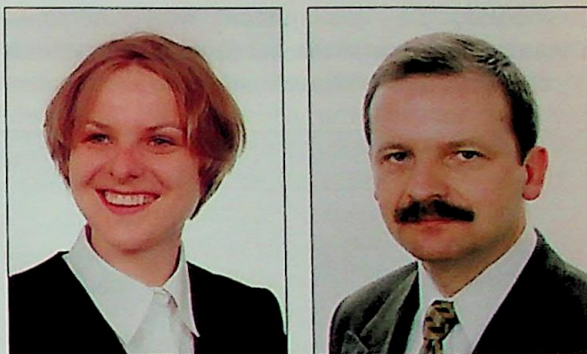


Metoda profilowania konopi na podstawie składu pierwiastkowego – cz. IV. Dyskryminacja



Na łamach poprzednich numerów „Problemów Kryminalistyki”¹ omówione zostały badania dotyczące profilowania konopi oraz pierwsze wyniki tej pracy, tj. wykorzystanie opracowanej metody do określenia rozkładu pierwiastków w zieleni konopi, a także badań porównawczych próbek dowodowych i porównawczych.

Dla przypomnienia należy podać, że:

- 1) próbki ziela konopi przygotowywane są do badań na drodze mineralizacji na mokro z wykorzystaniem energii mikrofalowej w układzie zamkniętym za pomocą systemu Multiwave firmy Anton Paar z użyciem mieszaniny kwasu azotowego i wody utlenionej²;
- 2) do analiz składów pierwiastkowych wykorzystywane są:
 - spektrometr ICP-OES Optima 3100XL firmy Perkin Elmer,
 - spektrometr absorpcji atomowej Aventa Ultra Z z kuetą grafitową firmy GBC.

Przykłady profilowania konopi na podstawie własności biologicznych, fizycznych, chemicznych

Genetyczne właściwości konopi, z upraw w różnych warunkach klimatycznych bardzo silnie wpływają na zawartość kannabinoli. Zależność ta sprawia, że rozróżnienie regionu świata, z którego pochodzą konopie, jest możliwe na podstawie fizycznych oględzin i badań chromatograficznych zawartości głównych kannabinoli w próbce³. Charakterystyka wła-

ściwości fizycznych i składów chemicznych roślin konopi pochodzących z różnych rejonów świata została zamieszczona w tabeli 1.

Konopie można więc profilować na podstawie składu organicznego, jednak możliwa jest jedynie identyfikacja dość dużego obszaru. Wynika to z faktu, że warunki wpływające na zawartość kannabinoli w zbyt małym stopniu różnią się na obszarze danego państwa, a nawet kontynentu, aby spowodować istotne zmiany w składzie chemicznym materiału roślinnego. Dodatkowego problemu w profilowaniu składu organicznego konopi przysparzają uprawy prowadzone w specjalnie określonych warunkach, poza naturalnym obszarem występowania rośliny (np. uprawy hydroponiczne).

Metody rozróżniania psychoaktywnych i włóknistych odmian konopi na podstawie zawartości kannabinoidów, jak: Δ^9 – THC, CBG, CBD, CBN, THV, CBDV, CBC i CBGM⁵ opracowano bardzo dobrze. Badania na temat rozróżniania próbek konopi – mimo że są obszerne i zostały dobrze udokumentowane – ograniczają się jedynie do rozróżniania konopi „narkotycznych” i „włóknistych”. W niektórych krajach (np. Holandii) uprawia się konopie zawierające substancje psychoaktywne, wykorzystywane do celów medycznych. Jak wspomniano wcześniej, klasyfikacja i rozróżnianie próbek z różnych upraw na podstawie zawartości kannabinoidów są nieprecyzyjne, gdyż rośliny konopi wytwarzają podobne ilości kannabinoidów.

Y.H. Choi i wsp., w celu rozróżnienia plantacji konopi, zaproponowali,

aby wykorzystać profilowanie „metaboliczne”⁶, którego podstawą jest charakterystyka profilu chemicznego metabolitów w tkankach konopi. Metodą ¹H NMR analizie poddano więc 12 próbek konopi z różnych upraw. W próbkach kwiatostanów wykryto metabolity Δ^9 – THCA (główny składnik) i Δ^9 – THC i CBN, natomiast w liściach oznaczono Δ^9 -THC i sterole. Inne wykryte związki to cukry (α i β – glukoza) oraz aminokwasy (asparagina, alanina, walina, kwas glutaminowy). Uzyskane wyniki poddano analizie głównych składowych, która umożliwiła rozróżnienie próbek konopi pochodzących z różnych upraw.

Ze względu na różnice genetyczne próbek konopi należących do kilku odmian pochodzących z wielu regionów świata, a nawet plantacji, podjęto próby profilowania ww. próbek na podstawie DNA⁷. Podstawą technik genetycznych jest izolacja segregowanych pod kątem wielkości i analizowanych metodą elektroforezy żelowej fragmentów DNA z próbki. W wyniku procesu elektroforezy następuje rozdzielenie fragmentów DNA. Jego obrazem są prążki na żelu. Aby określić podobieństwo próbek, sprawdza się, czy występują w nich te same prążki i porównuje się ich wielkości. Jedną z genetycznych metod analitycznych jest RAPD – analiza polimorfizmu produktów łańcuchowej reakcji polimerazy. Tę metodę wykorzystano do analizy 51 próbek konopi pochodzących z Australii, Papui-Nowej Gwinei i Tasmanii. Większość z nich stanowiły wysuszone liście, pędy i kwitnące szczyty. Kilka próbek ekstrahowano zaś z nasion i liści świeżych. Analizy wykazały wyraźne

Tabela 1
Charakterystyka właściwości fizycznych i składów chemicznych roślin konopi pochodzących z różnych rejonów świata⁴
Characteristics of physical properties and chemical compositions of cannabis originating from various regions of the world⁴

Typ klimatu	Miejsce uprawy	Właściwości fizyczne	Właściwości chemiczne
Klimat umiarkowany	Europa, Ameryka Północna, południowe części półkuli południowej	a) w trakcie wzrostu jasnozielone b) po zbiorze niektóre próbki tracą zielony kolor i stają się żółte, rzadziej brązowe c) owocujące i kwitnące szczyty są pozbawione żywicy d) zawsze obecne nasiona e) europejskie konopie zawierają więcej liści niż te pochodzące z Ameryki Północnej	– skład chemiczny bardzo różnorodny w zależności od regionu uprawy – próbki o różnym profilu kannabinoidów – część próbek zawiera CBD i THV, a część nie
	Afryka Północna	a) rzadko konfiskowana poza regionem b) jasnozielona lub żółtozielona roślina c) nie zawiera nasion	– zawartość THV i CBD niska w porównaniu z zawartością THC
Klimat tropikalny	Afryka Zachodnia, Karaiby	a) w trakcie wzrostu zielone b) po zbiorze i wysuszeniu próbki przybierają kolor brązowy c) obecne nasiona	– brak CBD – niski stosunek THV do THC
	Afryka Centralna	a) większość próbek podobna do zachodnioafrykańskich, część do południowoafrykańskich	– próbki brązowe podobne w profilu kannabinoidów do zachodnioafrykańskich, – próbki zielone podobne w profilu kannabinoidów do południowoafrykańskich
	Afryka Południowa	a) po wysuszeniu materiał jest podobny do konopi uprawianych na obszarach umiarkowanych b) konopie bardziej zielone i zawierające większe proporcje liści od zachodnioafrykańskich	– brak CBD – porównywalne zawartości THV i THC
	Ameryka Południowa	a) podobne do karaibskich	– podobne do karaibskich – bardzo rzadko próbki mogą zawierać małe ilości CBD
	Subkontynent Indyjski	a) wyróżnia się trzy typy: ▪ brązowe kwitnące i owocujące szczyty o dużej zawartości żywicy ▪ ciemnozielono-brązowy materiał podobny do niektórych próbek zachodnioafrykańskich ▪ zielone próbki, o dużej zawartości liści, pozbawione kwitnących i owocujących szczytów	– obecny CBD, zawartości THC i THV w przybliżeniu równe (*) – podobne do konopi zachodnioafrykańskich – podobne do typu (*), ale zawierają kannabinoidy na niższym poziomie
	Azja Południowo-Wschodnia	a) kwitnące szczyty są wiązane dookoła trzciny bambusowej, tworząc laski. Ważą one około 2 g i mierzą 8 cm. Są znane pod nazwą „Budda Sticks”	– zazwyczaj tylko THC – brak CBD – bardzo małe ilości THV

różnice genetyczne próbek pochodzących z Papui-Nowej Gwinei i Australii, co również pozwala na ich identyfikację.

Wyniki analizy próbek konopi i ich analiza dyskryminacyjna (konopie włókniste)

Próbki konopi włóknistych pochodzą z czterech legalnych plantacji usytuowanych w Bachórze, Strzelinie, Nowym Korczynie i Mleczewie (ryc. 1).



Ryc. 1. Mapa Polski z zaznaczeniem miejsc poboru konopi włóknistych
Fig. 1. Map of Poland with locations of fibre hemp seizures

Wszystkie rośliny konopi należały do tej samej odmiany – Benico. Ze względu na wielkość obszaru plantacji pobrano proporcjonalną ilość próbek – z plantacji w Bachórze i Mleczewie po 6 roślin, a ze Strzelina i Nowego Korczyna po 4 z różnych miejsc plantacji. Wszystkie rośliny były dojrzałe. Próbki pobierano około dwóch tygodni przed zbiorem (z informacji uzyskanych od plantatorów wynika, że konopie nie były zasilane żadnymi nawozami). Następnie umieszczono je w papierowych kopertach i suszono w temperaturze pokojowej przez okres około dwóch

miesiący. Do analizy pobrano próbki kwiatostanów – w sumie 20 próbek konopi włóknistych. Wyniki zamieszczono w tabelach 2–5.

próbki pobrano z odrębnych roślin. Mogły one rosnąć na nieco innym podłożu o zróżnicowanej zawartości poszczególnych pierwiastków, któ-

ków komunikacji samochodowej. Największe stężenie ołowiu znajdowało się w próbkach pochodzących ze Strzelina położonego niedaleko Wrocławia na Dolnym Śląsku, dlatego duże stężenie tego pierwiastka oznaczono również w próbkach pochodzących z Nowego Korczyna. Miejscowość ta leży niedaleko Tarnowa i Krakowa, więc zwiększoną zawartość ołowiu w próbkach można wytłumaczyć zanieczyszczeniem powietrza wywołanym spalinami samochodowymi i wpływem przemysłu.

Jak można zauważyć, rozróżnienie rejonów upraw konopi na podstawie prostego porównania zawartości poszczególnych pierwiastków jest bardzo trudne. Aby się przekonać, czy w ogóle jest możliwe, należy zastosować wielowymiarowe techniki statystyczne.

Analiza dyskryminacyjna wyników uzyskanych dla próbek konopi włóknistych

Skład pierwiastkowy próbek konopi włóknistych z Bachórze
Elemental composition of fibre hemp samples from Bachórze

Nazwa	Stężenie [mg/kg]									
	B	Ba	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Pb	Sr	Zn
B1	50	16,5	46272	16,8	253,2	7710	71,4	0,70	209,5	69,1
B2	27	14,2	31188	23,8	576,8	5538	82,3	0,91	114,4	74,5
B3	24	11,7	30451	24,1	360,2	5086	71,9	0,20*	87,1	63,3
B4	24	12,0	28846	28,2	291,8	5037	78,1	0,28*	104,1	67,7
B5	24	15,4	54126	10,2	420,4	7731	79,1	0,58	119,0	75,5
B6	24	14,9	61310	11,5	352,9	7295	80,0	0,47	97,7	64,1
Średnia	24	14,1	42032	19,1	375,9	6399	77,1	0,5	122,0	69,0
SD	24	1,9	13867	7,4	114,2	1313	4,5	0,3	44,4	5,1
CV	24	14	33	39	30	21	6	51	36	7

* – stężenie na granicy wykrywalności

Skład pierwiastkowy próbek konopi włóknistych z Mleczewa
Elemental composition of fibre hemp samples from Mleczewo

Nazwa	Stężenie [mg/kg]									
	B	Ba	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Pb	Sr	Zn
M1	26	6,4	17814	11,1	202,6	4665	167,4	0,25*	39,5	62,4
M2	26	10,6	22144	13,8	192,9	5599	106,1	0,20*	112,1	44,0
M3	56	7,1	78514	<GW	261,1	8573	143,2	0,23*	346,6	47,8
M4	71	25,7	89496	<GW	261,8	7938	482,2	0,24*	165,6	40,0
M5	63	21,8	110456	<GW	274,8	7161	39,4	0,21*	179,9	18,9
M6	48	16,0	58321	6,6	272,8	7297	74,5	0,22*	111,2	45,9
Średnia	48	14,6	62791	10,5	244,3	6872	168,8	0,22*	159,2	43,2
SD	19	8,0	37222	3,6	36,6	1469	160,3	0,02	104,4	14,1
CV	39	55	59	35	15	21	95	8	66	33

* – stężenie na granicy wykrywalności

Jak można zauważyć, składy pierwiastkowe roślin pochodzących z tej samej plantacji znacząco różnią się zawartością niektórych pierwiastków. Najmniejsze zróżnicowanie w próbkach pochodzących z tej samej uprawy wykazał magnez, a największe miedź. Jest to związane z faktem, że

rych zawartość w tkance roślinnej jest z tego powodu różna. Charakterystyczne jest, że w próbkach pochodzących z Mleczewa nie wykryto ołowiu, co jest związane z brakiem zanieczyszczeń atmosferycznych wywołanych działalnością przemysłową i brakiem w tej okolicy dużych szla-

Tabela 3 Analizie poddano wyniki otrzymanych składów pierwiastkowych dla 20 próbek konopi włóknistych pochodzących z czterech upraw usytuowanych w różnych regionach Polski. Miejsce i warunki ich uprawy (odmiana, stosowanie nawozów sztucznych, warunki klimatyczne itp.) dobrze znano.

Analiza dyskryminacyjna jest stosowana, aby rozstrzygać, które zmienne pozwalają w najlepszy sposób dzielić dany zbiór przypadków na występujące w naturalny sposób grupy⁸. W przypadku badań konopi interesuje nas, który z oznaczanych pierwiastków najbardziej różnicuje miejsce uprawy. Analiza dyskryminacyjna umożliwia ponadto klasyfikację nowych przypadków do grup. Przeprowadza się ją w dwóch etapach⁹:

- **etap uczenia**: gdy w oparciu o tak zwany zbiór uczący znajduje się reguły klasyfikacyjne,
- **etap klasyfikacji**: gdy w oparciu o znalezione charakterystyki

Skład pierwiastkowy próbek konopi włóknistych ze Strzelina
Elemental composition of fibre hemp samples from Strzelin

Nazwa	Stężenie [mg/kg]									
	B	Ba	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Pb	Sr	Zn
S1	35	15,4	27779	5,5	342,1	4256	78,8	1,65	67,1	44,0
S2	45	13,5	32677	7,2	425,0	5012	109,9	1,72	79,1	51,8
S3	30	17,7	25003	5,0	206,0	3492	65,1	1,61	53,9	33,9
S4	50	11,2	37838	8,6	490,7	5595	134,8	1,80	82,1	56,6
Średnia	40	14,4	30824	6,6	366	4589	97,2	1,7	70,5	46,6
SD	9	2,8	5651	1,6	123	914	31,3	0,1	12,8	9,9
CV	23	19	18	25	34	20	32	6	18	21

Tabela 4

klas dokonywana jest klasyfikacja zasadniczego zbioru obiektów, których przynależność nie jest znana.

Wykreślenie zależności stężenia jednego pierwiastka od drugiego pozwala określić, które z pierwiastków (zmiennych) najlepiej charakteryzują grupy konopi włóknistych z różnych miejsc Polski. W przypadku analizy próbek konopi, podczas której oznaczano 10 pierwiastków, wykresów rozrzutu będzie 45. Wraz ze wzrostem liczby oznaczanych pierwiastków rośnie liczba możliwych wykresów, dlatego ich interpretacja wizualna jest uciążliwa i nieprecyzyjna. Przykłady wykresów rozrzutu zamieszczono na rysunkach 2 i 3.

Skład pierwiastkowy próbek konopi włóknistych z Nowego Korczyna
Elemental composition of fibre hemp samples from Nowy Korczyn

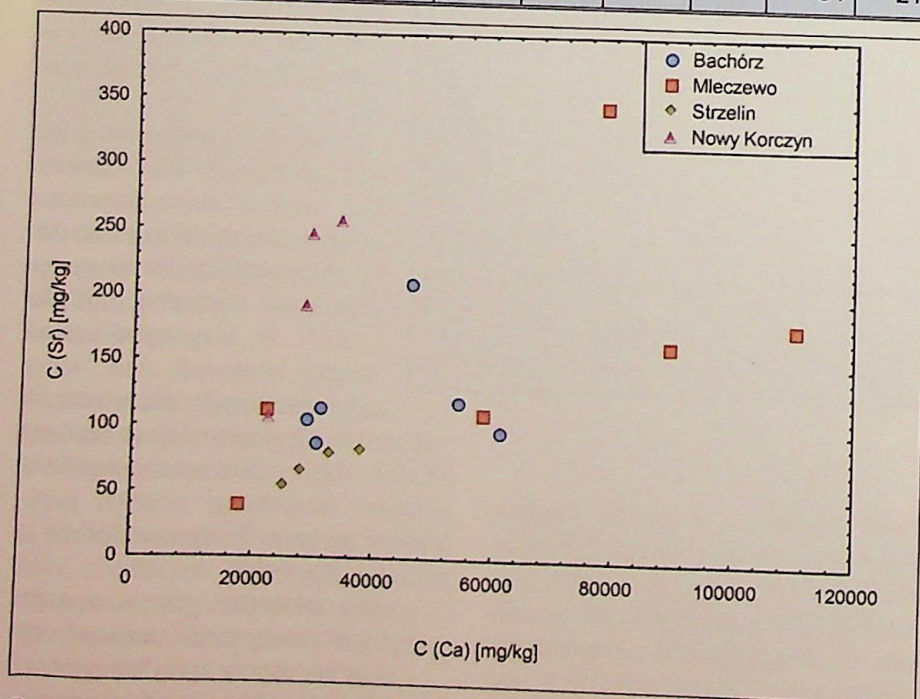
Nazwa	Stężenie [mg/kg]									
	B	Ba	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Pb	Sr	Zn
NK1	71	12,5	29601	10,6	213,8	5708	196,7	1,40	246,7	73,6
NK2	53	13,7	22607	13,9	196,1	5665	148,6	1,42	106,6	75,2
NK3	76	10,7	34274	19,7	165,1	6466	82,1	1,41	256,6	48,6
NK4	69	8,2	28428	15,3	174,7	6121	91,9	1,41	191,6	55,1
Średnia	67	11,3	28727	14,9	187	5990	129,8	1,4	200,4	63,1
SD	10	2,4	4799	3,7	22	378	53,4	0,01	68,7	13,3
CV	15	21	17	25	12	6	41	1	34	21

Tabela 5

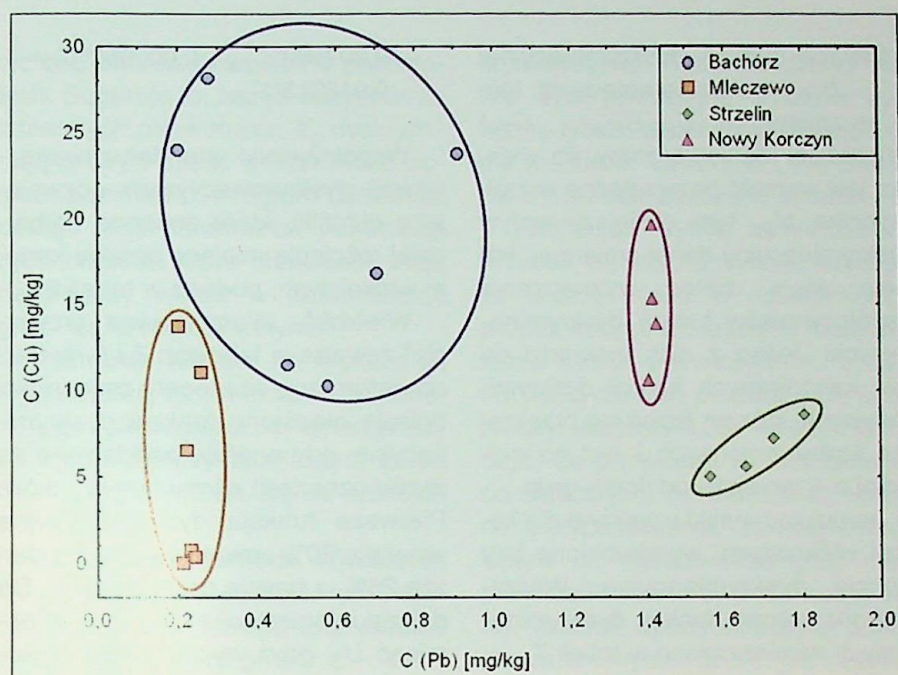
Na rycinie 2 nie można zauważyć żadnych skupień punktów, które mogłyby reprezentować grupy próbek konopi, ponieważ są one przemieszane. Odminną sytuację ukazuje rycina 3. W tym przypadku dwie grupy próbek są wyraźnie rozdzielone. Pierwsza z nich obejmuje próbki konopi z Bachorza i Mlecze, zaś druga ze Strzelina i Nowego Korczyna. Punkty reprezentujące pozostałe dwie próbki są również oddzielone, jednak mniej wyraźnie.

Na podstawie wykresów 2 i 3 można wysnuć wniosek, że stężenia pierwiastków, takich jak ołów i miedź mają większy wpływ na rozróżnienie grup próbek konopi włóknistych niż stężenia wapnia i strontu. Odpowiedź na pytanie, dlaczego zależność stężenia ołowiu od stężenia miedzi ma większe możliwości dyskryminacyjne niż zależność stężenia wapnia od strontu, daje analiza dyskryminacyjna. Należy pamiętać o jej założeniach, do których należą¹⁰:

- **normalność rozkładów**: przyjmuje się, że poszczególne zmienne w grupach podlegają rozkładom normalnym. Naruszenie założenia o normalności zazwyczaj nie jest krytyczne,
- **homogeniczność wariancji**: zakłada się, że macierze wariancji zmiennych są jednakowe



Ryc. 2. Wykres rozrzutu stężenia wapnia względem strontu
 Fig. 2. Scatter diagram of concentration of calcium versus strontium



Ryc. 3. Wykres rozprzutu stężenia ołowiu względem miedzi
Fig. 3. Scatter diagram of concentration of lead versus copper

we wszystkich grupach. Nieznaczne odchylenia są akceptowalne,

- **wielkość próby do analizy:** najmniejsza liczba przypadków (próbek) poddawanych klasyfikacji powinna być co najmniej pięć razy większa od liczby zmiennych (w naszym przypadku stężeń oznaczanych pierwiastków),
- **brak korelacji pomiędzy zmiennymi**, na których podstawie przeprowadzana jest analiza dyskryminacyjna.

W przypadku analizy dyskryminacyjnej wyników uzyskanych dla konopi włóknistych warunków o normalności rozkładów jest spełniony. Wariancje nie są homogeniczne jedynie dla ołowiu. Ponieważ analizie poddano 20 próbek konopi włóknistych, liczba oznaczanych pierwiastków, na których podstawie można przeprowadzić klasyfikację, nie powinna przekraczać czterech. Z dziesięciu pierwiastków oznaczanych w próbkach konopi należy zatem wybrać te, które mają największą moc dyskryminacyjną.

Na wstępie sprawdzono, czy stężenia oznaczonych pierwiastków nie korelują ze sobą, i obliczono współ-

czynniki korelacji pomiędzy stężeniami poszczególnych pierwiastków. Korelacje istotne statystycznie uzyskano pomiędzy stężeniami wapnia i magnezu a większością pozostałych pierwiastków. Wyznaczone współczynniki korelacji zamieszczono w tabeli 6.

Informacje zawarte w tabeli 6 wskazują, że zmienność wyjaśniana przez wapń określają również inne pierwiastki, jak B, Ba, Cu, Mg, Pb i Sr. Pominięcie stężenia wapnia w analizie dyskryminacyjnej nie wpływa zatem na końcowe wyniki. Podobne wnioski wyciągnięto dla stężenia magnezu. Wstępną analizę dyskryminacyjną wykonano na podstawie stężeń ośmiu pierwiastków.

Analizę dyskryminacyjną można traktować jako proces transformacji starego układu współrzędnych Y_p (gdzie Y_p to stężenie C_p pierwiastka p) do nowego korzystniejszego dla dyskryminacji grup układu współrzędnych U_i . Nasuwa się pytanie, jak wybrać nowe współrzędne U_i . Punktem wyjścia do wyznaczenia funkcji dyskryminacyjnych jest dążenie do spełnienia warunku, by stosunek zmienności (wariancji) międzygrupowej do zmienności wewnątrz grup osiągał wartość maksymalną. W praktyce poszukujemy kombinacji liniowej zmiennych $Y_1, \dots, Y_p$ (w naszym przypadku stężeń pierwiastków), która zastosowana zamiast tych zmiennych najlepiej różnicowałaby grupy. Taką formę liniową, którą

Tabela 6

Współczynniki korelacji wyznaczone dla zależności pomiędzy pierwiastkami
Correlation indices for inter-elemental relationships

	B	Ba	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Pb	Sr	Zn
B	1,00	0,24	0,51	-0,32	-0,20	0,66	0,27	0,12	0,59	-0,02
Ba	0,24	1,00	0,59	-0,40	0,11	0,24	0,35	-0,12	-0,11	-0,38
Ca	0,51	0,59	1,00	-0,59	0,05	0,75	0,26	-0,47	0,42	-0,49
Cu	-0,32	-0,40	-0,59	1,00	0,13	-0,29	-0,35	-0,03	-0,13	0,63
Fe	-0,20	0,11	0,05	0,13	1,00	-0,03	-0,14	0,11	-0,34	0,28
Mg	0,66	0,24	0,75	-0,29	-0,03	1,00	0,25	-0,48	0,65	-0,02
Mn	0,27	0,35	0,26	-0,35	-0,14	0,25	1,00	-0,12	0,15	-0,05
Pb	0,12	-0,12	-0,47	-0,03	0,11	-0,48	-0,12	1,00	-0,11	0,09
Sr	0,59	-0,11	0,42	-0,13	-0,34	0,65	0,15	-0,11	1,00	-0,06
Zn	-0,02	-0,38	-0,49	0,63	0,28	-0,02	-0,05	0,09	-0,06	1,00

oznaczone na czerwono współczynniki korelacji są istotne z $p < 0,05000$

opisuje równanie 1, nazywamy funkcją dyskryminacyjną.

$$U_i = A + b_{i1}Y_1 + b_{i2}Y_2 + \dots + b_{ip}Y_p \quad (1)$$

gdzie:

A – stała,

U_i – funkcja dyskryminacyjna,

$b_{i1} \dots b_{ip}$ – współczynniki funkcji dyskryminacyjnej,

$Y_1, \dots, Y_p$ – pierwotne zmienne niezależne, np. oznaczane pierwiastki w próbkach konopi,

p – numeruje pierwotne zmienne niezależne, tu: stężenia oznaczanych pierwiastków,

i – numeruje funkcje dyskryminacyjne ($i_{max} \leq \text{liczba grup} - 1$; $i_{max} \leq p_{max}$).

W przypadku wyników uzyskanych dla konopi włóknistych funkcja dyskryminacyjna to kombinacja linio-
wa 8 zmiennych (równanie 2).

$$U_i = A + b_{i1}C_B + b_{i2}C_{Ba} + b_{i3}C_{Cu} + b_{i4}C_{Fe} + b_{i5}C_{Mn} + b_{i6}C_{Pb} + b_{i7}C_{Sr} + b_{i8}C_{Zn} \quad (2)$$

ryzowane funkcji dyskryminacyjnej ($b'_{i1} \dots b'_{i10}$) wskazują natomiast, które ze zmiennych ($C_B, C_{Ba}, \dots, C_{Zn}$) najbardziej różnicują grupy. Im większa jest wartość bezwzględna współczynnika b'_{ip} , tym silniejszy wpływ dyskryminacyjny danej zmiennej. Istnieje wiele metod wyznaczania współczynników funkcji dyskryminacyjnych. Jedną z nich prowadzi do tzw. kanonicznych funkcji dyskryminacyjnych, których liczba nie przekracza liczby zmiennych i jest co najmniej o 1 mniejsza od liczby grup.

Analizując wyniki uzyskane dla konopi włóknistych, wyodrębniono trzy funkcje dyskryminacyjne. Współczynniki surowe funkcji dyskryminacyjnych zamieszczono w tabeli 7.

Korzystając z danych podanych w tabeli 7, można zapisać funkcje dyskryminacyjne, które przedstawiono za pomocą równań 3–5.

$$\begin{aligned} U_1 &= 5,49713 - 0,01902 \cdot C_B - 0,21287 \cdot C_{Ba} - 0,10898 \cdot C_{Cu} - \\ &- 0,00596 \cdot C_{Fe} + 0,00680 \cdot C_{Mn} + 8,77824 \cdot C_{Pb} - 0,00844 \cdot C_{Sr} - \\ &- 0,10113 \cdot C_{Zn} \\ U_2 &= 15,15100 - 0,07924 \cdot C_B - \end{aligned} \quad (3)$$

$$\begin{aligned} &- 0,307980 \cdot C_{Pb} + 0,002950 \cdot C_{Sr} - \\ &- 0,016213 \cdot C_{Zn} \end{aligned} \quad (5)$$

Współczynniki standaryzowane funkcji dyskryminacyjnych pozwalają określić, które zmienne najbardziej różnicują miejsce uprawy konopi włóknistych, podano w tabeli 8.

Wielkość „skumulowana proporcja” zawarta w tabelach 7 i 8 dostarcza informacji, ile procent zmienności opisują określone funkcje dyskryminacyjne, gdy analizie poddawane są wyniki oznaczeń ośmiu pierwiastków. Pierwsza funkcja dyskryminacyjna wyjaśnia 70% zmienności, druga dalsze 26%, a trzecia – pozostałe 4%. Do dalszej interpretacji można zatem pominąć U_3 , gdyż wyjaśnia ona znikomy procent zmienności. Tak wynika z tabeli 8, pierwiastkiem mającym największy wkład do funkcji dyskryminacyjnej U_1 jest ołów, dla którego uzyskano największy współczynnik ($|b'| = 1,36$). Kolejne pierwiastki mające istotny wkład do U_1 to cynk ($|b'| = 1,12$), bar ($|b'| = 1,03$), mangan ($|b'| = 0,64$) i miedź ($|b'| = 0,61$). Największy wkład w wyjaśnianie

Tabela 7

Współczynniki surowe funkcji dyskryminacyjnych
wyznaczonych na podstawie stężeń ośmiu pierwiastków
Raw indices of discrimination functions calculated based
on concentrations of 8 elements

Zmienna	U_1	U_2	U_3
B	-0,01902	-0,07924	0,028291
Ba	-0,21287	-0,19303	-0,123583
Cu	-0,10898	-0,28894	0,005123
Fe	-0,00596	0,00643	-0,008797
Mn	0,00680	0,00771	0,005533
Pb	8,77824	-1,85858	-0,307980
Sr	-0,00844	-0,00412	0,002950
Zn	-0,10113	-0,10574	-0,016213
Stała	5,49713	15,15100	2,937949
Skumulowana proporcja	0,69728	0,96165	1,000000

Program *Statistica*, za pomocą którego wykonywano obliczenia, podaje wartości współczynników surowych oraz standaryzowanych. Współczynniki surowe ($b_{i1} \dots b_{i10}$) służą do wyznaczenia funkcji dyskryminacyjnych. Współczynniki standa-

$$\begin{aligned} &- 0,19303 \cdot C_{Ba} - 0,28894 \cdot C_{Cu} + \\ &+ 0,00643 \cdot C_{Fe} + 0,00771 \cdot C_{Mn} - \\ &1,85858 \cdot C_{Pb} - 0,00412 \cdot C_{Sr} - \\ &- 0,10574 \cdot C_{Zn} \\ U_3 &= 2,937949 + 0,028291 \cdot C_B - \\ &- 0,123583 \cdot C_{Ba} + 0,005123 \cdot C_{Cu} - \\ &- 0,008797 \cdot C_{Fe} + 0,005533 \cdot C_{Mn} - \end{aligned} \quad (4)$$

zmienności za pomocą U_2 mają natomiast: miedź ($|b'| = 1,61$), bor ($|b'| = 1,34$), cynk ($|b'| = 1,17$), bar ($|b'| = 0,94$) i mangan ($|b'| = 0,72$). Przeglądając otrzymane współczynniki b'_{ip} funkcji dyskryminacyjnych, można zauważyć, że wartości niektó-

Tabela 8

Współczynniki standaryzowane funkcji dyskryminacyjnych
wyznaczonych na podstawie stężeń ośmiu pierwiastków
Standardised indices of discrimination functions based
on concentrations of 8 elements

Zmienna	U_1	U_2	U_3
B	-0,32280	-1,34469	0,480079
Ba	-1,03348	-0,93715	-0,599981
Cu	-0,60888	-1,61440	0,028624
Fe	-0,51328	0,55405	-0,757455
Mn	0,63574	0,72097	0,517627
Pb	1,36120	-0,28820	-0,047757
Sr	-0,59275	-0,28979	0,207245
Zn	-1,11851	-1,16951	-0,179317
Skumulowana proporcja	0,69728	0,96165	1,000000

rych są istotnie mniejsze niż pozostałych. Sugeruje to, że nie wszystkie ze zmiennych pierwotnych Y_p dyskryminują grupy i część z nich może zostać pominięta. Program *Statistica* podaje kilka parametrów pozwalających określić, które pierwiastki mają największy wkład w determinację grup. Są to między innymi:¹¹

- **lambda Wilksa:** im większa jej wartość, tym większa moc danego pierwiastka w determinacji grup. Należy zaznaczyć, że jej wartość mieści się w zakresie $<0, 1>$,
- **częstkowa lambda Wilksa:** im mniejsza jej wartość, tym większy wkład danego pierwiastka w determinację grup,
- **poziom p:** im mniejszy, tym bardziej istotny statystycznie wkład danej zmiennej w dyskryminację. Zazwyczaj wartość poziomu p, poniżej której wkład danej zmiennej uznaje się za istotny, to 0,05.

W tabeli 9 podano ich wartości.

Wartości parametrów statystycznych zamieszczonych w tabeli

kryminacyjnej. Przeprowadzono analizę dyskryminacyjną wyników, tym razem tylko dla stężeń następujących pierwiastków: Pb, Cu, Zn, Fe, Ba i B. Jej wyniki zamieszczono w tabeli 10.

Analizując wyniki zamieszczone w tabeli 10, można wysnuć wniosek, że istotny wkład w dyskryminację próbek konopi włókniстых mają stężenia trzech pierwiastków: Pb, Cu, i B. Tylko dla nich **poziom p** nie przekroczył wartości 0,05. Należy zaznaczyć, że pierwiastki te zaliczane są do śladowych. Potwierdza to wstępne przypuszczenia, że największy wpływ na różnicowanie grup mają pierwiastki śladowe, a nie zaś główne. Analiza dyskryminacyjna pomogła zatem wytłumaczyć, jak uzyskać lepszy podział na grupy, co widać na rycinie 3, na której została wykreślona zależność stężeń pierwiastków o największej mocy dyskryminacyjnej.

Wykreślenie zależności stężeń pierwiastków o bardzo małej mocy dyskryminacyjnej, tj. Mn i Fe (ryc. 2), nie prowadzi do utworzenia grup punktów reprezentujących próbki ko-

nopi włókniстых pochodzących z różnych miejsc Polski. Na podstawie wyników analizy dyskryminacyjnej wywnioskowano, że tylko trzy spośród dziesięciu oznaczanych pierwiastków – ołów, bor i miedź, mają istotny wkład w dyskryminację próbek konopi włókniowych pochodzących z różnych regionów kraju. Rezultat analizy dyskryminacyjnej bazującej na wynikach oznaczania tylko trzech pierwiastków ujęto w tabelach 11–13.

Na podstawie wartości parametrów zamieszczonych w tabeli 11 można stwierdzić, że B, Cu i Pb to pierwiastki mające istotny wpływ na dyskryminację grup konopi włókniowych (dla wszystkich trzech pierwiastków wartość **poziomu p** jest mniejsza od 0,05). Moc dyskryminacyjna tych trzech pierwiastków maleje w szeregu Pb, Cu i B. Widoczna jest tu pewna zależność między zawartością pierwiastka w próbce a jego mocą dyskryminacyjną. Przykład B, Cu i Pb ukazuje także, że im mniejsza jest zawartość pierwiastka w próbkach konopi włókniowych, tym

Tabela 9

Podsumowanie analizy dyskryminacyjnej dla stężeń ośmiu pierwiastków

Summary of discrimination analysis for concentrations of 8 elements

Pierwiastek	Lambda Wilksa	Częstkowa lambda Wilksa	Poziom p
B	0,001019	0,467776	0,066453
Ba	0,001058	0,450377	0,056684
Cu	0,001832	0,260145	0,005360
Fe	0,001121	0,425098	0,044429
Mn	0,000895	0,532844	0,114048
Pb	0,015280	0,031196	0,0000004
Sr	0,000636	0,749885	0,436045
Zn	0,001561	0,305267	0,010746

Tabela 10

Wyniki analizy dyskryminacyjnej dla stężeń sześciu pierwiastków

Results of discrimination analysis for concentrations of 6 elements

Pierwiastek	Lambda Wilksa	Częstkowa lambda Wilksa	Poziom p
B	0,003354	0,326604	0,005096
Ba	0,001426	0,768105	0,387577
Cu	0,004131	0,265157	0,001677
Fe	0,006051	0,549854	0,058817
Pb	0,031814	0,034432	0,00000002
Zn	0,001970	0,556061	0,081226

9 wskazują na to, że największe znaczenie w różnicowaniu grup próbek konopi mają kolejno następujące pierwiastki: Pb, Cu, Zn, Fe, Ba i B. Postanowiono jednak przeprowadzić kolejne analizy dyskryminacyjne pozwalające na selekcję trzech–czterech pierwiastków o największej mocy dyskryminacyjnej. Kolejnym krokiem było usunięcie z modelu pierwiastków o najmniejszej mocy dys-

Tabela 11

Podsumowanie analizy dyskryminacyjnej wyników oznaczania trzech pierwiastków

Summary of discrimination analysis of results of three elements determinations

Pierwiastek	Lambda Wilksa	Częstkowa lambda Wilksa	Poziom p
B	0,021062	0,306868	0,000688442
Cu	0,037460	0,172540	0,000013179
Pb	0,125934	0,051323	0,000000003

Tabela 12

Współczynniki surowe funkcji dyskryminacyjnych
wyznaczonych na podstawie analizy wyników
oznaczania 3 pierwiastków

Raw indices of discrimination functions determined based
on analysis of results for 3 elements

Zmienna	U ₁	U ₂	U ₃
B	-0,00262	-0,084771	-0,046311
Cu	0,02166	-0,288346	0,046275
Pb	6,53297	0,286297	0,121642
Stała	-5,62798	7,332830	1,659605
Skumulowana proporcja	0,76883	0,990371	1,000000

Tabela 13

Współczynniki standaryzowane funkcji dyskryminacyjnych
wyznaczonych na podstawie analizy wyników oznaczania
trzech pierwiastków

Standardised indices of discrimination functions determined
based on analysis of results for 3 elements

Zmienna	U ₁	U ₂	U ₃
B	-0,04443	-1,43850	-0,785856
Cu	0,12103	-1,61106	0,258552
Pb	1,01304	0,04439	0,018862
Skumulowana proporcja	0,76883	0,99037	1,000000

większy jest jego wkład w dyskryminację grup. Są to wnioski wstępne i aby potwierdzić te przypuszczenia, należałoby powołać się na wyniki analizy większej liczby próbek.

Korzystając z danych zamieszczonych w tabeli 12, można zapisać funkcje dyskryminacyjne, które przedstawiono za pomocą równań 6–8.

$$U_1 = -5,62798 - 0,00262 \cdot C_B + 0,02166 \cdot C_{Cu} + 6,53297 \cdot C_{Pb} \quad (6)$$

$$U_2 = 7,332830 - 0,084771 \cdot C_B - 0,288246 \cdot C_{Cu} + 0,286297 \cdot C_{Pb} \quad (7)$$

$$U_3 = 1,659605 - 0,046311 \cdot C_B + 0,046275 \cdot C_{Cu} + 0,121642 \cdot C_{Pb} \quad (8)$$

Dane zamieszczone w tabelach 12 i 13 ukazują, że do dalszej interpretacji można pominąć funkcję U₃,

gdyż jej udział w wyjaśnianiu całkowitej zmienności wynosi tylko 0,01%.

Zastępując pierwotne współrzędne próbek określone przez stężenia pierwiastków funkcjami dyskryminacyjnymi U₁ i U₂, można przedstawić wykresy rozproszenia próbek z podziałem na analizowane grupy (ryc. 4).

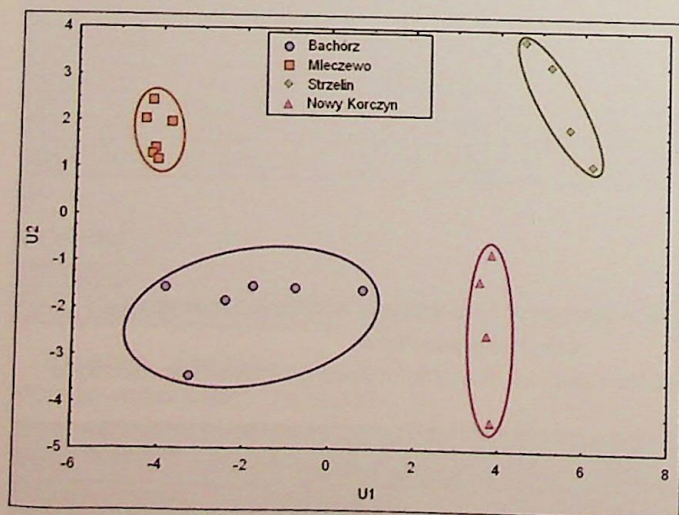
W celu potwierdzenia, że funkcja U₃ wyjaśnia znikomy procent zmienności na rycinach 5 i 6, zamieszczono zależność funkcji drugiej od trzeciej i funkcji pierwszej od trzeciej.

Ryciny 4–6 ukazują, jak bardzo w przestrzeni poszczególnych funkcji dyskryminacyjnych rozdzielone są poszczególne grupy. W porównaniu z rycinami 2 i 3 w nowym układzie współrzędnych wartości mieszczą się w dużo mniejszym zakresie. Wielkości U_i dużo lepiej dyskryminują po-

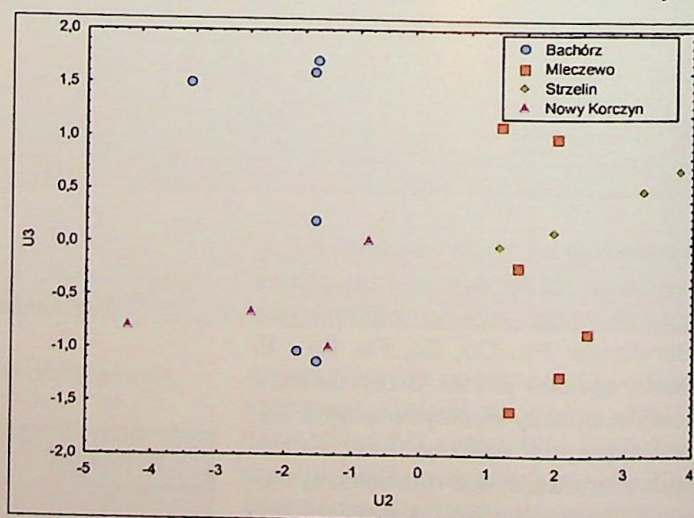
nadto grupy próbek konopi niż stężenia pierwiastków.

Jak można było przypuszczać, najlepsze rezultaty było wykreślenie zależności funkcji pierwszej od drugiej, które wyjaśniają najwięcej zmienności. Grupy próbek konopi pochodzące z różnych miejsc Polski są wyraźnie rozdzielone. Punkty reprezentujące próbki pochodzące z różnych plantacji nie są „przemieszane”, zatem wyznaczenie składu pierwiastkowego w połączeniu z analizą dyskryminacyjną wyników umożliwiło rozróżnienie próbek konopi włóknistych pochodzących z plantacji usytuowanych w różnych rejonach Polski.

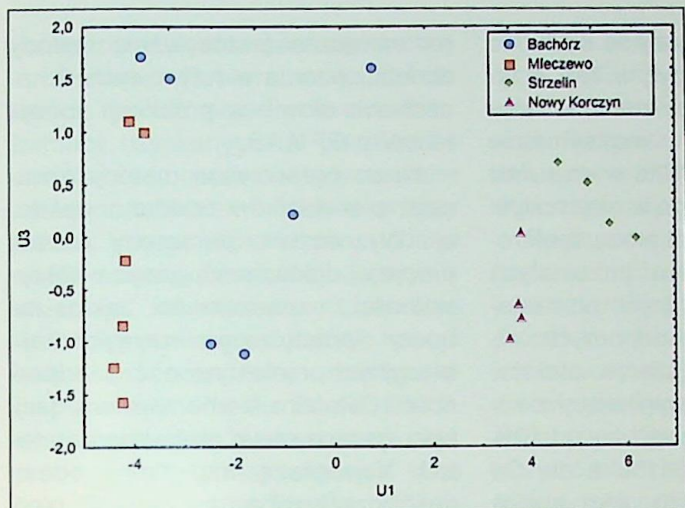
Miarą koncentracji punktów w poszczególnych grupach są średnie zmiennych (punkty centroidalne). Punkt centroidalny to odległość punktu od centrum rozkładu wszyst-



Ryc. 4. Wykres rozrzutu funkcji pierwszej względem drugiej
Fig. 4. Scatter diagram of function 1 versus 2



Ryc. 5. Wykres rozrzutu funkcji drugiej względem trzeciej
Fig. 5. Scatter diagram of function 2 versus 3



Ryc. 6. Wykres rozrzutu funkcji pierwszej względem trzeciej
Fig. 6. Scatter diagram of function 1 versus 3

kich punktów w przestrzeni zmien-
nych niezależnych (wskazują central-
ny punkt każdej grupy). Współrzędne
tych punktów zestawiono w tabeli 14.

Jak wcześniej wspomniano, jed-
nym z celów analizy dyskryminacyj-
nej jest klasyfikacja przypadków,
tzn. ustalenie na podstawie uzyska-
nych doświadczalnie wartości Y_1 ,
..., Y_p , do której grupy zaliczyć k -ty
przypadek (próbkę). Jedną z możli-
wości przeprowadzenia klasyfikacji
jest wykorzystanie tzw. kwadratu od-
ległości Mahalanobisa analizowane-
go punktu od centroidu grupowego.
Obserwację $y(k)$ przyporządkujemy
do grupy, której jest najbliższa, tzn.
do tej, do której odległość Mahala-
nobisa jest najmniejsza. Zwróćmy
uwagę, że nie zawsze powyższy wa-
runek prowadzi do zaklasyfikowania
obserwacji do grupy, z której ona
rzeczywiście pochodzi, gdyż rozwa-
żania prowadzi się w kategoriach
prawdopodobieństwa. Odległości
Mahalanobisa mogą być wykorzy-
stane do klasyfikacji zarówno obser-
wacji należących do wejściowego
zbioru n -danych, jak i dla nowych
przypadków.

Na wstępie postanowiono poddać
klasyfikacji próbki konopi włóknistych
pochodzących z Bachórz (1 próbka
– B6), Mleczevo (2 próbki – M5, M6),
Strzelina (1 próbka – S4) i Nowego
Korczyna (1 próbka NK4). Kwadrato-
we odległości Mahalanobisa dla każ-
dego przypadku wraz z klasyfikacją
zamieszczono w tabeli 15.

Tabela 14
Średnie zmiennych kanonicznych (punkty centroidalne)
Mean values of canonical variables (centroidal points)

Grupa	U ₁	U ₂	U ₃
Bachórz	-1,92413	-1,91594	0,480010
Mleczevo	-4,16378	1,73023	-0,298441
Strzelin	5,40189	2,53464	0,321374
Nowy Korczyn	3,72998	-2,25608	-0,593727

Jak wynika
z danych zawar-
tych w tabeli 16,
na podstawie
kwadratowej od-
ległości Mahala-
nobisa program

Na końcu, na podstawie modelu
stworzonego dla konopi włóknistych,
podjęto próbę klasyfikacji próbek ko-
nopi pochodzących ze sprawy, która
została przekazana do laboratorium
kryminalistycznego. Próbkę poddawa-
ne klasyfikacji pochodziły z Buska-

Tabela 15
Klasyfikacja próbek konopi włóknistych
Classification of fibre hemp samples

Nazwa przypadku	Obserwowana klasyfikacja	Kwadrat odległości Mahalanobisa			
		Bachórz	Mleczevo	Strzelin	Nowy Korczyn
B6	Bachórz	3,49203	14,43605	60,66659	30,31122
M5	Mleczevo	24,56944	1,45249	73,16001	72,57020
M6	Mleczevo	16,34434	0,09662	66,56302	63,30293
S4	Strzelin	52,13493	81,84285	4,15267	12,96573
NK4	Nowy Korczyn	25,23187	67,61858	27,03053	0,10526

poprawnie zaklasyfikował pięć pró-
bek konopi włóknistych pochodzą-
cych z różnych regionów Polski. Ten
wynik jest bardzo obiecujący, gdyż
daje możliwości poprawnej klasyfika-
cji ww. próbek na podstawie ich skła-
dów pierwiastkowych.

-Zdroju (BZ1 – BZ4) i zawierały
0,72–2,18% Δ^9 – THC, były to zatem
konopie „narkotyczne”. Wyniki klasy-
fikacji zamieszczono w tabeli 16.

Wszystkie cztery próbki z Buska-
-Zdroju program przyporządkował do
grupy konopi włóknistych pochodzą-
cych z Nowego Korczyna, co może

Tabela 16
Klasyfikacja próbek konopi „narkotycznych” na podstawie modelu
utworzonego dla konopi włóknistych
Classification of narcotic cannabis samples based
on model created for fibre hemp

Nazwa przypadku	Obserwo- wana klasyfikacja	Kwadratowa odległość Mahalanobisa			
		Bachórz	Mleczevo	Strzelin	Nowy Korczyn
BZ1	Nowy Korczyn	163,6678	260,9881	101,7135	68,66891
BZ2	Nowy Korczyn	23,8428	79,4503	76,3803	16,47945
BZ3	Nowy Korczyn	50,2603	120,3064	68,8271	14,03384
BZ4	Nowy Korczyn	63,7096	139,5697	64,2550	22,06333

świadczyć o tym, że zawartość Δ^9 – THC nie jest skorelowana ze składem pierwiastkowym próbek konopi. Mając na uwadze stosunkowo niewielką odległość między obiema miejscowościami (około 30 km), klasyfikację można uznać za trafną. Badania i analiza dyskryminacyjna mają jednak charakter poglądowy, dlatego należy poprzeć je badaniami większej liczby próbek.

Podsumowanie

Niniejszy tekst jest ostatnim z cyklu artykułów na temat metodyki badania konopi pod kątem oznaczania składu pierwiastkowego wykorzystywanego do ich profilowania. W badaniach zastosowano dwie metody analityczne, tj. ICP-OES i GF AAS. Opracowanie metod oznaczeń pierwiastków techniką GF AAS i ICP-OES rozpoczęto od sprawdzenia, czy matryca próbek konopi po mineralizacji ma istotny wpływ na dokładność i powtarzalność uzyskiwanych wyników. Badania wykazały, że składniki matrycy, jak np. kwas azotowy (V), wapń, magnez i inne pierwiastki obecne w stężeniach rzędu kilku procent, istotnie wpływają na intensywność sygnałów uzyskiwanych dla oznaczanych pierwiastków. Z badań, w których sprawdzono wpływ wapnia i magnezu o wzrastającym stężeniu na sygnały uzyskiwane dla pozostałych pierwiastków, wynika zaś, że dla wszystkich oznaczanych pierwiastków wzrost stężenia matrycy powoduje zmianę intensywności sygnału (od -41% dla Pb do +40% dla Cu). Ponieważ stężenie pierwiastków, jak wapń, magnez czy potas w próbkach konopi zmienia się w szerokim zakresie, eliminacja ich wpływów poprzez dostosowanie matrycy wzorców, ślepych prób i próbek jest utrudniona.

Aby wybrać najlepszą metodę minimalizacji efektów matrycowych w ICP-OES, przeanalizowano i porównano trzy z nich: zastosowanie odpornych warunków plazmy, metodę dodatku bufora matrycy i metodę wzorca wewnętrznego. Zastosowanie odpornych warunków pracy spek-

trometru umożliwiło jedynie dokładne oznaczenie boru, gdyż w tym przypadku wpływ matrycy zmienia intensywność sygnału maksymalnie o +3% (poprawa o 10% w stosunku do wyniku uzyskanego w niezmodyfikowanych warunkach pracy spektrometru). W przypadku pozostałych pierwiastków oznaczanych po zastosowaniu warunków odpornych widoczne jest zmniejszenie efektów matrycowych. Błąd wynikający z ich obecności jest ciągle wyższy od 10% (np. dla Fe wyniósł 11%, a dla Cu +14%). Dodatek sodu, jako bufora matrycy, zminimalizował efektywnie wpływ Ca i Mg na intensywność sygnału dla boru i miedzi (do +3%). Dla pozostałych, oznaczanych metodą ICP-OES pierwiastków, dodatek Na nie ograniczył efektów matrycowych w takim stopniu, by metodę ich kompensacji można było stosować do rutynowych wielopierwiastkowych oznaczeń (np. po korekcji błąd dla Sr i Zn wyniósł +13%).

Trzecią analizowaną metodą kompensacji wpływów matrycy była metoda wzorca wewnętrznego. Sprawdzono zatem efektywność wewnętrznej standaryzacji pierwiastkami: Be, Cr i Y. Na podstawie przeprowadzonych badań uznano, że najlepszymi wzorcami wewnętrznymi są beryl i itr. Dla większości pierwiastków oznaczanych metodą ICP-OES kompensacja efektów matrycowych za ich pomocą jest zadowalająca, a błąd wywołany obecnością matrycy nie przekracza 5% (największy uzyskano dla Sr – 5,9%).

W technice GF AAS, przy efektywnej modyfikacji, matryca jest eliminowana w etapie pirolizy. Sprawdzono efektywność dwóch modyfikatorów: fosforanowo-magnezowego i palladowo-magnezowego. Wyższą temperaturę pirolizy można było zastosować w obecności drugiego z nich (1100°C). Porównanie nachylenia klasycznej krzywej kalibracji bazującej na analizie roztworów lekko zakwaszonych z nachyleniem krzywej uzyskanej metodą dodatku wzorca, skłoniło do stwierdzenia, że matryca ma nadal istotny wpływ na sygnał uzyskiwany dla ołowiu. Wskazuje to

na konieczność stosowania metody dodatku wzorca w rutynowych oznaczeniach ołowiu w próbkach konopi techniką GF AAS.

Nowo opracowane metody oznaczeń pierwiastków poddano walidacji. Wyznaczono parametry metod: precyzja, dokładność, granica wykrywalności i oznaczalności, zakres roboczy i prostoliniowy krzywych kalibracyjnych, selektywność i odporność. Ostatnim elementem walidacji było oszacowanie niepewności metod. Największą względną niepewność rozszerzoną uzyskano dla pierwiastków: Pb, B, Ba, Cu, Sr i Zn. Mieściła się ona w zakresie 10,4–20,2%. W przypadku pierwiastków śladowych oznaczanych metodą ICP-OES największy wpływ na niepewność metody ma opracowanie wzorca głównego, z którego przygotowywane są wzorce do kalibracji. W niepewności metody oznaczania Pb techniką GF AAS 70% udziału przypada na precyzję aparatu.

Wyznaczenie składu pierwiastkowego poszczególnych części rośliny konopi pozwoliło na określenie strategii pobierania próbek do analizy. Było to konieczne, gdyż w profilowaniu niezwykle istotne jest zachowanie powtarzalności pobierania próbek. Jak można się było spodziewać, badania wykazały duże zróżnicowanie zawartości pierwiastków w poszczególnych częściach rośliny konopi. Jej próbki, przesyłane do laboratoriów kryminalistycznych, mają postać całych roślin lub mieszanki ich poszczególnych części (zwykle kwiatostany, liście i nasiona). W próbkach, w których mieszane są różne części rośliny, istotny wpływ na zawartość pierwiastków ma liczba nasion. Ich usunięcie przed etapem homogenizacji znacząco minimalizuje niepewność związaną z pobieraniem próbki.

Opracowane i zwalidowane metody oznaczania pierwiastków zastosowano do wyznaczenia składów pierwiastkowych 85 próbek konopi, z których 20 stanowiły próbki konopi włóknistych. Pochodziły one z czterech legalnych plantacji usytuowanych w Bachórze, Strzelinie, Nowym Korczynie i Mleczewie. Wszystkie rośliny

konopi należały do tej samej odmiany – Benico. Pobierano je około dwóch tygodni przed zbiorem. Z informacji uzyskanych od plantatorów wynika, że konopie nie były zasilane żadnymi nawozami. Wyniki analizy próbek konopi włóknistych poddano analizie dyskryminacyjnej. Jej wyniki wskazują, że największe znaczenie w różnicowaniu grup próbek konopi włóknistych mają kolejno następujące pierwiastki: Pb, Cu, Zn, Fe, Ba i B. Istotny wkład w dyskryminację ww. próbek mają jednak stężenia tylko trzech pierwiastków: Pb, Cu, i B, zaliczanych do pierwiastków śladowych.

Analiza dyskryminacyjna umożliwiła sprawdzić, czy między grupami próbek pochodzących z różnych miejsc występują wyraźne różnice. W tym celu wykreślona została zależność funkcji dyskryminacyjnych U_1 od U_2 . Jak widać, punkty reprezentujące próbki pochodzące z różnych plantacji nie są „przemieszane”. Wyznaczenie składu pierwiastkowego w połączeniu z analizą dyskryminacyjną wyników umożliwiło rozróżnienie próbek konopi włóknistych pochodzących z plantacji usytuowanych w różnych rejonach Polski.

W kolejnym etapie stworzono model klasyfikacyjny, który sprawdzono na podstawie pięciu próbek konopi włóknistych. Na podstawie kwadratowej odległości Mahalanobisa program poprawnie zaklasyfikował wszystkie próbki. Ten wynik jest bardzo obiecujący, gdyż daje możliwości poprawnej klasyfikacji próbek konopi na podstawie ich składu pierwiastkowego.

W toku dalszych badań sprawdzono, czy model klasyfikacyjny stworzony dla konopi włóknistych daje poprawne wyniki klasyfikacji dla próbek konopi „narkotycznych”. W tym celu przeprowadzono klasyfikację czterech próbek konopi pochodzących z nielegalnej uprawy w Busku-Zdroju. Wszystkie próbki program zaklasyfikował do grupy konopi włóknistych pochodzących z Nowego Korczyna. Mając na uwadze stosunkowo niewielką odległość między tymi obiema miejscowościami (około 30 km), klasyfikację można uznać za trafną. Ob-

serwacje te wskazują, że zawartość Δ^9 – THC nie jest skorelowana ze składem pierwiastkowym próbek konopi. Przypuszczenia te należy jednak potwierdzić, wykonując analizy większej liczby próbek konopi.

Podsumowując przeprowadzone badania, można stwierdzić, że istnieje możliwość poprawnej klasyfikacji próbek konopi ze względu na miejsce ich uprawy, na podstawie składów pierwiastkowych oraz analizy dyskryminacyjnej. By model klasyfikacyjny uczynić bardziej dokładnym, należałoby jednak przeprowadzać w laboratoriach kryminalistycznych rutynowe analizy próbek konopi pod względem zawartości pierwiastków i gromadzić wyniki analiz wraz dokładną charakterystyką próbek, tj. miejsca ich uprawy i pochodzenia. Takie działania umożliwiłyby zgromadzenie w przyszłości odpowiedniej bazy danych dla dokładnego modelu klasyfikacyjnego obejmującego całą Polskę. Aby uzyskać większą ilość informacji na temat składu pierwiastkowego próbek, należałoby ponadto zastosować metodę ICP-MS.

tab. i zdj.: autorzy

PRZYPISY

- ¹ M. Wachowicz, M. Kuras: Wstęp do profilowania konopi na podstawie składu pierwiastkowego, „Problemy Kryminalistyki” 2003, nr 240, s. 10–19; M. Wachowicz, M. Kuras: Mineralizacja mikrofalowa jako jedna z technik przygotowania próbek do badań porównawczych, „Problemy Kryminalistyki” 2002, nr 238; M. Kuras, M. Wachowicz: Profilowanie konopi na podstawie składu pierwiastkowego – cz. I (efekty matrycowe), „Problemy Kryminalistyki” 2006, nr 252, s. 21–30; M. Kuras, M. Wachowicz: Profilowanie konopi na podstawie składu pierwiastkowego – cz. II (walidacja metody), „Problemy Kryminalistyki” 2006, nr 253, s. 21–31; M. Kuras, M. Wachowicz: Profilowanie konopi na podstawie składu pierwiastkowego – cz. III (Rozkład pierwiastków w ziele konopi).

pi. Analiza porównawcza. GF ASA), „Problemy Kryminalistyki” 2006, nr 254, s. 20–38; M. Kuras, praca magisterska: Analiza elementarna wybranych narkotyków oraz półproduktu i produktu syntezy siarczanu 4-etoksyamfetaminy, Wydział Chemii UW, Warszawa 2002;

- ² M. Kuras, M. Wachowicz: Profilowanie konopi... – cz. III;
- ³ R. Grabowska, Z. Sokołowska-Jabłońska: Cannabis i jego produkty, „Problemy Kryminalistyki” 1996, nr 214, s. 30;
- ⁴ Division of narcotic drugs Vienna: Recommended methods for testing Cannabis. Manual for use by national narcotics laboratories, United Nations, New York 1987;
- ⁵ P.S. Fetterman, E.S. Keith, C.W. Waller, O. Guerrero, N.J. Doorenbos, M.W. Quimby: „Journal of Pharmaceutical Sciences” 1971, nr 60, s. 1246; E. Small, H.D. Beckstead, „Journal of Natural Products” 1973, nr 36, s. 144;
- ⁶ Y.H. Choi, H.K. Kim, A. Hazekamp, C. Erkelens, A.W.M. Lefeber, R. Verpoorte: Metabolomic differentiation of Cannabis Sativa cultivars using ¹H NMR spectroscopy and principal component analysis, „Journal of Natural Products” 2004, nr 67 (6), s. 953;
- ⁷ V. Jagadish, J. Robertson, A. Gibbs: RAPD analysis distinguishes Cannabis Sativa samples from different sources, „Forensic Science International” 1996, nr 79, s. 113; A. Linacre, J. Thorpe: Detection and identification of cannabis by DNA, „Forensic Science International” 1998, nr 91, s. 71;
- ⁸ M. Dobosz: Wspomagana komputerowo statystyczna analiza wyników badań, Akademicka Oficyna Wydawnicza Exit, Warszawa 2001.
- ⁹ A. Stanisław: Analiza dyskryminacyjna, „Medycyna Praktyczna” 2002, nr 6;
- ¹⁰ M. Dobosz, op.cit.;
- ¹¹ Ibidem; T. Bromek, E. Pleszczyńska: Teoria i praktyka wnioskowania statystycznego, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1988.