2013). O R^2 (coeficiente de determinação) é uma medida estatística que indica a proporção da variabilidade dos dados que é explicada por um modelo de regressão. Já o R^2 ajustado corrige o R^2 levando em consideração o número de variáveis independentes no modelo, evitando a superestimação do ajuste em casos com muitas variáveis. Diferente do R^2 , o R^2 ajustado pode reduzir seu valor com a inclusão de variáveis irrelevantes, sendo mais adequado para avaliar modelos múltiplos (Miles, 2014).

Figura 26 - Curva analítica da psilocina.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

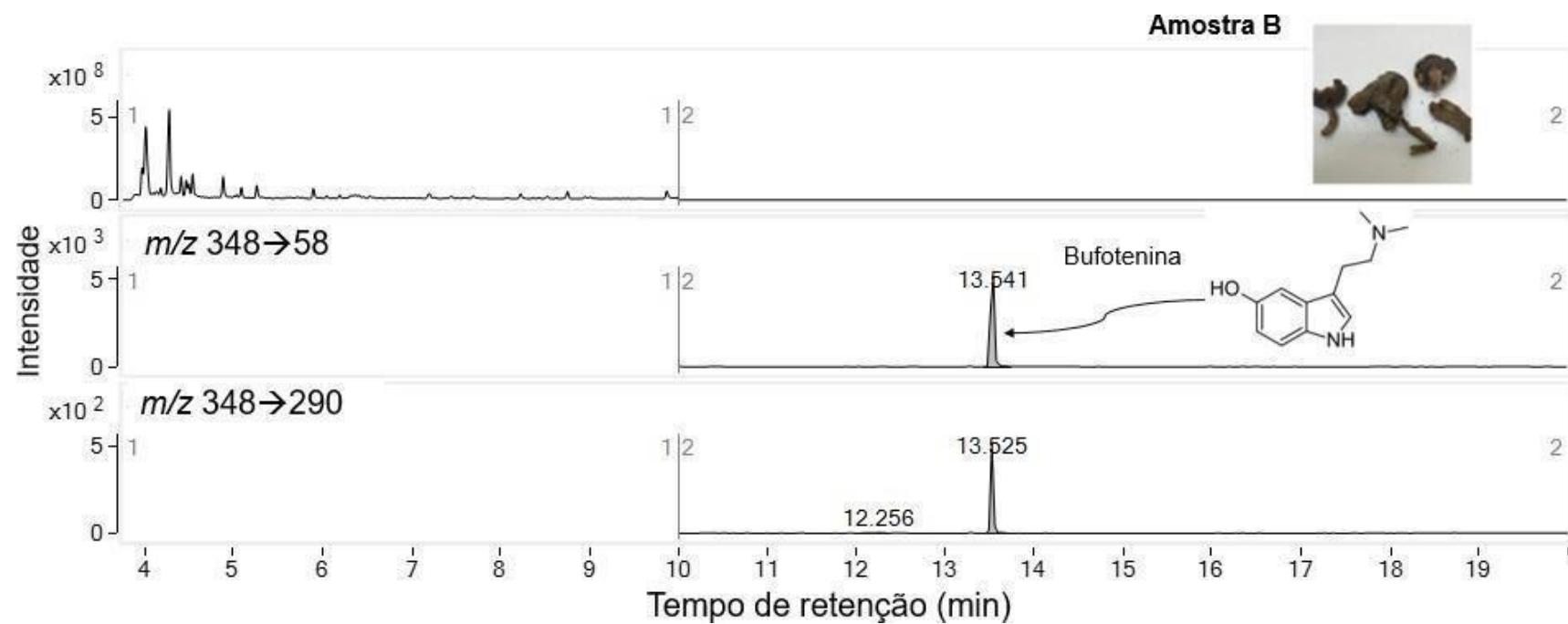
O MRM foi utilizado visto que as amostras de cogumelos alucinógenos podem possuir uma baixa concentração de psilocina, 0,6 g por kg seco, (Laussmann; Meier-Giebing, 2010). Dentre amostras avaliadas não houve a identificação de psilocina nos cogumelos comestíveis obtidos comercialmente (cromatogramas **Figuras 27-29**). Nas amostras de apreensão (cromatogramas **Figuras 30-34**) em apenas 1 não houve a identificação da psilocina (amostra G, **Figura 33**). Vale ressaltar que a identificação da psilocina foi confirmada pela observação das duas transições monitoradas no experimento de MRM (m/z 348→290 e m/z 348→58).

Figura 27 - Cromatograma em MRM (transições m/z 348 \rightarrow 58 e m/z 348 \rightarrow 290) da amostra A, de cogumelo comestível (*Shimeji*) obtida comercialmente no ano de 2024.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Figura 28 - Cromatograma em MRM (transições m/z 348 \rightarrow 58 e m/z 348 \rightarrow 290) da amostra B, de cogumelo comestível (*Funghi*) obtida comercialmente no ano de 2024.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Figura 29 - Cromatograma em MRM (transições m/z 348 \rightarrow 58 e m/z 348 \rightarrow 290) da amostra C, de cogumelo comestível (*Shiitake*) obtida comercialmente no ano de 2024.

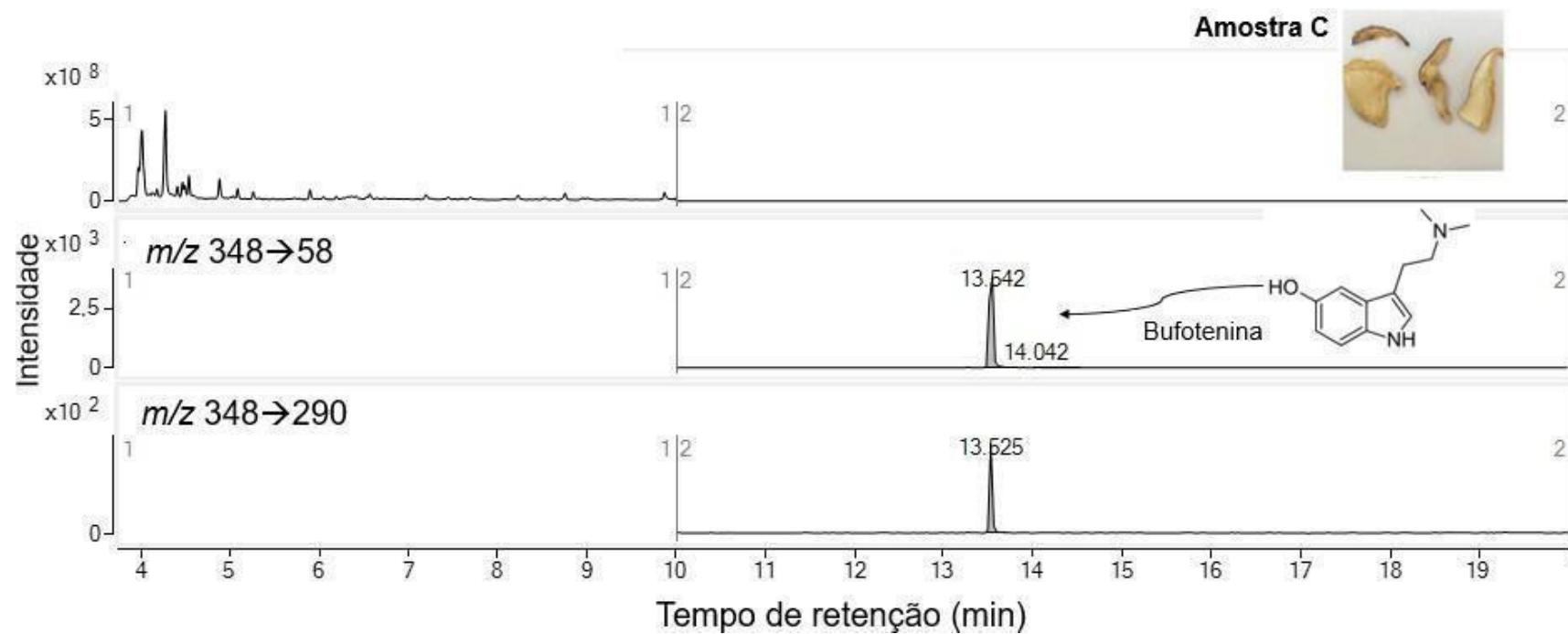
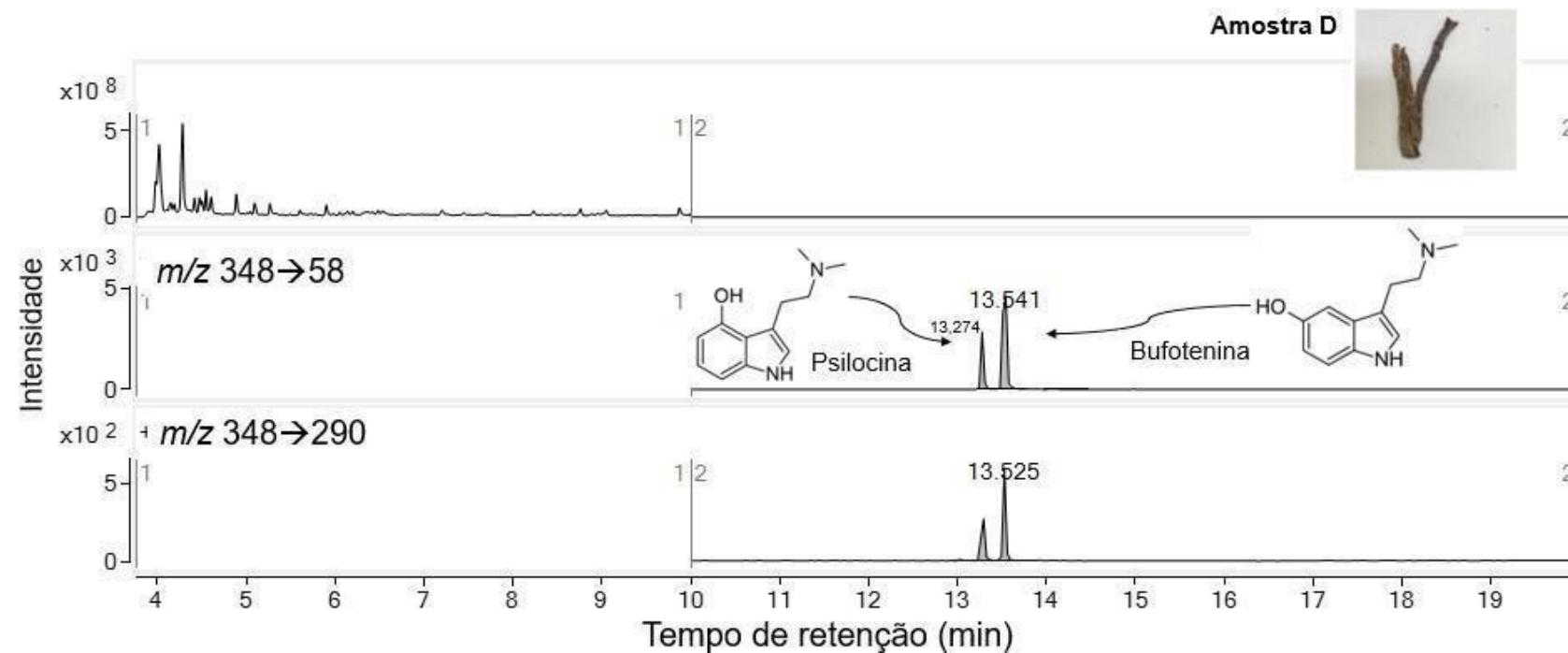
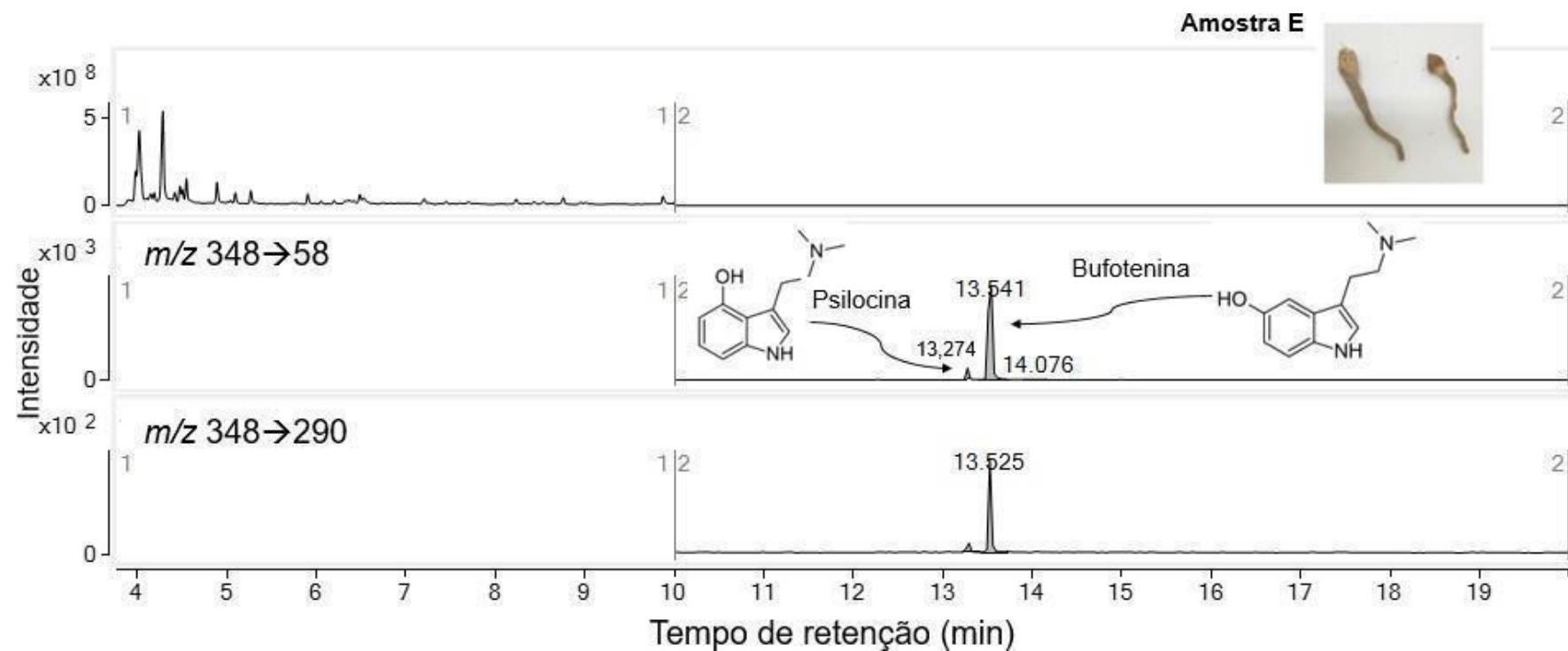


Figura 30 - Cromatograma em MRM (transições m/z 348 \rightarrow 58 e m/z 348 \rightarrow 290) da amostra D, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2021.



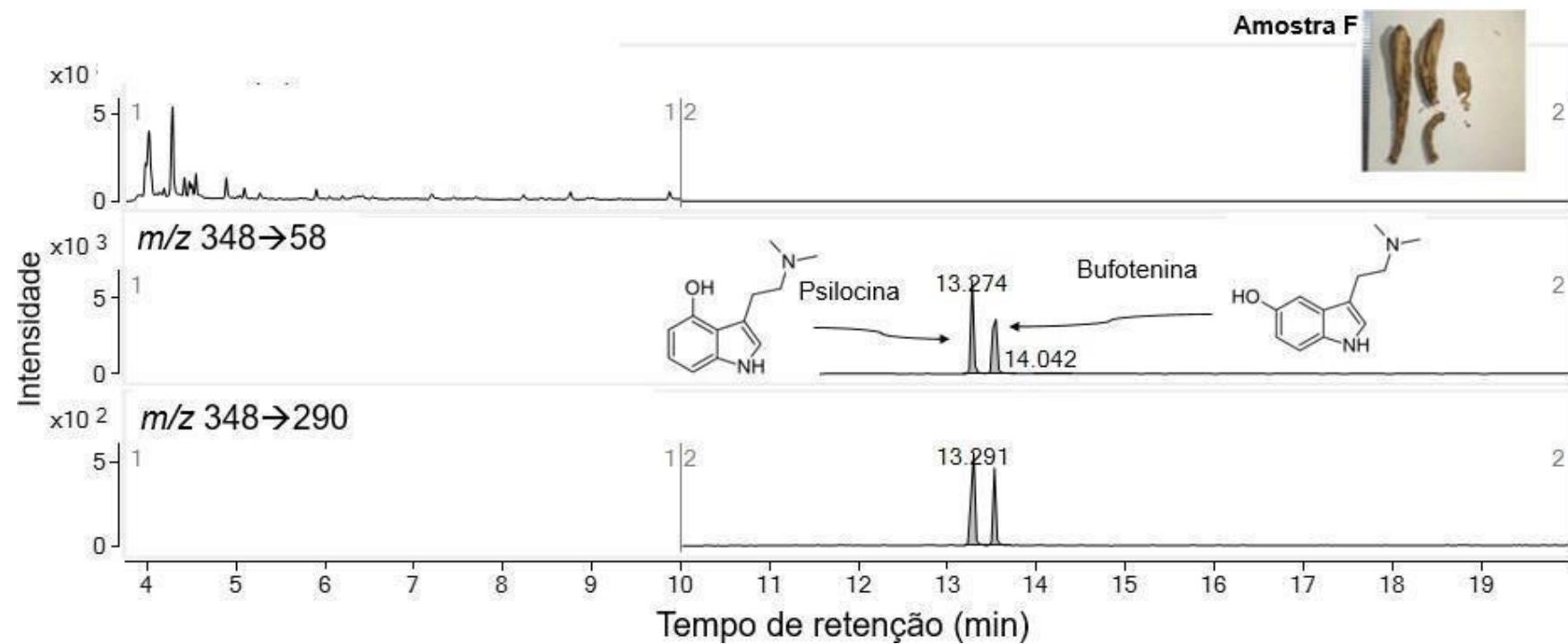
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Figura 31 - Cromatograma em MRM (transições m/z 348 -> 58 e m/z 348 -> 290) da amostra E, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2016.



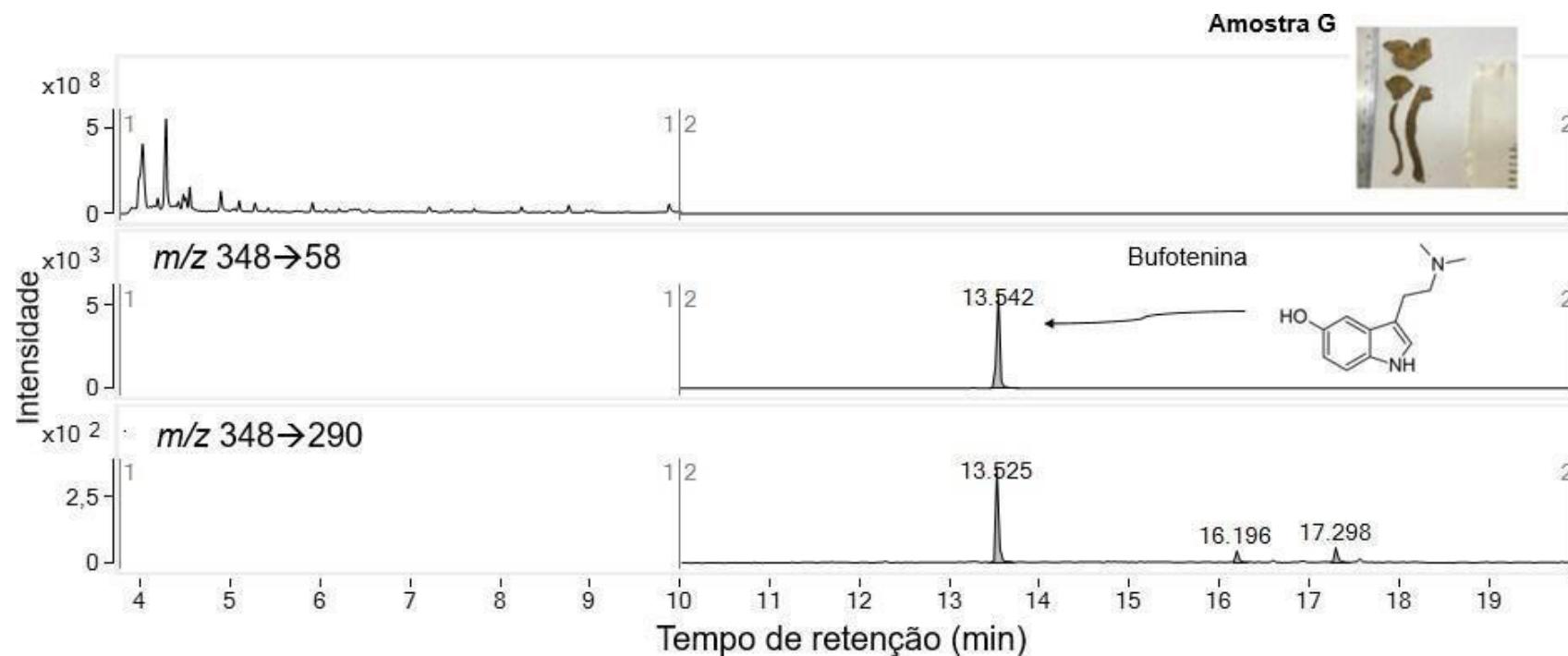
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Figura 32 - Cromatograma em MRM (transições m/z 348 \rightarrow 58 e m/z 348 \rightarrow 290) da amostra F, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2021.



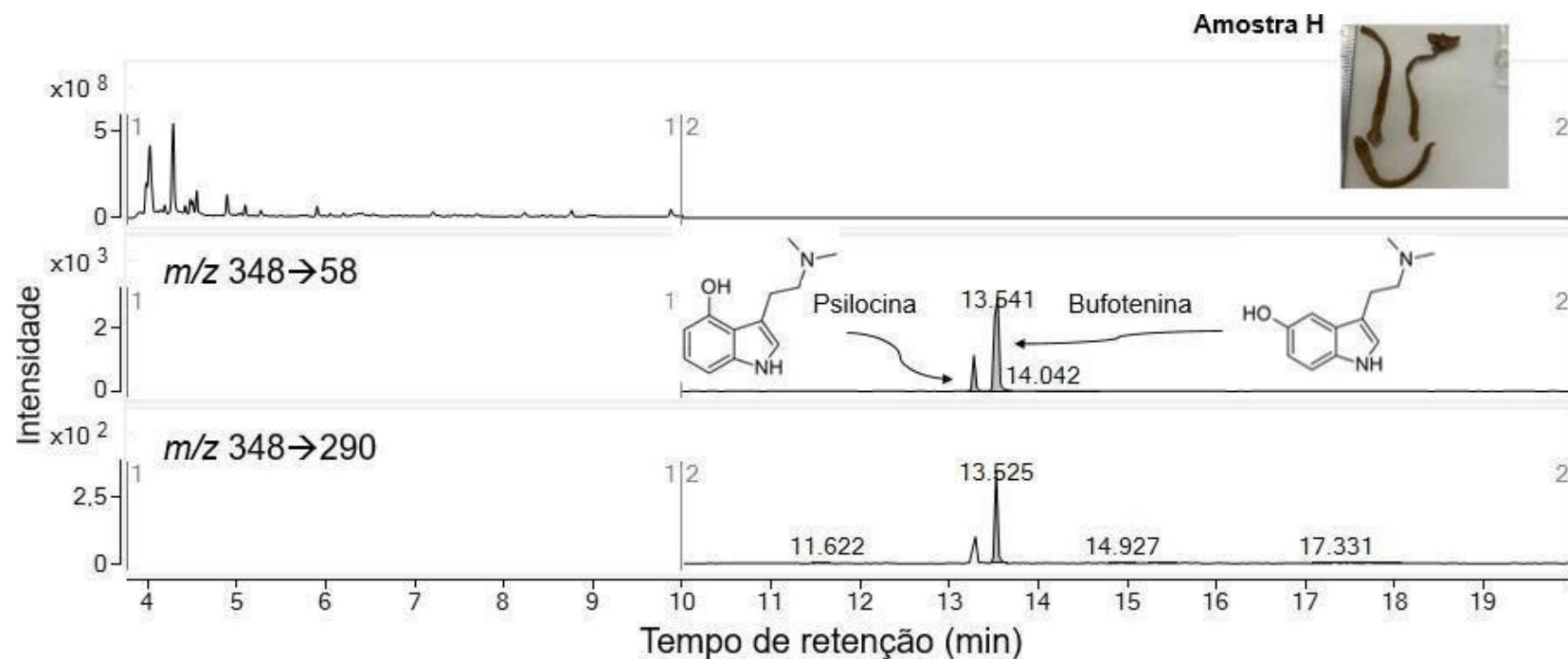
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Figura 33 - Cromatograma em MRM (transições m/z 348 \rightarrow 58 e m/z 348 \rightarrow 290) da amostra G, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2018.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Figura 34 - Cromatograma em MRM (transições m/z 348 \rightarrow 58 e m/z 348 \rightarrow 290) da amostra H, de cogumelo apreendido pela PCERJ em 2016.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

Durante a quantificação das amostras, aquelas que eram de cogumelos comestíveis não foram detectadas a substâncias psilocina (**Figuras 27-29** e **Tabela 10**). Já para 4 das 5 amostras apreendidas no período de 2016 a 2024 no Estado do Rio de Janeiro a concentração de psilocina variou de 0,00445 a 0,03279 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (**Tabela 10**). Segundo Kurzbaum (2025) o limite de detecção para análises na cromatografia gasosa é de 10 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco.

Tabela 10. Amostras estudadas, ano de apreensão e concentração de psilocina identificada.

Amostra	Ano	Imagen	Concentração de psilocina ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
A (Comestível do tipo <i>Shimeji</i>)	2024		Não detectado
B (Comestível do tipo <i>Funghi</i>)	2024		Não detectado
C (Comestível do tipo <i>Shiitake</i>)	2024		Não detectado
D (Apreensão)	2021		0,01272

F (Apreensão)	2021		0,03279
G (Apreensão)	2018		Não detectado
E (Apreensão)	2016		0,00445
H (Apreensão)	2016		0,00849

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2025.

A variação de concentração observada pode ser explicada por diversos fatores. Estudos realizados por Beug (1982) relatam diferenças entre colheitas distintas, e por vezes essa diferenciação ocorre dentro de um mesmo plantio. Ainda foi possível a conclusão de que a quantidade de psilocina varia de forma aleatória entre as colheitas (Bigwood; Beug, 1982). Além disso há uma grande diferença da presença de psilocina e psilocibina no chapéu e caule dos cogumelos. No chapéu estudos indicam haver o dobro de PSB do que no caule, enquanto no caule há uma quantidade maior de PSI (Bigwood; Beug, 1982). Neste trabalho foi utilizado todo o cogumelo (chapéu e caule) no

processo de maceração, entretanto, as quantidades de chapéu e caule por amostra não eram homogêneas o que pode ter influenciado na variação dos resultados de concentração.

Outro ponto relevante a ser levado em consideração na variação da concentração da PSI é a espécie e gênero do cogumelo analisado (Bradshaw *et al.*, 2022). Além disso cada espécie de cogumelo possui uma porcentagem diferente de PSI e PSB na sua composição. E, como não é possível a diferenciação morfológica dessas espécies, é necessário a realização de análises químicas para determinação da concentração de PSI e PSB. Alguns outros fatores que podem afetar o teor de psilocina na amostra são: condições ambientais do plantio; método e tempo de colheita uma vez que a partir do momento que a colheita é realizada a degradação da PSI e PSB se iniciam; armazenamento e processamento da amostra (exposição ao calor, luz, oxigênio e tempo) (Gotvaldová *et al.*, 2021); e erros analíticos (grosseiros e aleatórios).

O caso da amostra de apreensão da PCERJ (amostra G - cogumelo alucinógeno apreendido em 2018, **Tabela 10 e Figura 33**) a não identificação da psilocina pode ser explicada por alguns fatores. Como mencionado anteriormente, a psilocina é termossensível, exigindo cuidados durante o manuseio e armazenamento da amostra para evitar sua degradação. Assim, a ausência da PSI pode ter sido causada por: armazenamento inadequado, resultando na sua decomposição; tempo de elevado de estocagem (amostra de 2018); ou ainda pela possibilidade de o cogumelo analisado ter sido comercializado como alucinógeno sem, de fato, conter psilocina ou psilocibina.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo possibilitou o desenvolvimento de um método eficiente de extração da psilocina, com a seleção do solvente diclorometano e modificador hidróxido de amônio. De acordo com o DoE o método desenvolvido utilizou 10 minutos de extração, 01 ciclo de extração, modificador na concentração de 6% e proporção de solvente:amostra de 5:1 (g:mL).

A técnica analítica de CG-EM/EM permitiu a identificação e quantificação da psilocina em 04 das amostras de cogumelos alucinógenos apreendidas desde 2016, com concentrações nos valores de 0,00445; 0,00849; 0,01272 e 0,03279 $\mu\text{g mL}^{-1}$. E foi possível a confirmação da ausência de psilocina nas amostras de cogumelos comestíveis (*Shimeji*, *Funghi* e *Shiitake*). Apesar da dificuldade de análise da psilocina o método desenvolvido apresentou um resultado confiável com valores de coeficiente de variação dentro do esperado para produtos naturais com valores de 5 a 33%.

Sendo assim, o trabalho foi capaz de desenvolver um método otimizado de extração que possibilita a caracterização da psilocina reduzindo as dificuldades hoje apresentadas nas rotinas de perícias forenses. Tal desenvolvimento auxilia a inteligência policial uma vez que os mesmos se utilizam majoritariamente da técnica de CG-EM, facilitando o processo de transferência metodológica. Através dos dados gerados a polícia técnico científica será capaz de realizar a investigação de mais amostras em um menor espaço de tempo, contribuindo para uma resposta mais direcionada e eficaz no controle das drogas no país.

8 PERPECTIVAS FUTURAS

- Validação do método desenvolvido e publicação de um artigo;
- Avaliação das figuras de mérito do método desenvolvido: limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), precisão e exatidão, por exemplo;
- Avaliação de outras variáveis do processo de extração que podem influenciar a quantidade de psilocina obtida. Como exemplo temos a potência do ultrassom utilizado;
- Realização da metabolômica global dos cogumelos alucinógenos possibilitando a identificação de outros picos e substâncias presentes nessa matriz.

9 REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA BRASIL. **Campanha alerta sobre uso de álcool e drogas associado à direção.** Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2025-03/campanha-alerta-sobre-uso-de-alcool-e-drogas-associado-direcao#:~:text=Em%202024%20foram%20registrados%203.855,federais%20segundo%20dados%20da%20PRF>. Acesso em: 21 abr. 2025.
- AKERS, B. P.; RUIZ, J. F.; PIPER, A.; RUC, C. A. P. A prehistoric mural in Spain depicting neurotropic *Psilocybe* mushrooms? **Economic Botany**, v. 65, n. 2, p. 121–128, 2011. DOI: 10.1007/s12231-011-9152-5
- ANTONIASSI, G.; MELO, H. C. S.; MENDES, D. F.; SILVA, L. de A. M.; OLIVEIRA, R. F. dos S.; GAYA, C. de M. O uso de drogas por motoristas caminhoneiros e o comportamento de risco nas estradas. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 6, n. 4, p. 4–8, 2016. DOI: 10.17058/reci.v6i4.7968
- ANTONIO, A. da S. **Desenvolvimento, otimização e validação de método analítico para estudo quimiossistêmático do gênero *Ocotea* (Lauraceae) na Amazônia.** 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Amazonas, 2020.
- ARAÚJO, A. P. Analysis of variance of primary data on plant growth analysis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 1, p. 1–10, 2003. DOI: 10.1590/S0100-204X2003000100001
- BEUG, M. W.; BIGWOOD, J. Quantitative analysis of psilocybin and psilocin in *Psilocybe baeocystis* (Singer and Smith) by high-performance liquid chromatography and by thin-layer chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 207, n. 3, p. 379–385, 1981. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)88741-5
- BIGWOOD, J.; BEUG, M. W. Variation of psilocybin and psilocin levels with repeated flushes (harvests) of mature sporocarps of *Psilocybe cubensis* (Earle)

Singer. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 5, n. 3, p. 287–291, 1982.
DOI: 10.1016/0378-8741(82)90014-9

BRADSHAW, A. J.; BACKMAN, T. A.; RAMÍREZ-CRUZ, V.; FORRISTER, D. L.; WINTER, J. M.; GUSMÁN-DÁVALOS, L.; FURCI, G.; STAMETS, P.; DENTINGER, B. T. M. DNA authentication and chemical analysis of *Psilocybe* mushrooms reveal widespread misdeterminations in fungaria and inconsistencies in metabolites. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 88, n. 24, p. 1–18, 2022. DOI: 10.1128/aem.01498-22

BRITANNICA. Student's t test. Disponível em:
<https://www.britannica.com/science/Students-t-test>. Acesso em: 21 abr. 2025.

CARTA CAPITAL. Em decisão inédita, cultivador de cogumelos é absolvido em segunda instância. Disponível em:
<https://www.cartacapital.com.br/blogs/psicodelicamente/em-decisao-inedita-cultivador-de-cogumelos-e-absolvido-em-segunda-instancia/>. Acesso em: 21 abr. 2025.

CASALE, J. An aqueous-organic extraction method for the isolation and identification of psilocin from hallucinogenic mushrooms. **Journal of Forensic Sciences**, v. 30, n. 1, p. 247–250, 1985. PMID: 4038992

CEBRID. Livreto informativo sobre drogas psicotrópicas. **CEBRID Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas**, 2010.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIES, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 2017. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.06.035

CHEN, X.; WU, X.; LUAN, T.; JIANG, R.; OUYANG, G. Sample preparation and instrumental methods for illicit drugs in environmental and biological samples: A review. **Journal of Chromatography A**, v. 1640, p. 461961, mar. 2021. DOI: 10.1016/j.chroma.2021.461961

CIUCĂ ANGHEL, D. M.; NITESCU, G. V.; TIROŃ, A. T.; GUTU, C. M; BACONI, D. L. Understanding the Mechanisms of Action and Effects of Drugs of Abuse. **Molecules**, v. 28, n. 13, p. 1–27, 2023. DOI: 10.3390/molecules28134969

CLAYTON, S.; MARIO, L. J.; RINALDO, F. Avaliação de testes estatísticos de comparações múltiplas de médias. **Revista Ceres**, p. 350–354, 2015. DOI: 10.1590/S0034-737X2012000300008

CNN. **Uso de cogumelos mágicos cresce nos EUA, aponta novo estudo.** Disponível em: <<https://www.cnnbrasil.com.br/saude/uso-de-cogumelos-magicos-cresce-nos-eua-aponta-novo-estudo/>>. Acesso em 18 de maio de 2025.

CNN. **“Cogumelos mágicos”: laboratório de alucinógenos é encontrado em escritório de advocacia.** Disponível em: <<https://www.cnnbrasil.com.br/nacional/cogumelos-magicos-laboratorio-de-alucinogenos-e-encontrado-em-escritorio-de-advocacia/>>. Acesso em 18 de maio de 2025.

CODY, J. T. Hallucinogens. **Handbook of Analytical Separations**, v. 6, p. 175–201, 2008.

CUNHA-OLIVEIRA, T.; REGO, C.; CARVALHO, C.; OLIVEIRA, C. R. Medical Toxicology of Drugs of Abuse. In: MILLER, P. M. **Principles of Addiction: Comprehensive Addictive Behaviors and Disorders**, Volume 1. 1. ed. Porto: Elsevier Inc., 2013. p. 159–175.

CURRY, S. C.; ROSE, M. C. Intravenous mushroom poisoning. **Annals of Emergency Medicine**, v. 14, n. 9, p. 900–902, 1985. DOI: 10.1016/s0196-0644(85)80643-0

DAL SASSO, M. A. D. **Estudo da composição Química molecular de compostos voláteis e semivoláteis em produtos cervejeiros alcoólicos, sem glúten e sem álcool**, 2023. Dissertação (Mestrando em Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2023.

EKLUND, J.; BREMBERG, U.; LARSSON, J.; TORKELSSON, J.;

WENNERBERG, J.; ZANDELIN, S.; ODEL, L. R. Synthesis and In Vitro Profiling of Psilocin Derivatives: Improved Stability and Synthetic Properties. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2025. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.4c02612

EMBRAPA. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada**. 2017, v. 11

GALDINO, T. P.; OLIVEIRA, L. C.; LUZ, M. A.; JESUS, R. A.; LIMA, E. P. N.; TORRES, M. C. M.; SIVIERI, K.; AFONSO, V. I.; DELGADO, J. M. P. Q.; LIMA, A. G. B.; SILVA, S. M. L.; FOOK, M. V. L. Extraction Yields of Psilocybin and Psilocin: A Short Review of Current Methods and Their Implications. **Pharmaceuticals**, v. 18, n. 3, p. 1–28, 2025. DOI: 10.3390/ph18030380

GALHEGO, V. B.; DE SANTANA, R. C. L. A; ANTONIO, A. da S., BHERING, C. A; VANINI, G. DART-HRMS analysis as a screening method for hallucinogenic mushrooms. **Forensic Chemistry**, v. 42, n. November 2024, 2025. DOI: 10.1016/j.forc.2024.100629

GRIESHABER, A. F.; MOORE, M. S. K. A.; LEVINE, B. P. D. The detection of psilocin in human urine. **Journal of Forensic Sciences**, v. 46, n. 3, p. 627–630, 2001. DOI: 10.1520/JFS15014J

GOFF, R. Determination of psilocybin and psilocin content in multiple *Psilocybe cubensis* mushroom strains using liquid chromatography – tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 1288, n. December 2023, p. 342161, 2024. DOI: 10.1016/j.aca.2023.342161

GOTVALDOVÁ, K.; HÁJKOVÁ, K.; BOROVÍČKA, J.; JUROK, R.; CIHLÁŘOVÁ, P.; KUCHAŘ, M. Stability of psilocybin and its four analogs in the biomass of the psychotropic mushroom *Psilocybe cubensis*. **Drug Testing and Analysis**, v. 13, n. 2, p. 439–446, fev. 2021. DOI: 10.1002/dta.2950

GOVERNO FEDERAL. **PF combate tráfico de cogumelos alucinógenos por meio da internet**. Disponível em: <<https://www.gov.br/pf/pt-br/assuntos/noticias/2024/04/pf-combate-trafico-de-cogumelos-alucinogenos-por-meio-da-internet>>.

GUIMARÃES JÚNIOR, F. R. F.; FREITAS, A. A. F. de; GUIMARÃES, L. G. de A.; PRIMO, M. A. M.; MACHADO, M. A. V. Análise de preferência declarada para estudar a utilidade da produção de oleaginosas. **Production, São José dos Campos**, v. 23, n. 4, p. 846–857, dez. 2013. DOI: 10.1590/S0103-65132013005000009.

GUTMAN, O.; TENNE, D.; BRETLER, U. Psilocin – The “real deal” or an extraction byproduct. **Journal of Forensic Sciences**, v. 68, n. 1, p. 327–334, 2023. DOI: 10.1111/1556-4029.15167

GUZMÁN, G. Hallucinogenic Mushrooms in Mexico: An Overview. **Economic Botany**, v. 62, p. 404–412, 2008. DOI: 10.1007/s12231-008-9033-8

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8. ed. California: Grupo Editorial Nacional, 2012.

HASLER, F.; BOURQUIN, D.; BRENNEISEN, R.; BÄR, T.; VOLLENWEIDER, F. X. Determination of psilocin and 4-hydroxyindole-3-acetic acid in plasma by HPLC-ECD and pharmacokinetic profiles of oral and intravenous psilocybin in man. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 72, n. 3, p. 175–184, jul. 1997. DOI: 10.1016/S0031-6865(97)00014-9.

HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **The Fungal Kingdom**, v. 5, n. 2, p. 79–95, 2017.

HE, M.-Q.; WANG, M.-Q.; CHEN, Z.-H.; DENG, W.-Q.; LI, T.-H.; VIZZINI, A.; JEEWON, R.; HYDE, K. D.; ZHAO, R.-L. Potential benefits and harms: a review of poisonous mushrooms in the world. **Fungal Biology Reviews**, v. 42, p. 56–68, dez. 2022. DOI: 10.1016/j.fbr.2022.06.002

HINKLE, J. T.; GRAZIOSI, M.; NAYAK, S. M.; YADEN, D. B. Adverse events in studies of classic psychedelics: A systematic review and meta-analysis. **JAMA Psychiatry**, v. 81, n. 12, p. 1225–1235, 4 set. 2024. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2024.2546

HOFMANN, A; HEIM, R; BRACK, A; KOBEL, H.; FREY, A; OTT, H.; PETRZILKA, TH; TROXLER, F. Psilocybin. v. 397, n. 1958, 1959.

HONYIGLO, E.; FRANCHI, A.; CARTISER, N.; KIPPER, S.; SMITH, M. Unpredictable behavior under the influence of “magic mushrooms”: A case report and review of the literature. **Journal of Forensic Sciences**, v. 64, n. 4, p. 1266–1270, 2019. DOI: 10.1111/1556-4029.13915.

HORITA, A.; WEBER, L. J. The enzymic dephosphorylation and oxidation of psilocybin and psilocin by mammalian tissue homogenates. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 47–54, 1961. DOI:10.1016/0006-2952(61)90124-1

HORITA, A.; WEBER, L. J. Dephosphorylation of psilocybin in the intact mouse. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 4, n. 6, p. 730–737, 1962. DOI: 10.1016/0041-008x(62)90102-3

HUNN, E. S.; RAMÍREZ, Y. V.; DÁVILA, M. A. V. Where Do Fungi Fit? The Fungal Domain in Mixtepec Zapotec. **Journal of Ethnobiology**, v. 35, n. 2, p. 286–313, 2015. DOI:10.2993/etbi-35-02-286-313.1

HUU H. TRAN; ANDREW L. JUERGENS. **Mushroom Toxicity**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537111/>>.

KELLER, T.; SCHENEIDER, A.; REGENSCHEIT, P.; DIRNHOFER, R.; RUCKER, T.; JASPERS, J.; KISSE, W. Analysis of psilocybin and psilocin in *Psilocybe subcubensis* Guzman by ion mobility spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 192, p. 113682, 2021. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113682.

KINTZ, P.; RAUL, J. S.; AMELINE, A. Testing human hair after magic mushrooms abuse by LC-MS/MS: Pitfalls and limitations. **Forensic Chemistry**, v. 26, n. September, 2021. DOI: 10.1016/j.forc.2021.100364.

KURZBAUM, E.; PÁLENÍČEK, T.; SHRCHATON, A.; AZERRAD, S.; DEKEL, Y. Exploring *Psilocybe cubensis* Strains: Cultivation Techniques, Psychoactive Compounds, Genetics and Research Gaps. **Journal of Fungi**, Basel, v. 11, n. 2, art. 99, 2025. DOI: 10.3390/jof11020099.

LAUSSMANN, T.; MEIER-GIEBING, S. Forensic analysis of hallucinogenic mushrooms and khat (*Catha edulis* Forsk) using cation-exchange liquid chromatography. **Forensic Science International**, v. 195, n. 1–3, p. 160–164, 2010. DOI: 10.1016/j.forsciint.2009.12.013

LENZ, C.; WICK, J.; BRAGA, D.; GARCÍA-ALTARES, M.; LACKNER, G.; HERTWECK, C.; GRESSLER, M.; HOFFMEISTER, D. Injury-Triggered Blueing Reactions of *Psilocybe* “Magic” Mushrooms. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 59, n. 4, p. 1450–1454, 2020. DOI: 10.1002/anie.201910175

LIM, T. H.; WASYWICH, C. A.; RUYGROK, P. N. A fatal case of “magic mushroom” ingestion in a heart transplant recipient. **Internal Medicine Journal**, v. 42, n. 11, p. 1268–1269, 2012. DOI: 10.1111/j.1445-5994.2012.02955.x

MAT DESA, W. N. S.; ISMAIL, D. Impurity profiling of amphetamine and methamphetamine using gas chromatography mass spectrometry (GCMS) Harmonised Methods. **Sains Malaysiana**, v. 46, n. 1, p. 149–156, 2017. DOI:10.17576/jsm-2017-4601-19

MATZOPOULOS, R.; MORLOCK, R.; MORLOCK, A.; LERER,B.; LERER, L. Psychedelic Mushrooms in the USA: Knowledge, Patterns of Use, and Association With Health Outcomes. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, n. January, p. 1–9, 2022. DOI: 10.3389/fpsyg.2021.780696

MENG, C.; GUO, W.; XIAO, C.; WEN, Y.; ZHU, W.; ZHAND, Q.; LIANG, Y.; LI, H.; XU, S.; QIU, Y.; CHEN, H.; LIN, W. J.; WU, B. Structural basis for psilocybin biosynthesis. **Nature Communications**, v. 16, n. 1, 2025. DOI: 10.1038/s41467-025-58239-x

MERINO, D. **Uma surpresa psicodélica pode estar prosperando em seu jardim.** Disponível em: <<https://www.nationalgeographicbrasil.com/ciencia/2022/04/uma-surpresa-psicodelica-pode-estar-prosperando-em-seu-jardim>>. Acesso em: 11 mar. 2025.

MILES, J. R Squared, Adjusted R Squared. In: **Wiley StatsRef: Statistics Reference Online**. Wiley, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (SVS). **PORTARIA Nº 344, DE 12 DE MAIO DE 1998.** Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1998/prt0344_12_05_1998_rep.html>. Acesso em: 18 mar. 2025.

MINITAB. **Delineamentos fatoriais e fatoriais fracionados.** Disponível em: <<https://support.minitab.com/en-us/minitab/help-and-how-to/statistical-modeling/doe/supporting-topics/factorial-and-screening-designs/factorial-and-fractional-factorial-designs/>>. Acesso em: 1 maio. 2025.

MIRACLE HOUSE FOUNDATION. **The Difference Between Licit Vs Illicit Drugs.** Disponível em: <<https://miraclesoberliving.com/illicit-drugs-vs-licit/#:~:text=Definition%20of%20Licit%20vs%20Illicit%20Drugs&text=Some%20illicit%20drugs%20are%20considered%20by%20governments%20or%20left%20unregulated>>.

MISHRA, P., SINGH, U.; PANDEY, C. M.; MISHRA, P.; PANDEY, G. Application of student's t-test, analysis of variance, and covariance. *Annals of Cardiac Anaesthesia*, v. 22, n. 4, p. 407, 2019. DOI: 10.4103/aca.ACA_94_19

MISHRAKI-BERKOWITZ, T.; KOCHELSKI, E.; KAVANAGH, P.; O'BRIEN, J.; DUNNE, C.; TALBOT, B.; ENNIS, P.; WOLF, U. E. The Psilocin (4-hydroxy-N,N-dimethyltryptamine) and Bufotenine (5-hydroxy-N,N-dimethyltryptamine) Case: Ensuring the Correct Isomer has Been Identified. *Journal of Forensic Sciences*, v. 65, n. 5, p. 1450–1457, 2020. DOI: 10.1111/1556-4029.14368

MOLDOVEANU, S. C. .; DAVID, V. Derivatization methods in GC and GC/MS. *Intech*, v. 11, n. tourism, p. 13, 2016. DOI: 10.5772/intechopen.81954

MONTGOMERY, D. **Design and analysis of experiments**. 9. ed. USA: Wiley, 2017.

MORITA, I.; OYAMA, H.; KIGUCHI, Y.; OGURI, A.; FUJIMOTO, N.; TAKEUCHI, A.; TANAKA, R.; OGATA, J.; KIKURA-HANAJIRI, R.; KOBAYASHI, N. Immunochemical monitoring of psilocybin and psilocin to identify hallucinogenic mushrooms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 190, p. 113485, 2020. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113485

NELSON, M. E.; BRYANT, S. M.; AKS, S. E. Emerging drugs of abuse. **Disease-a-Month**, v. 60, n. 3, p. 110–132, 2014.

NICHOLS, D. E. Hallucinogens. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 101, n. 2, p. 131–181, 2004.

NICHOLS, D. E. Psilocybin: from ancient magic to modern medicine. **Journal of Antibiotics**, v. 73, n. 10, p. 679–686, 2020. DOI:10.1038/s41429-020-0311-8

NICHOLS, D. E.; FRESCAS, S. Improvements to the synthesis of psilocybin and a facile method for preparing the O-acetyl prodrug of psilocin. **Synthesis**, n. 6, p. 935–938, 1999. DOI:10.1055/s-1999-3490

NUNES, C. A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. Chemoface: A novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003–2010, 2012.

OJANPERÄ, I. Mushroom toxins. **Handbook of Analytical Separations**, v. 6, p. 391–399, 2008.

OLIVEIRA, B. **Teste de Tukey para comparações múltiplas**. Disponível em: <<https://statplace.com.br/blog/comparacoes-multiplas-teste-de-tukey/>>. Acesso em: 1 maio. 2025.

OLIVEIRA, K. M. **Explorando a Composição Química Molecular de Cogumelos Comestíveis e Alucinógenos com Potenciais Aplicações em Áreas Forenses utilizando Técnicas Analíticas de Alto Desempenho**. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2022

OMS. **Organização Mundial de Saúde.** Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/drugs-psychoactive#tab=tab_1>. Acesso em: 13 mar. 2025.

PALAMAR, J. J.; FITZGERALD, N. D.; CARR, T. H.; RUTHERFORD, C.; KEYES, K. M.; COTTLER, L. B. National and regional trends in seizures of shrooms (psilocybin) in the United States, 2017–2022. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 258, n. February, 2024. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2024.111086

PEPE, M.; HESAMI, M.; CERDA, K. A. L.; PERREAU, M.; HSIANG, T.; JONES, A. M. P. A journey with psychedelic mushrooms: From historical relevance to biology, cultivation, medicinal uses, biotechnology, and beyond. **Biotechnology Advances**, v. 69, p. 108247, dez. 2023. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2023.108247

PHILLIPS, R. **Mushroom.** Unabridged ed. Nova York: Macmillan, 2006.

PINGRET, DANIELLA; FABIANO-TIXIER, ANNE-SYLVIE; CHEMAT, F. **Natural Product Extraction.** The Royal Society of Chemistr, 2013.

POLO-CASTELLANO, C.; ÁLVAREZ, J. Á.; PALMA, M.; BARBERO, G. F.; AYUSO, J.; FERREIRO-GONZÁLEZ, M. Optimization through a Box–Behnken Experimental Design of the Microwave-Assisted Extraction of the Psychoactive Compounds in Hallucinogenic Fungi (*Psilocybe cubensis*). **Journal of Fungi**, v. 8, n. 6, p. 4–15, 2022. DOI: 10.3390/jof8060598

PUBCHEM. **Psilocybin.** Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Psilocybin#section=Computed-Properties>>.

PUBCHEM. **Psilocin.** Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Psilocin>>.

RAJ, P.; RAUNIYAR, S.; SAPKALE, B. Psychedelic Drugs or Hallucinogens: Exploring Their Medicinal Potential. **Cureus**, v. 15, n. 11, 2023.

ROMÁN-RAMÍREZ, L. A.; MARCO, J. Design of experiments applied to lithium-ion batteries: A literature review. **Applied Energy**, v. 320, n. August 2021, 2022. DOI: 10.1016/j.apenergy.2022.119305

ROSSATO, L. G. **Avaliação Quimiotaxonômica de cogumelos da espécie psilocybe wrightii.** , 2008.

SAITO, K.; TOYO'OKA, T.; FUKUSHIMA, T.; KATO, M. SHIROTA, O.; GODA, Y. Determination of psilocin in magic mushrooms and rat plasma by liquid chromatography with fluorimetry and electrospray ionization mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 527, n. 2, p. 149–156, 2004. DOI: 10.1016/j.aca.2004.08.071

SARWAR, M.; PH, D.; MCDONALD, J. L. Technical Note A Rapid Extraction and GC / MS Methodology for the Identification of Psilocyn in Mushroom / Chocolate Concoctions Division of Forensic Services Forensic Science Center at Chicago. v. 1, n. December, p. 177–183, 2003.

SCHUCKIT, M. A. **Drug and alcohol abuse.** v. 5, 2000

SWGDRUG. Psilocin, Psilocybin Monograph. **Swgdrug**, p. 1–8, 2005.

SHERWOOD, A. M.; HALBERSTADT, A. L.; KLEIN, A. K.; MCCORVY, J. D.; KAYLO, K. W.; KARGBO, R. B.; MEISENHEIMER, P. Synthesis and Biological Evaluation of Tryptamines Found in Hallucinogenic Mushrooms: Norbaeocystin, Baeocystin, Norpsilocin, and Aeruginascin. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 2, p. 461–467, 2020. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01061

SKOOG. **Fundamentos de Química Analítica.** v. 15, 2010

SNEE, R. D. **Analysis of Variance in Complex Experimental Designs.** v. 18, 1976

SOLER, C.; MAÑES, J.; PICÓ, Y. Comparison of liquid chromatography using triple quadrupole and quadrupole ion trap mass analyzers to determine pesticide residues in oranges. **Journal of Chromatography A**, v. 1067, n. 1–2, p. 115–125, 2005. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.10.032

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Chemometrics II: Spreadsheets for experimental design calculations, A tutorial. **Quimica Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

TROXLER, F; SEEMANN, F; HOFMANN, A. Abwandlungsprodukte von Psilocybin und Psilocin. v. 899, n. 226, 1959.

UNODC. **Recommended methods for testing Peyote Cactus (Mescal buttons)/Mescaline and Psilocybe Mushrooms/Psilocybin**. New York, 1989

UNODC. **Stimulants**, 2019.

UNODC. **Depressants**, 2019.

UNODC. **The synthetic drug phenomenon**. 2019

VAN DER MERWE, B. *et al.* A description of two novel Psilocybe species from southern Africa and some notes on African traditional hallucinogenic mushroom use. **Mycologia**, v. 116, n. 5, p. 821–834, 2024.
DOI: 10.1080/00275514.2024.2363137

VOROBYEVA, N.; KOZLOVA, A. A. Three Naturally-Occurring Psychedelics and Their Significance in the Treatment of Mental Health Disorders. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, n. June, p. 1–20, 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.927984

WANG, M.; ZHAO, R. A review on nutritional advantages of edible mushrooms and its industrialization development situation in protein meat analogues. **Journal of Future Foods**, v. 3, n. 1, p. 1–7, 2023. DOI: 10.1016/j.jfutfo.2022.09.001

WIECZOREK, P. P.; WITKOWSKA, D.; JASICKA-MISIAK, I.; POLIWODA, A.; OTERMAN, M.; ZIELINSKA, K. **Bioactive alkaloids of hallucinogenic mushrooms**. 2015. v. 46 DOI: 10.1016/B978-0-444-63462-7.00005-1

ZHOU, A. **Are psychedelics next to treat depression and PTSD?** Disponível em: <<https://www.cas.org/resources/cas-insights/psychedelics-ptsd>>.

ZHUK, O.; JASICKA-MISIAK, I.; POLIWODA, A.; KAZAKOVA, A.; GODOVAN, V. V.; HALAMA, M.; WIECZOREK, P. P. Research on acute toxicity and the behavioral effects of methanolic extract from psilocybin mushrooms and psilocin in mice. *Toxins*, v. 7, n. 4, p. 1018–1029, 2015. DOI: 10.3390/toxins7041018

APÊNDICE I

- **Artigos científicos publicados**

GALHEGO, V. B; **DE SANTANA, R. C. L. A**; BHERING, C. A; ANTONIO, A. S; VANINI, G. DART-HRMS analysis as a screening method for hallucinogenic mushrooms. *Forensic Chemistry*, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2024.100629>



Forensic Chemistry
Volume 42, March 2025, 100629



DART-HRMS analysis as a screening method for hallucinogenic mushrooms

Vanessa Braga Galhego, Raquel Capilla Loureiro Alves de Santana  
Cecília de Andrade Bhering, Ananda da Silva Antonio, Gabriela Vanini

DE SANTANA, R. C. L. A; WURZLER, G. T; ANTONIO, A. S.; VANINI, G.; NETO, F. R. A. NPS – Drugs to circumvent laws. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 2025. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2024.11.013>



Comprehensive Analytical Chemistry
Available online 5 December 2024
In Press, Corrected Proof  [What's this?](#)



NPS – Drugs to circumvent laws

Raquel Capilla Loureiro Alves de Santana, Gleicielle Tozzi Wurzler, Ananda da Silva Antonio, Gabriela Vanini, Francisco Radler de Aquino Neto  

- **Participação em eventos científicos**

II Encontro Anual da Pós-Graduação em Química da UFRJ – Avaliação do perfil químico de novas substâncias psicoativas (NPS) através de técnicas analíticas de alto desempenho (Dezembro, 2023).

III Encontro Anual da Pós-Graduação em Química da UFRJ - Desenvolvimento de método para análise de psilocina em cogumelos alucinógenos por Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) (Dezembro, 2024).