INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O cigarro é uma pequena porção de tabaco seco e picado, enrolado em um papel fino com um sistema de filtro (NNOROM et al, 2005). O tabaco é proveniente de uma planta, cujo nome científico é *Nicotiana tabacum*, figura 1, no qual possui como principal substância ativa a nicotina, fator responsável pela dependência física do ser humano (MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS, 2008).

Figura 1 - *Nicotiana tabacum*

O uso do tabaco faz parte de uma cultura milenar iniciada nos continentes africano e asiático desde o ano 1000 a.C; tendo sido consumido pelos povos egípcios, persas e chineses. As sociedades indígenas da América Central utilizavam o tabaco em rituais mágico-religiosos, com o objetivo de purificar, contemplar, proteger e fortalecer os guerreiros, além de usufruir de seus poderes medicinais (ROUTH, 1998).

A *Nicotiana tabacum,* chegou ao Brasil com a migração dos tupi-guaranis. Em seus rituais queimavam as folhas de tabaco e ficavam ao redor inalando sua fumaça, usufruindo a sensação de prazer e alívio em decorrência dos efeitos farmacológicos de algumas substâncias nele presentes (COSTA; SILVA, 1990).

Com a chegada dos portugueses no Brasil, Jean Nicot, diplomata francês advindo de Portugal, teve uma lesão na perna, que foi cicatrizada com o uso do tabaco, em que aproveitando o fato enviou este produto para a rainha da França, Catarina de Médice, com o intuito de curá-la de suas enxaquecas, introduzindo o tabaco na Europa (LEITE, 2001).

O tabaco, portanto, era usado para curar, mas no século XVII, com a utilização do cachimbo, o seu uso recreacional difundiu-se rapidamente para Ásia e África. Já no século seguinte, o tabaco passou a ser usado em forma de pó ou rapé. Sua inalação provoca sucessivos espirros, considerados a sensação na época, estabelecendo-se como moda nas altas rodas sociais. O rapé era guardado em caixinhas de ouro ou prata pelos mais ricos e em pequenos depósitos nos anéis (MILAGRES, 2002).

Outra maneira de preparação do tabaco consiste em formar rolos com as folhas do tabaco curtidas, dando origem ao “fumo de corda”, mastigado e depois cuspido (MILAGRES, 2002).

No século XIX, o charuto foi símbolo de ostentação e passou a ser usado rotineira e inicialmente pela Espanha, disseminando-se pela Europa e Estados Unidos. No século XX, o uso do tabaco, principalmente na

fabricação de cigarros espalhou por todo mundo, com a ajuda de técnicas avançadas (industrialização), e comercializados com altos investimentos em publicidades e marketing. A partir da década de 1960, surgiram os primeiros relatórios científicos que relacionaram o cigarro ao adoecimento dos fumantes (CARVALHO, 2001); (MILAGRES, 2002).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, o cigarro é o maior causador de mortes evitáveis na historia da humanidade, pois a cada 10 segundos uma pessoa morre como resultado do uso do tabaco (WHO, 1997).

O tabagismo produz efeitos deletérios sobre o organismo humano, causando diferentes malefícios à saúde, sendo a alteração do aparelho respiratório a mais importante. Além disso, entre os fumantes merecem destaque, a doença pulmonar obstrutiva crônica e a maior incidência do câncer de pulmão (SHAIKH et al, 2001); (CAVALCANTE, 2005); (FREEMAN et al, 2008), guardando relação com os índices crescente de consumo de cigarro. Em outros órgãos, as doenças relacionadas ao tabaco são variadas: neoplasias de vários órgãos e tecidos, vasculopatias periféricas, insuficiência coronariana, impotência sexual, maior incidência de inflamação respiratória em crianças (GIUST, 2007). Essas doenças são provenientes do impacto biológico das repetidas inalações dos vários constituintes tóxicos presentes no cigarro, no qual são produzidos por destilação, pirosíntese e liberados durante a combustão (CARVALHO, 2002); (TORRENCE et al, 2002); (KAZI et al, 2008).

Dentre os constituintes tóxicos presentes nos cigarros estão os constituintes inorgânicos (ZULFIQAR et al, 2006). De forma geral, sabe-se, que os constituintes inorgânicos são necessários para muitas das funções vitais do metabolismo humano, o excesso ou a deficiência podem gerar desordem biológica no organismo (ALVARADO; CRISTIANO, 1993); (NADA et al, 1999).

Segundo ZHANG et al. (2005) os constituintes inorgânicos no tabaco, são absorvidos pela planta, e acumulados nas folhas. Os pesquisadores WAGNER (1993), LUGON-MOULIN et al. (2004) e PAPPAS et al. (2006) explicam que essa acumulação na planta do tabaco se dá como conseqüência de vários fatores, como a prática na agricultura, característica do solo e condições ambientais.

Na literatura apresentam estudos que já confirmam a presença dos constituintes inorgânicos no tabaco, entretanto, de acordo com CHIBA; MASIRONI (1991) e CRISPINO et al (2007) pouca atenção tem sido dada à existência desses, e os seus possíveis efeitos nos processos bioquímicos no corpo humano. Em vista disso é importante o conhecimento dos inúmeros malefícios que o cigarro causa além do que já é relatado popularmente.

1.1 Os efeitos bioquímicos dos constituintes inorgânicos analisados: Cd, Co, Cu, Ni e Pb

1.1.1 Cádmio

O cádmio não apresenta função biológica essencial, sendo altamente tóxico para plantas e animais. Na população geral, o tabagismo é uma das mais importantes fontes de exposição de cádmio (MASSADEH et al, 2004). O perigo para a saúde humana está na acumulação crônica, que pode causar disfunção no córtex renal conduzindo a um decréscimo na absorção de proteínas. Ainda, a disfunção renal reduz a produção de vitamina D causando problemas ósseos e está entre os agentes causadores das doenças cardiovasculares (SISMAN et al, 2003); (NAVAS-ACIEN et al, 2004).

1.1.2 Cobalto

A inalação do cobalto é a principal rota de exposição, podendo resultar em efeitos adversos à saúde, incluindo o período de respiração e problemas nas glândulas da tireóide (BOECK et al, 2004).

1.1.3 Cobre

O cobre é um dos muitos elementos químicos essenciais à vida, pois desempenha um papel importante para funções de várias enzimas e células protéicas, porém o excesso na acumulação intracelular é relatado como tóxico (SARGENTELLI et al, 1995); (AJAB et al, 2008).

1.1. 4. Níquel

O níquel é um elemento carcinógeno às vias respiratórias e que tem sido demonstrado durante 40 anos que a exposição ocupacional ao Ni predispõe o homem ao câncer de pulmão, laringe e nasal. (CASARETT; DOULL'S, 1991).

1.1.5 Chumbo

O chumbo é um elemento tóxico não essencial que se acumula no organismo. Na sua interação com a matéria viva, o chumbo apresenta tanto características comuns a outros constituintes inorgânicos potencialmente tóxicos, quanto algumas peculiaridades. Como esse elemento afeta virtualmente todos os órgãos e sistemas do organismo, os mecanismos de toxicidade propostos envolvem processos bioquímicos fundamentais, que incluem a habilidade do chumbo de inibir ou imitar a ação do cálcio, devido à sua similaridade de tamanho, e de interagir com proteínas. Em níveis de exposição moderada (nos fumantes) um importante aspecto dos efeitos tóxicos do chumbo é a reversibilidade das mudanças bioquímicas e funcionais induzidas. Os efeitos biológicos do chumbo são os mesmos, qualquer que seja a rota de entrada (inalação ou ingestão), uma vez que há interferência no funcionamento normal da célula, e em inúmeros processos fisiológicos (MOREIRA; MOREIRA, 2004).

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Revisão Bibliográfica

Vários trabalhos encontram-se na literatura para a determinação de constituintes inorgânicos em amostras de cigarros, utilizando diferentes técnicas e métodos analíticos.

CRISPINO et al. (2007) determinou o conteúdo dos minerais, Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Sr, em diferentes marcas de cigarro, com o objetivo de classificá-los de acordo com o tipo de cada cigarro, light, convencionais e com sabores. O método de digestão ácida em forno de microondas foi empregado. A abertura das amostras foi feita com HNO_3 65% e H_2O_2 30%. A concentração do conteúdo mineral nos cigarros em µg g^{-1} foi através da Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP AES). Após essa quantificação, aplicaram-se as analises multivariadas, HCA e PCA, na matriz de dados obtida. A partir das análises dos resultados da HCA e PCA, verificou que as variáveis que significativamente contribuíram para a classificação dos cigarros, foram Ca, Sr, Cu, K e Na, separando-os em três grupos: cigarros do tipo light, convencionais e com sabores.

LUGON-MOULIN et al. (2005) com o intuito de identificar as regiões produtoras de tabaco, com baixas e altas concentrações de Cd, e obter o conhecimento sobre as causas dessas concentrações para auxiliar na definição de estratégia para reduzir o teor de Cd no tabaco, analisou a

concentração de Cd nas folhas do tabaco em treze países, no período de 2001 a 2003. Foram analisadas 755 amostras. Foi observado que a concentração de Cd varia de acordo com a localização geográfica. Entretanto, pode também ocorrer variações na concentração de Cd no mesmo país e mesmo na região de amostragem, devido, principalmente, as característica do solo.

MASSADEH et al. (2003) determinou Cu e Zn em 19 marcas de cigarro vendidas e produzidas na Jordânia. O método de digestão ácida em forno de microondas foi utilizado. As amostras de cigarro foram abertas usando as misturas dos ácidos HNO_3 e HCl (8:2 v/v), e as determinações dos constituintes inorgânicos foram feitas por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama, FAAS. Os resultados obtidos para a concentração média do cobre e zinco nas marcas de cigarro da Jordânia foram 12,90 µg g^{-1} e 55,62 µg g^{-1} respectivamente.

MASSADEH et al. (2004) analisou Cd e Pb em 19 marcas de cigarros da Jordânia. A digestão das amostras foi a mesma utilizadas no trabalho do autor em 2003. O método analítico empregado para a determinação dos constituintes inorgânicos nas marcas de cigarro foi Espectrometria de Absorção Atômica em forno de grafite. A concentração média de Cd e Pb nas amostras analisadas foi 2,64 e 2,67 µg g^{-1} respectivamente.

NNROM et al. (2005) com objetivo de alertar os fumantes da Nigéria quanto ao uso de cigarros, estudou a concentração de Cd em diferentes marcas de cigarro disponíveis na Nigéria. As análises foram feitas por FAA,

após a digestão das amostras com HNO_3. As maiores concentrações de Cd encontradas foram para marcas de cigarro importadas, comparados com as marcas de cigarro local. O estudo mostrou uma estimativa que para uma pessoa que fuma 20 cigarros por dia, há um aumento na retenção de Cd, de aproximadamente 1 µg/dia.

ÇİFTÇİ; ÖLÇÜCÜ et al. (2007) relata os níveis dos constituintes inorgânicos, Fe, Cu, Cd e Zn em algumas marcas de cigarros vendidas na Turquia. A determinação da concentração desses constituintes inorgânicos foi através da FAAS. Para a digestão ácida das amostras utilizou os reagentes, HNO_3, $HClO_4$ e H_2O_2. Os valores médios obtidos para o Fe nas marcas de cigarros A, B, C,D e F são: 650, 410, 545, 312, 530 mg kg^{-1}; os valores médios para a concentração de Cu são: 1,94; 2,12; 0,91; 2,24 e 1,05 mg kg^{-1}, e os valores médios para a concentração de Zn são: 16,2; 48,4; 28,3; 61,8 e 32,5 mg kg^{-1} respectivamente.

GALAZYN-SIDORCZUK et al. (2007) estimou a exposição de Cd e Pb nos cigarros poloneses. Foi determinado as concentrações de Cd e Pb no tabaco, e também, no sangue e na urina de pessoas que fumavam aproximadamente 20 cigarros por dia, bem como de pessoas não fumantes. Com as fontes de constituintes inorgânicos são variadas (alimentos, bebidas, ar poluído), foi selecionado habitantes da região Bialystok, Polônia, que possui baixa poluição atmosférica, objetivando assegurar a precisão dos resultados. Foi observado que a concentração de Pb no sangue dos fumantes (52,12 ± 15,51 µg L^{-1}) é maior 29% que os não fumantes (40,42 ±

15,51 µg L^{-1}). Já a concentração de Cd no sangue e na urina dos fumantes é 2-4 vezes maior do que a dos não fumantes. A média da concentração de Cd e Pb nos cigarros foram 0,6801 ± 0,1765 e 0,6853 ± 0,0746 µg por cigarro, respectivamente.

A Índia é o terceiro maior produtor de tabaco no mundo, e 80% da produção de tabaco é consumido pela população local. Em vista disso, SHAIKH et al. (2002) avaliou por técnicas nucleares e afins, a concentração de 22 constituintes inorgânicos em 40 marcas de cigarros, sendo, 20 oriundos do tabaco enrolado em folhas, 15 de mascar e 15 de cheirar. As análises foram feitas no tabaco e na fumaça do tabaco. Para coleta da fumaça do tabaco, foi desenvolvido no próprio laboratório uma maquina de fumar. Os resultados mostraram que, Br, Cr, Sb e Zn tem a maior porcentagem de transferência do tabaco para a fumaça na ordem de 2-15%. Co, Fe e Sc tem menor porcentagem de transferência menos de 1%. Foi observado também que as porcentagens de maior transferência dos constituintes inorgânicos analisados no tabaco para a fumaça são nos cigarros no qual o tabaco é apenas enrolado em folhas. Nos cigarros sem filtro, tem maior transferência (2-3 vezes), comparados com os cigarros de filtro.

ZULFIQAR et al. (2006) refere-se a comparação e a estimação dos constituintes inorgânicos Ni, Cd, Cr, Zn, Pb e Cu em 30 marcas de cigarros locais e importadas do Paquistão. O método de digestão ácida utilizando as misturas dos ácidos HNO_3 e $HClO_4$ foi empregado para a abertura das

amostras, e FAA foi utilizado para quantificar os níveis dos 6 constituintes inorgânicos, nos cigarros analisados. Os resultados adquiridos demonstraram que os cigarros de marcas importadas são mais tóxicos que os cigarros de marcas locais, por possuírem em média, a maior concentração de todos os constituintes inorgânicos analisados.

AJAB et al. (2008) determinou em marcas de cigarros local e importada do Paquistão, os níveis dos seis constituintes inorgânicos Mn, Co, Cu, Cd, Pb e Zn. Esses constituintes inorgânicos foram analisados em 20 marcas de cigarro, sendo 10 marcas locais e 10 marcas importadas, utilizando um FAA, após a digestão da amostra em forno de microondas. Os resultados encontrados mostraram alta concentração em cigarros de marcas importadas, comparados com os cigarros de marcas locais. Entretanto elevados níveis de Co, Pb e Cu foram observado em marcas de cigarros locais. Portanto, verificou que, as marcas de cigarros locais do Paquistão também são fontes de constituintes inorgânicos potencialmente tóxicos.

NADA et al. (1998) analisou constituintes inorgânicos em dois tipos de cigarros disponíveis no Egito. Os tipos são: cigarros de marcas populares e cigarros de marcas finas. O conteúdo de onze constituintes inorgânicos foram quantificados no tabaco, papel, cinza e no filtro (antes e depois de ser usado), através da análise por Ativação Neutrônica. O estudo do potencial de toxicidade desses elementos para os fumantes foi brevemente discutido. E concluiu que, apesar dos cigarros populares serem mais baratos e

acessíveis a população em geral, estes cigarros possuem sérias fontes prejudiciais à saúde do fumante que os cigarros de marcas finas.

As análises dos constituintes inorgânicos no cigarro são também um indicativo de mudanças ambientais, já que, a absorção dos constituintes inorgânicos na planta do tabaco se dá, principalmente, pelo solo contaminado e, o ar atmosférico poluído. Neste sentido, RICKERT; KAISERMAN (1994) realizaram um estudo de 21 anos (1968-1988) em cigarros canadenses, monitorando os níveis de Pb, Cd e Hg. Os resultados obtidos indicaram a diminuição desses constituintes inorgânicos presentes no cigarro, ao longo do estudo, como conseqüência do melhoramento das questões ambientais na região onde a planta de tabaco era cultivada, sul de Ontário, Canadá.

TORRENCE et al. (2002) determinou As, Cd e Pb na fumaça de cigarro condensada, utilizando Espectrometria de Absorção Atômica em forno de grafite e Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, ICP-MS. As duas técnicas analíticas foram comparadas e observou que, os resultados dessas duas técnicas analíticas, para essa análise são similares

3. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

A absorção da luz por meio de átomos oferece uma ferramenta analítica poderosa para as análises quantitativas. A espectroscopia de absorção atômica (AAS - do inglês Atomic Absorption Spectrometry) baseia-se no princípio que estabelece que os átomos neutros e no estado gasoso podem absorver a luz a um certo comprimento de onda. A absorção é específica a cada elemento, nenhum outro elemento absorve este comprimento de onda. Em 1955, seu potencial analítico foi desenvolvido pelo físico australiano Alan Walsh com o uso da lâmpada de cátodo oco como fonte de radiação (CHRISTIAN; O'REILLY, 1986).

AAS é um método analítico usado para a análise de constituintes inorgânicos, entre eles os potencialmente tóxicos, tais como Cd, Co, Cu, Pb e Ni em diversos tipos de amostras como solo, água, materiais biológicos, alimentos, etc. Comumente os constituintes inorgânicos estão presentes nas amostras em diferentes maneiras, fazendo parte da estrutura de alguns sólidos ou complexados com substância orgânicas, desta maneira é necessário que a amostra seja solubilizada para que os constituintes inorgânicos fique em solução e seja identificado pelo equipamento (TAYLOR et al., 1994).

3.1. Equipamentos para Absorção Atômica

Na Figura 2 é apresentado um diagrama esquemático dos componentes básicos de um espectrômetro de absorção atômica com chama (SKOOG et al., 1996).

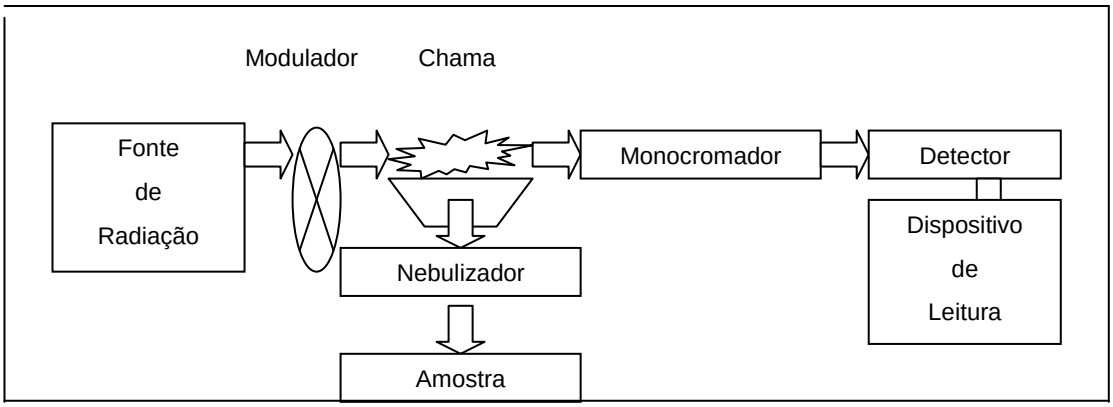

Figura 2- Diagrama esquemático dos componentes básicos de um espectrômetro de absorção atômica com chama

3.1.1. Fonte de radiação

As fontes de radiação utilizadas para AAS são comumente fontes de linhas, ou seja, emitem linhas espectrais estreitas. As lâmpadas de cátodo oco são as fontes de radiação mais utilizadas. Elas são constituídas de um tubo de vidro preenchido com gás inerte, neônio ou argônio, onde em uma das extremidades posicionam-se os eletrodos, sendo um cátodo confeccionado com o próprio constituinte inorgânico de interesse, ou revestido pelo elemento de interesse, e um ânodo constituído por um bastão de zircônio ou tungstênio; a outra extremidade é selada com uma janela transparente ao comprimento de onda de interesse, sendo geralmente quartzo. Há lâmpadas de câtodo oco para a maioria dos constituintes

inorgânicos. Além disso, também existe lâmpadas que contém dois ou três elementos em um único tubo. Nesse caso, a emissão não é tão intensa e o tempo de vida é menor (SKOOG et al., 1996).

3.1.2. Modulador

É necessário em medidas de absorção atômica haver discriminação entre a radiação da lâmpada (fonte) e a radiação da chama. Na fonte acontece a emissão de radiação específica do elemento analisado, enquanto na chama, frações atômicas do elemento podem ser excitados e emitir radiação com mesmo comprimento de onda da fonte. A radiação da chama atua como fonte potencial de interferência. Esse efeito da emissão da chama é anulado atravéz da modulação da emissão da fonte com um pulsador mecânico ou eletronicamente (TAYLOR et al., 1994).

3.1.3. Atomização por Chama

Os atomizadores correspondem à célula onde a amostra é colocada para a análise, em um equipamento de AAS. O atomizador precisa produzir átomos livres no estado gasoso (atomização) para que o processo de AAS ocorra. O atomizador com chama é constituído de três partes principais: o nebulizador, a câmara nebulizadora e o queimador (MENDHAM et al., 1994).

O nebulizador tem como finalidade produzir uma névoa ou aerossol (pequenas gotículas) da solução da amostra. Quanto menor forem essas gotículas maiores será a eficiência do nebulizador e conseqüentemente um

melhor resultado será conseguido. O tipo mais comum de nebulizador é o tipo pneumático de tubo concêntrico, no qual a amostra é sugada através de um tubo capilar por um fluxo de alta pressão de gás em torno do tubo. Esse processo de transporte é chamado de aspiração.

A câmara de nebulização é o local por onde as gotículas das amostras devem passar antes de chegar ao queimador. No interior dessa câmara existem pequenos obstáculos chamados de flow spoiler. Os quais possuem o objetivo de drenar as gotículas maiores. A névoa produzida é misturada com o gás combustível e o gás oxidante, e flui para o queimador, onde ocorrerão alguns processos, como a evaporação do solvente (dessolvatação), a vaporização e dissociação da molécula em seus átomos constituintes (SKOOG et al., 1996); (MENDHAM et al., 2002).

3.1.4. Sistema de Detecção

Nesta parte do sistema inclui-se o monocromador, responsável por isolar o comprimento de onda de interesse, o detector que transforma o sinal recebido em sinal elétrico e o dispositivo de leitura que registra os dados obtidos (CHRISTIAN; O'REILLY, 1986); (SKOOG et al., 1996); (MENDHAM et al., 2002).

4. MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

A Quimiometria é uma análise de dados químicos de natureza multivariada, na qual corresponde a um grande número de métodos e técnicas que tem como objetivo, extrair o máximo de informações do conjunto de dados obtidos. Essa análise multivariada é uma extensão da análise univariada (análise de distribuição de uma única variável) e da análise bivariada (MOITA NETO; MOITA, 1997) (FERREIRA et al, 1999); (HAIR et al, 2005).

O desenvolvimento da quimiometria está fortemente relacionado ao uso de computadores, em partes devido aos recentes avanços em processamento e programas. Isso apresentou pela necessidade, pois a aquisição de dados principalmente na área de Química Analítica, atingiu um ponto bastante sofisticado com o interfaciamento de instrumentos aos computadores produzindo uma enorme quantidade de informação, muitas vezes complexa e variada, e que a resolução de determinados problemas exigiria muitos cálculos (FERREIRA et al., 1999); (NETO et al., 2006).

Apesar de a quimiometria utilizar ferramentas de trabalho que provenham principalmente da matemática, estatística e computação, ela é uma disciplina da química e não da matemática (WOLD; SJOSTROM, 1998), portanto ela tem como objetivo: planejar ou selecionar procedimentos

ótimos de medidas e experimentos e extrair o máximo da informação química relevante, com a análise dos dados (NETO, 2001).

Atualmente a Quimiometria divide-se em algumas áreas principais, muito pesquisadas e aplicadas como: planejamento e otimização de experimentos, reconhecimento de padrões e classificação de dados, calibração multivariada, processamento de sinais analíticos, monitoramento e modelagem de processos multivariados e métodos de inteligência artificial (OTTO, 1999).

Para realizar os estudos quimiométricos, torna-se necessário a organização prévia do conjunto de dados a ser estudado e sua classificação de modo a escolher qual método matemático é o mais adequado para o alcance das soluções esperadas.

4.1 Organizações dos Dados

Inicialmente os dados são organizados em uma matriz **X**, chamada de matriz de dados (figura 3). Os dados consistem em **n** medidas de diferentes propriedades (variáveis) executadas sobre **m** amostras (objetos) de modo que a matriz de dados **X** é formada por **m**x**n** elementos (**m** linhas representam as amostras e **n** colunas representam as variáveis).

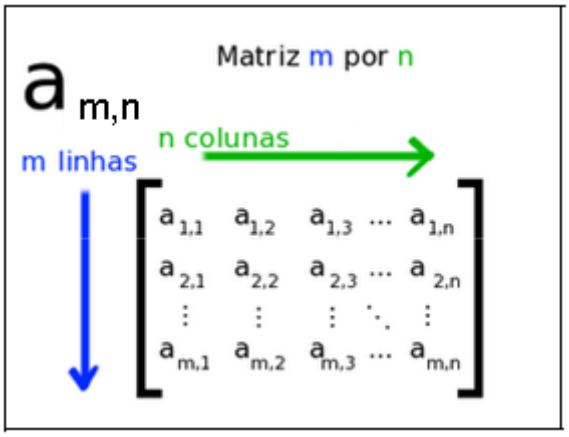

Figura 3 – Matriz de dados **X**, formada por mxn elementos, sendo m linhas representam as amostras e n colunas representam as variáveis.

As notações de álgebra linear também se aplicam à quimiometria. Um vetor é uma matriz que tem somente uma linha ou uma coluna, sendo chamado, respectivamente, de vetor linha ou coluna. Os vetores são designados por letras minúsculas em negrito e as matrizes por letras maiúsculas em negrito (MINGOTI, 2005); (MOITA NETO; MOITA, 1998).

Depois de organizar o conjunto de dados é realizado um pré-processamento, visando reduzir ou remover fontes de variações que sejam irrelevantes ao objetivo do estudo quimiométrico, ou seja, o conjunto de dados originais podem não ter uma distribuição adequada para análise, dificultando a extrações de informações úteis e interpretação dos mesmos. Dentre os vários métodos matemáticos de pré-processamentos de dados, os mais utilizados são: centrar na média e o autoescalamento (MATOS et al, 2003).

4.1.2 Dados Centrados na média

Este método consiste em fazer com que cada variável tenha média igual à zero. Isto é feito, obtendo-se para cada coluna o valor médio, e em seguida subtrai-se esse valor de cada variável dessa mesma coluna. A equação 1, é utilizado para centrar os dados na média:

$$\boldsymbol{X}_{(mn)} = \boldsymbol{X}_{(mn)} - \overline{\boldsymbol{X}_m} \qquad (1)$$

onde $\boldsymbol{X}_m$ é o valor médio correspondente a n-ésima coluna.

Dessa forma ocorre à mudança do sistema de coordenadas, para o centro do eixo de dados como mostrado na figura 4 (OTTO, 1999); (BORIN, 2003); (MINGOTI, 2005).

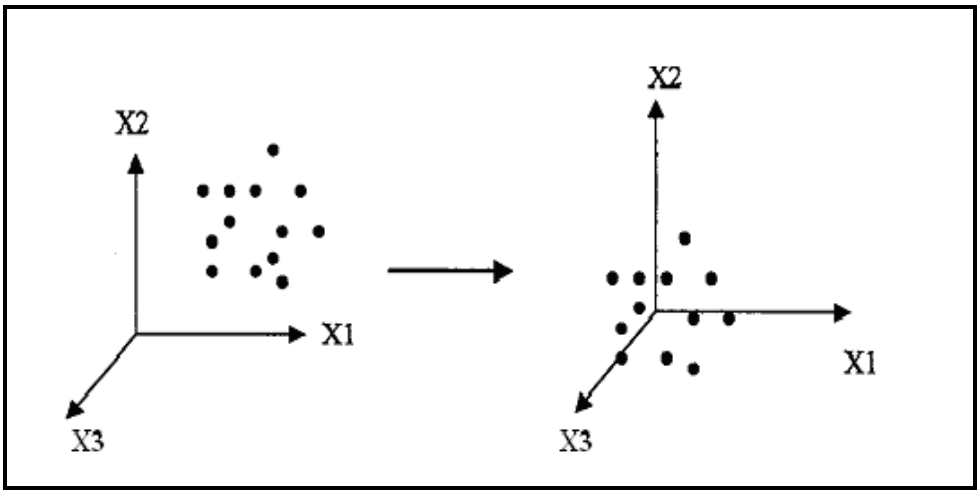

Figura 4 – Representação gráfica para a mudança de coordenadas dos dados centralizados na média.

4.1.3 Dados Autoescalados

Este pré-processamento consiste em corrigir a disparidade nas distribuições das variáveis dando a essas, “pesos” (importância) iguais na construção do modelo multivariado onde cada coluna da matriz de dados adquire média igual a zero e variância igual a um. A equação 2 é utilizada para auto-escalar os dados.

$$\boldsymbol{X}_{mn} = \frac{\boldsymbol{X}_{mn} - \boldsymbol{X}_{n}}{\sigma_{n}} \qquad (2)$$

em que $\boldsymbol{X}_n$ e σ_n representa o valor médio e o desvio padrão calculados para a variável “n”. Uma representação gráfica para os dados autoescalados encontra-se na figura 5, na qual pode ser observado o deslocamento dos sistemas de coordenadas dos dados por meio do eixo cartesiano de modo organizado.

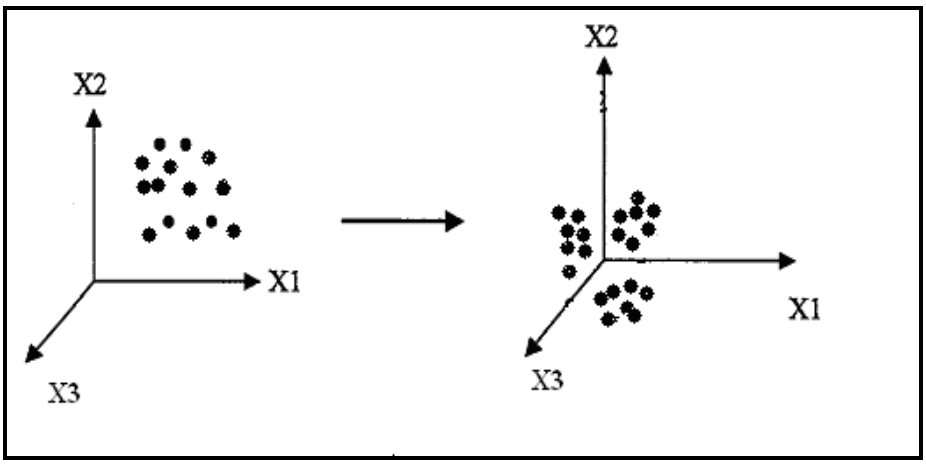

Figura 5 – Representação gráfica dos dados autoescalados. Os “pesos” da distribuição das variáveis ficam iguais.

Depois que os dados são organizados em uma matriz, e aplicados os pré-processamentos, os mesmos podem ser analisados pelos Métodos Quimiométricos, como a Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA)

4.2 Análises de Componentes Principais

A análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) é a principal ferramenta dos métodos quimiométricos, onde a informação inicial é transformada em um conjunto de informações mais compactas e resumida que a anterior, com perda mínima de informação (HAIR et al., 2005); (FERREIRA et al., 1999); (MINGOTI, 2005), utilizando uma abordagem estatística que pode ser usada para analisar correlação (inter-relação) entre um grande número de variáveis e explicar essas variáveis em termos de suas dimensões inerentes (chamada de componentes principais).

A vantagem dessa redução é a possibilidade de visualizar a distribuição espacial das amostras influenciada pelas variáveis originais, em gráficos bi e tridimensionais.

Para efetuar tal redução a matriz original passa a ser representada por novas variáveis, agora ortogonais entre si, ou seja, não correlacionadas, e direcionadas em função da distribuição especial dos dados. Portanto, ao se ter n-variáveis originais, geram através de suas combinações lineares, n-componentes principais, cuja primeira componente principal (PC1) é aquela

situada na direção de maior variação dos dados (que detém mais informação estatística), a segunda (PC2) é ortogonal a primeira e, em uma direção que lhe permite descrever a maior variação dos dados restantes. E assim, sucessivamente, são obtidas as outras componentes. Matematicamente, isto equivale à operação de encontrar os autovetores e autovalores da matriz de dados. Cada autovalor corresponde à quantidade de variância explicada pelo seu autovetor associado (MINGOTI, 2005).

Na figura 6 está apresentado um exemplo de gráfico de dados em um sistema bidimensional, no qual a variável 1 representa a primeira coluna de uma matriz e a variável dois a segunda coluna. Em termos da distribuição espacial a reta PC1 tem maior variância dos dados seguida pela reta PC2 a segunda maior variação.

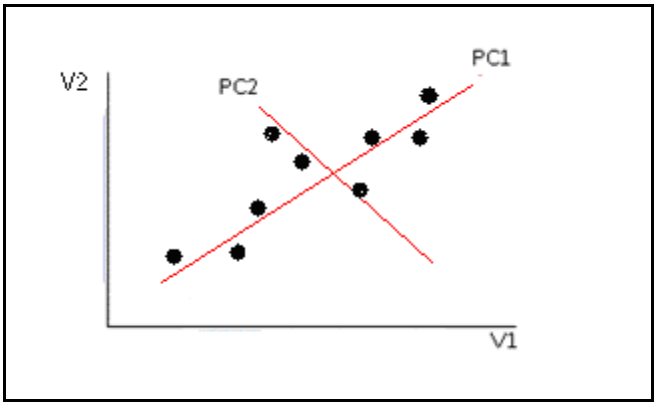

Figura 6 - Gráfico bidimensional, representando as componentes principais. A PC1 está na direção de maior variação dos dados enquanto a PC2 é ortogonal a PC1 e está na direção da maior variação dos dados restantes.

Uma vez obtida as componentes principais, a matriz de dados **X**, com m linhas e n colunas, pode ser representada por duas matrizes menores, Figura 6.

Na Figura 7, **T** é a matriz de "*scores"*, **P** é a matriz de *"pesos*" e **E** é a matriz dos resíduos (o subscrito t em **P** representa a transporta da matriz). Os "*scores*" correspondem à projeção de cada ponto na reta das componentes principais. Os pesos de cada variável nessa reta correspondem ao cosseno do ângulo formado entre o fator e a variável em questão (MATOS et al, 2003).

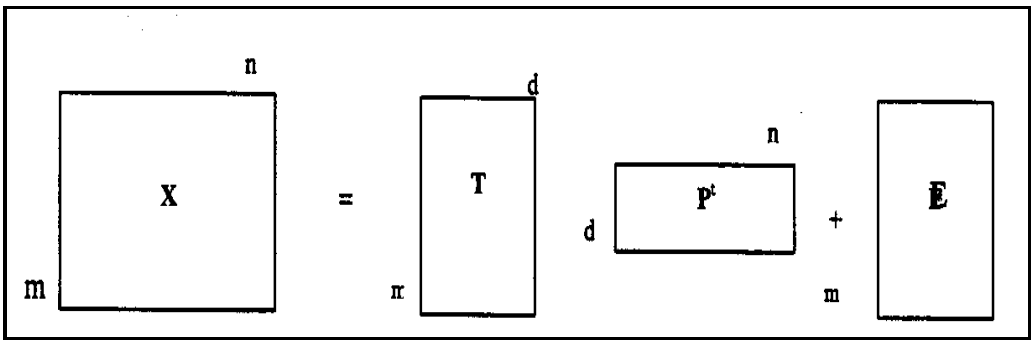

Figura 7 – Decomposição da matriz **X** em duas outras matrizes menores, a matriz **T** de "*escores*" e a matriz **P** de pesos e na matriz **E** de resíduo.

4.3. Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA)

A técnica de Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA) é um método cuja finalidade primária é agregar objetos (indivíduos) com base nas características que eles possuem. A HCA classifica objetos de modo que cada objeto é muito semelhante aos outros no agrupamento em relação a

alguns critérios de seleção predeterminado. Os agrupamentos resultantes de objetos devem então exibir homogeneidade interna, ou seja, dentro dos agrupamentos, e heterogeneidade externa, entre agrupamentos. Utilizado pela primeira vez por Tryon em 1939 com o nome de *cluster analysis*, o foco da HCA é exibir os dados num espaço bidimensional de maneira a facilitar e enfatizar os agrupamentos (ANDRADE, 2007).

Existem muitas maneiras de procurar agrupamentos no espaço bidimensional. A maneira matematicamente mais simples consiste em agrupar os pares de pontos que estão mais próximos, usando a distância euclidiana, e substituí-los por um novo ponto localizado na metade da distância entre eles. O índice de similaridade, s_{ij}, entre os pontos i e j, calculado segundo a seguinte equação (3):

$$Sij = 1 - \frac{dij}{dmáx} \qquad (3)$$

O termo d_{ji} é a distância entre os pontos i e j e $d_{máx}$ é a distância máxima entre qualquer par de pontos (MOITA NETO & MOITA, 1997).

4.3.1 Formação dos Agrupamentos

Após determinado a medida de similaridade, a seguir deve-se desenvolver o procedimento para a formacão de agrupamentos. Os métodos mais comuns são: Ligação Simples *(Single Linkag)*; Ligação Completa *(Complete Linkag)e* ; Centróide (Centroid) e Método de Ward's (OTTO, 1999); (MINGOTI, 2005).

4.3.1.*1* Ligação Simples *(Single Linkag)*

Este método, também conhecido como a regra do vizinho mais próximo, é um dos mais simples, sendo de uso geral e de rápida aplicação. Neste método, a distância entre dois grupos é determinada pela distância dos dois objetos mais próximos nos grupos diferentes, a partir daí, a matriz de similaridade vai sendo continuamente atualizada, sempre procurando as menores distâncias e aproximando os agrupamentos mais similares, até que um único agrupamento seja formado (OTTO, 1999).

A equação 4 apresenta como é calculado a menor distância entre dois grupos:

$$d_{ki} = \frac{d_{Ai} + d_{Bi}}{2} - \frac{/d_{Ai} - d_{Bi}/}{2} = \max(d_{Ai}, d_{Bi}) \qquad (4)$$

4.3.1.2 Ligação Completa *(Complete Linkag)*

Neste método, também conhecido como a regra do vizinho mais distante, a similaridade entre os grupos é definida pelos elementos que são “menos semelhantes” entre si. A distância entre dois conglomerados é definida pela equação 5:

$$d_{ki} = \frac{d_{Ai} + d_{Bi}}{2} + \frac{/d_{Ai} - d_{Bi}/}{2} = \max(d_{Ai}, d_{Bi}) \qquad (5)$$

4.3.1.3 *Centróide (Centroid)*

O método do centroíde é direto e simples. A distância entre dois grupos é definida como sendo a distância entre os vetores de médias, também chamados de centróides, dos grupos que estão sendo comparados. Dessa forma, se $C_1 = \{X_1, X_3, X_7\}$ e $C_2 = \{X_2, X_6\}$, os vetores de médias correspondentes são:

$$\text{Vetor de médias de } C_1 = \overline{X}_1 = 1/3[\, X_1+X_3+X_7]$$

$$\text{Vetor de médias de } C_2 = \overline{X}_2 = 1/2\, [X_2+X_6]$$

e a distância entre C1 e C2 é definida pela equação 6 :

$$d\,(C1,C2) = (\overline{X}_1 - \overline{X}_2)'\, (\overline{X}_1 - \overline{X}_2) \qquad (6)$$

que é a distância Euclidiana ao quadrado entre os vetores de médias amostral X1 e X2.

4.3.1.*4 Método de Ward's*

O método de Ward tende a produzir grupos com aproximadamente o mesmo número de elementos e tem como base principal os princípios de análise de variância. Este processo de agrupamento é fundamentado na "mudança de variação" entre os grupos e dentro dos grupos que estão sendo formados em cada passo do agrupamento, equação 7:

$$d_{Ki} = \frac{n_A + n_i}{n+n_1}\, d_{Ai} + \frac{n_B + n_i}{n+n_1}\, d_{Bi} - \frac{n_i}{n+n_1}\, d_{AB} \quad (7)$$

4.3.2 Dendrograma

A formação dos agrupamentos, na prática, é mostrada por um gráfico em forma de árvore conhecido como dendrograma, figura 8.

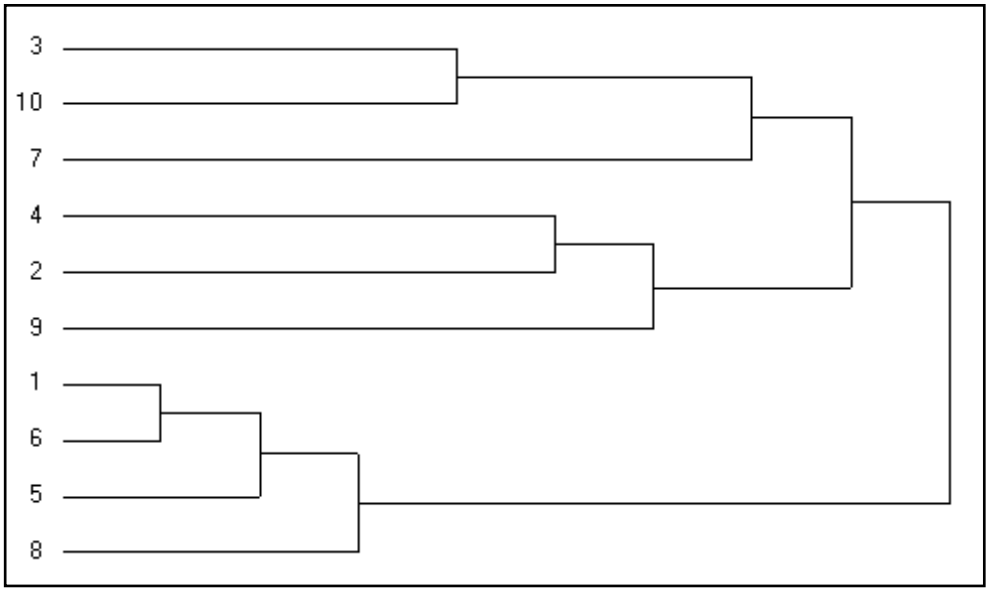

Figura 8 - Representação gráfica de um dendrograma, em que apresenta as similaridades entre as amostras.

Segundo OTTO (1999) os dendrogramas são especialmente úteis na visualização de semelhanças entre amostras ou objetos, onde a representação de gráficos convencionais não é possível.

Portanto, na Figura 7 as amostras que estão mais próximas são as mais semelhantes, por exemplo, as amostras 2 e 4 são mais semelhantes que as amostras 2 e 3.

5. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo a classificação de 20 marcas de cigarros popularmente consumidas no Brasil a partir das concentrações dos constituintes inorgânicos: Cd, Co, Cu, Pb e Ni. A determinação destes constituintes inorgânicos foi realizada em um Espectrôfometro de Absorção Atômica com Chama (FAAS), após prévia digestão ácida das amostras em forno de microondas. A classificação das marcas de cigarro foi obtidas pela aplicação de Métodos Quimiométricos de natureza multivariada como Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA).

EXPERIMENTAL

6. EXPERIMENTAL

6.1 Instrumental

Para as análises quantitativas dos constituintes inorgânicos Cd, Co, Cu, Ni e Pb, foi utilizado um Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama (FAAS) fabricado pela Perkin Elmer Instruments (Shelton, USA) modelo AAnalyst 200, equipado com chama de ar-acetileno e sistema de correção de background, A correção do sinal de fundo foi feito com fonte contínua de arco de deutério. A Tabela 1 apresenta os parâmetros analíticos do equipamento empregados, como o comprimento de onda, largura da fenda, corrente da lâmpada e faixa ótima de trabalho para as soluções padrão.

As amostras foram pesadas em uma balança eletrônica semi-analitica fabricada pela Acculab Sartorius group, modelo VIC-212. Para a digestão ácida das amostras foi utilizado um forno microondas caseiro da marca Eletrolux, modelo ME21S/ME21G.

Tabela 1. Parâmetros analíticos do FAAS para análise dos constituintes inorgânicos em cigarros.

Metal	Comprimento de onda (nm)	Fenda (nm)	Corrente da lâmpada (mA)	Faixa ótima de trabalho (mg L^{-1})
Cd	228,80	2,7/1,35	4	0,5 - 2,0
Co	240,73	1,8/1,35	30	2,0 - 10
Cu	324,75	2,7/0,8	15	1,0 – 5,0
Ni	323,00	1,8/1,35	25	1,8 – 8,0
Pb	283,31	2,7/1,05	10	0,5 – 15

6.2 Reagentes e Soluções

As soluções estoque para os constituintes inorgânicos Co, Cu e Pb a 100mg L^{-1} foram preparadas a partir dos sais, $CoCl_2$. $6H_2O$ (VETEC®), $CuSO_4.5H_2O$ P.A (LAFAN®) e $Pb(NO_3)_2$ (Rieldel-DE Haen®), respectivamente. Para os constituintes inorgânicos Cd e Ni utilizou-se Cd metálico (Merck®) e Ni em pó (Merck®). Em todas as soluções padrão foram adicionadas 1,0 mL de HNO_3. As soluções padrão secundárias foram preparadas conforme a faixa ótima de trabalho para cada metal. Tabela 1.

Foram utilizados para a digestão ácida das amostras, os reagentes, ácido nítrico 65% P.A (Dinâmica Reagentes Analíticos®) e peróxido de hidrogênio 30% (VETEC®) (RICKERT ; KAISERMAN, 1994); (TORRENCE et al., 2002); (PAPPAS et al., 2006); (ARAIN et al., 2007); (CRISPINO et al., 2007); (KAZI et al., 2008).

6.3 Materiais e Vidrarias

As vidrarias e frascos de polietileno utilizados foram lavados com água e detergente, em seguida, mergulhados em solução de HNO_3 a 5% (v/v) e, antes de serem utilizados, foram enxaguados com água ultra pura (18 MΩ cm^{-1}), obtida usando um sistema Milli-Q (HOENIG ; KERSABIEC, 1996).

6.4 Amostras de cigarro

Os constituintes inorgânicos Cd, Co, Cu, Ni e Pb foram analisados em 20 marcas de cigarros, adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de Goiânia/GO. Estas marcas de cigarro representam os tipos comuns facilmente disponíveis aos consumidores, que são cigarros convencionais (CC), cigarros com sabores e light (CS) e cigarros red (CR).

6.5 Procedimentos Analíticos

6.5.1 Digestão ácida

Um forno de microondas caseiro da marca Eletrolux, modelo ME21S/ME21G, foi utilizado para a digestão das amostras de cigarro. A digestão foi feita por via úmida, em sistema aberto. Em cada maço de cigarro contendo 20 cigarros, retirou-se aleatoriamente 5 cigarros, sendo removido o papel e o filtro de cada cigarro (NNOROM et al., 2005). Pesou-se 0,1g do tabaco em um béquer, acrescentou-se 7,5 mL de HNO_3 65 % e

tampou-se o béquer com um vidro relógio. A amostra foi submetida ao forno de microondas a uma potência de 40 W em 2 ciclos. O período de cada ciclo foi de 1 minuto, com intervalo de 5 minutos de um ciclo para o outro. Em seguida, acrescentou-se 3,5 mL de H_2O_2 30% (v/v) e, novamente a amostra foi submetida ao forno microondas a uma potência de 40 W por 1 minuto. Após o resfriamento da amostra a temperatura ambiente, a mesma foi transferida quantitativamente com um volume, aproximadamente, 0,5 mL de água ultra pura (18 MΩ cm^{-1}), para frascos de polietileno e armazenadas em geladeira. A digestão em branco também foi incluída (NNOROM et al., 2005), e todas as amostras foram digeridas em triplicata (CRISPINO et al., 2007). Na figura 9 é apresentado o fluxograma do método de digestão ácida.

6.5.2 Análises dos constituintes inorgânicos no cigarro

Após a digestão completa das amostras foram realizadas as análises dos constituintes inorgânicos Cd, Co, Cu, Pb e Ni por FAAS (RICKERT ;KAISERMAN, 1994); (MASSADEH et al., 2003); (MASSADEH et al., 2004); (NNOROM et al., 2005); (ÇİFTÇİ, H.; ÖLÇÜCÜ, 2007); (AJAB et al., 2008;). Para obtenção da curva de calibração, foram realizadas dez medidas de absorvância para cada amostra. A partir dos valores médios de absorvância, encontrou-se a concentração em mg L^{-1} e posteriormente convertidos em µg g^{-1} .

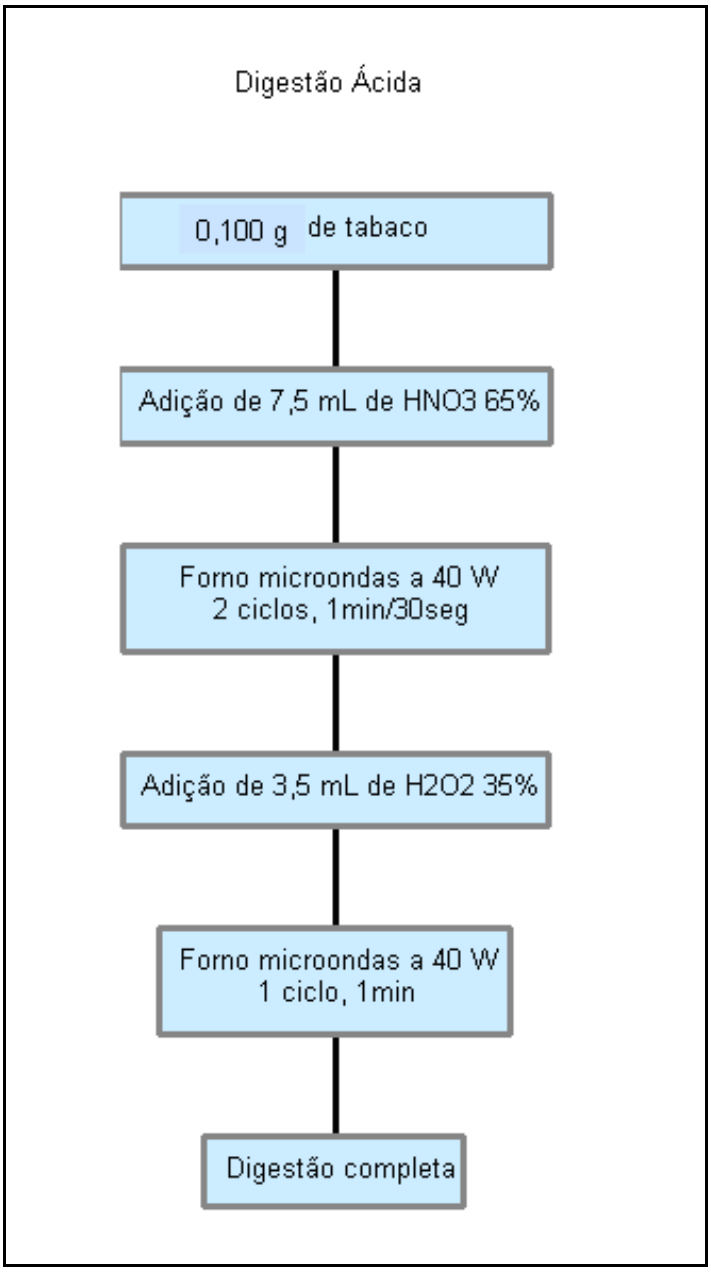

Figura 9 - Fluxograma da digestão ácida em forno de microondas para as vinte marcas de cigarro analisadas.

6.6 Métodos Quimiométricos

Após a quantificação de todos os constituintes inorgânicos nas amostras de cigarro foram aplicados os métodos quimiométricos, Análise de componentes Principais (PCA) e de Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA), utilizando os pacotes computacionais Statistica 7.0 e Minitab 15.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os resultados obtidos a partir das análises espectrofotométricas dos constituintes inorgânicos, Cd , Co, Cu, Pb, Ni, nas 20 amostras de cigarros, medidos em triplicata, construiu-se a matriz de dados 20x5, isto é, 20 marcas de cigarros que são as amostras representadas em linhas e 5 constituintes inorgânicos representadas em colunas, como apresentados a Tabela 2.

De acordo com a Tabela 2 percebe-se que os constituintes inorgânicos Cu, Pb, Co, apresentam as maiores concentrações em todas as amostras. O Ni é um elemento com conteúdo intermediário e o Cd apresenta valores inferiores a 0,66 µg g^{-1}, sendo que em algumas marcas não foi possível determinar a concentração, devido ao limite de detecção do equipamento. O desvio padrão dos resultados refletiu principalmente a variabilidade dos níveis dos constituintes inorgânicos, no qual mostrou que as concentrações desses elementos variam entre marcas e até mesmo dentro da mesma marca (CHIBA ; MASIRONI, 1991); (CRISPINO et al, 2007).

Tabela 2 Concentrações dos constituintes inorgânicos nas 20 marcas de cigarros, Média ± DV(µg g^{-1}, n=3)

Marcas de Cigarros	Constituintes inorgânicos				
	Cd	Co	Cu	Pb	Ni
CN1	0,47 ± 0,057	2,67 ± 0,577	6,33 ± 1,527	3 ± 0	0,67 ± 1,154
CN2	ND*	4,00 ± 0	8,67 ± 1,154	3,33 ± 1,527	1,33 ± 0,57
CN3	ND	3,33 ± 0,577	7,67 ± 0,577	5,67 ± 1,527	2,00 ± 1
CN4	0,60 ± 0,173	3,67 ± 0,577	9.00 ± 3	3.00 ± 1	1,33 ± 0,577
CN5	ND	3,33 ± 0,577	12.33 ± 1.527	4.67 ± 0.577	0,33 ± 0,577
CN6	0,43 ± 0,208	4,00 ± 0	8.67 ± 2.081	6.33 ± 1.154	3,33 ± 0,577
CN7	0,65 ± 0,070	3,33 ± 0,577	9.67 ± 1.154	7.33 ± 0.577	2,67 ± 1,154
CN8	ND	1,67 ± 0,577	3.33 ± 0.577	4.00 ± 0	ND
CN9	0,50 ± 0,173	2,00 ± 1	6.67 ± 0.577	4.33 ± 2.309	1,33 ± 0,577
CS1	0,30 ± 0	4,00 ± 1	7,67 ± 1,154	3,00 ± 1,732	2,33 ± 1,154
CS2	ND	3,67 ± 0,577	5,67 ± 1,154	3,33 ± 0,57	ND
CS3	ND	3,33 ± 0,577	6,67 ± 1,524	5,00 ± 2	ND
CS4	0,40 ± 0,173	4,33 ± 0,577	5,67 ± 0,577	7,33 ± 0,577	2,67 ± 1,154
CS5	ND	3,33 ± 0,577	5,33 ± 1,524	4,33 ± 0,577	1 ± 0
CS6	ND	2,67 ± 0,577	7.00 ± 1.732	4.00 ± 0	ND
CR1	0,20 ± 0	4,00 ± 0	7,67 ± 1,154	2,67 ± 0,577	2,00 ± 1,732
CR2	0,30 ± 0.1	4,33 ± 0,577	8,33 ± 1,527	6,33 ± 3,055	2,00 ± 0
CR3	0,66 ± 0,404	4,33 ± 0,577	6,33 ± 1,524	6,33 ± 0,577	3,67 ± 0,577
CR4	0,30 ± 0,173	3,33 ± 0,577	6.33 ± 0.577	5.00 ± 1	1 ± 0
CR5	ND	3,00 ± 0	8.33 ± 2.081	4.67 ± 0.577	1,67 ± 0,577

ND* (não determinado)

Os dados da literatura indicam principalmente que Cd e Pb, os constituintes inorgânicos mais prejudiciais à saúde, possuem uma ampla faixa de concentração. LUGON-MOULIN et al. (2005) observou que, a concentração de Cd nas folhas de tabaco produzidas em varias áreas do mundo, variam de zero até 6,78 µg g^{-1}. No caso do Pb, de acordo com MASSADEH et al. (2004) e GALAZYN-SIDORCZUK et al. (2007) as concentrações variam de 0,46 a 43,66 µg g^{-1}. As concentrações de ambos constituintes inorgânicos analisados nas marcas de cigarro neste trabalho, estão de acordo com a faixa de concentração da literatura.

As variações de concentração dos constituintes inorgânicos no cigarro estão relacionadas à origem geográfica, pois estudos mostram (SCHWARTZ ; HECKING, 1991); (ANDERSON et al., 1999); (LUGON-MOULIN et al., 2005), que fatores ambientais de cada região interferem na absorção desses constituintes inorgânicos na planta do tabaco, principalmente pelo solo contaminado (ADAMU et al., 1989); (MULCHI et al., 1992) e o pH do solo (MULCHI et al., 1992).

PAPPAS et al. (2006) afirma que, o solo é contaminado pela utilização de grandes quantidades de fertilizantes, herbicidas e pesticidas, utilizados no cultivo do tabaco. No entanto, apesar das diferenças geográficas, os resultados encontrados neste trabalho estão em conformidade com os de Ajab *et al*. (2008), que analisou marcas de cigarro local e importada no Paquistão.

7.1 Análises de Componentes Principais (PCA)

A PCA foi aplicada à matriz de 5 parâmetros analíticos para 20 amostras. O resultado da projeção da PCA a partir dos dados originais em cinco dimensões espaciais dentro do plano das duas primeiras componentes principais, explica 69,34% da variância total, Tabela 3.

Tabela 3 Pesos para três PCs e variância total na matriz de dados 20x5

Váriaveis	Componente		
	PC1	PC2	PC3
Cd	0,48	-0,34	-0,55
Co	0,43	0,41	0,05
Cu	0,25	0,79	0,09
Pb	0,42	-021	0,81
Ni	0,58	-0,20	0,13
Variância explicada	48,72	20,62	13,91
Variância acumulada	48,72	69,34	83,25

Na Tabela 3 são apresentados os valores de pesos para as três PCs e a variância total na matriz de dados 20x5, ou seja, 20 marcas de cigarro e 5 variáveis. A PC1 descreve 48,72% da variância no conjunto de dados, e tem pesos positivos para todos os constituintes inorgânicos, sendo a variável Ni com o maior valor (variável dominante). Por outro lado, a PC2 representa 20,62% da informação original, com pesos negativos para Cd, Pb e Ni, e pesos positivos para

Co e Cu, sendo o Cu com maior valor (variável dominante). Já a PC3 tem 13,91% da variância total e descreve as informações de Pb. Estas três PCs juntas representam 83,25% da variância total dos dados.

As correlações entre as variáveis estão apresentadas na Tabela 4. O coeficiente de correlação (*r),* de uma forma geral, varia de 0,13 a 1.

Quando (*r)* é próximo de zero descreve uma relação aleatória ou inexistente, como se observa nos pares Cd-Cu (0,14), Cu-Pb (0,13) e Cu-Ni (0,16), todavia, quando (*r)* for igual a 1, descreve um relacionamento onde um aumento de uma variável é acompanhado por um aumento consistente e previsível no outro. Dessa forma quando o coeficiente de correlação for mais próximo de 1, a medida de associação linear entre duas variáveis é maior, como se observa nos pares Cd-Ni (0,72), Co-Ni (0,53) e Pb-Ni (0,52), que também foi verificado utiliando o teste t de Student ao nível de significância de 5% com 18 graus de liberdade (DEVORE, 2006).

Tabela 4 – Correlação entre as variáveis

	Cd	Co	Cu	Pb	Ni
Cd	1,00				
Co	0,23	1,00			
Cu	0,14	0,32	1,00		
Pb	0,32	0,26	0,13	1,00	
Ni	0,72	0,53	0,16	0,53	1,00

Na Figura 10 está apresentado à projeção das 20 marcas de cigarros e as cinco variáveis analisadas, Cd, Co, Cu, Ni e Pb nos planos da PC1 e PC2 (biplot), onde foi observado a formação de quatro classes distintas.

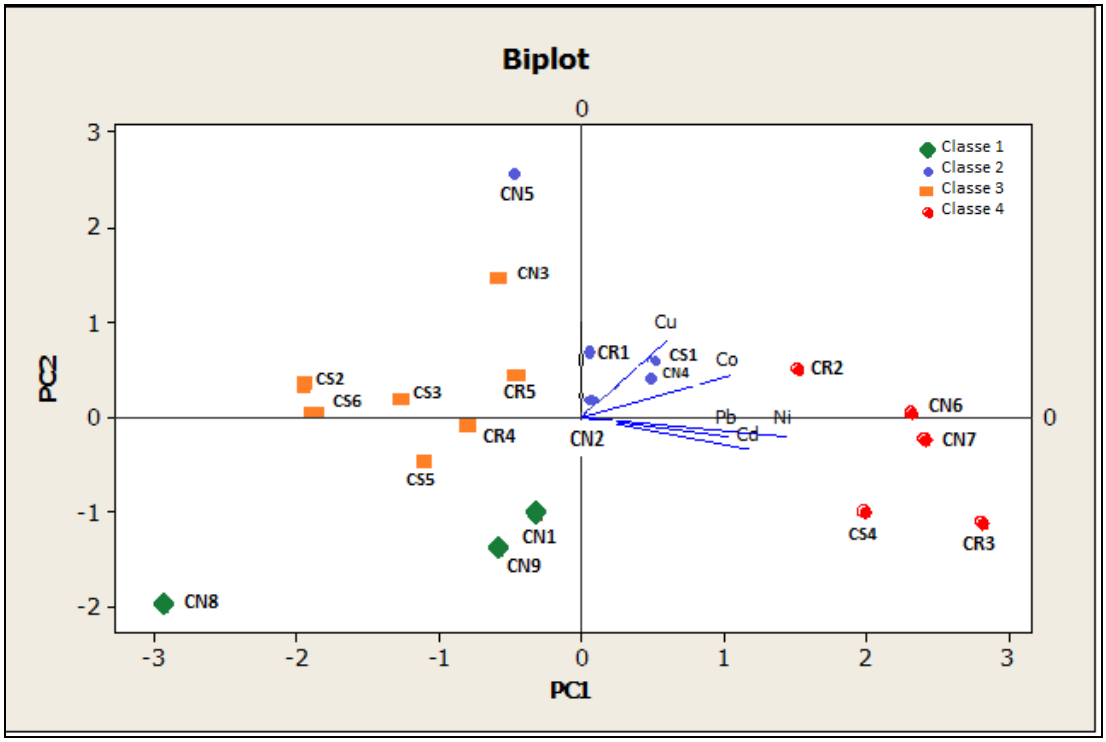

Figura 10 – Projeção das 20 marcas de cigarros e as cinco variáveis analisadas, Cd, Co, Cu, Ni e Pb nos planos da PC1 x PC2.

De acordo com a figura 10, a primeira componente principal, PC1, foi responsável pela separação das classes 2, 3 e 4. A classe 2 é definida pelas marcas de cigarro que apresentam em média, maior quantidade de cobre. A marca CN5 está distante da classe a que pertence, por possuir uma quantidade bem superior de cobre em relação as outras marcas. De acordo com MASSADEH et al. (2003) 0,2% da concentração do cobre no cigarro é transferida para a fumaça e conseqüentemente para o fumante.

A classe 3 tem como característica a baixa concentração de todos os constituintes inorgânicos, quando comparado as outras classes, já a classe 4

apresenta as amostras com maior quantidade dos constituintes inorgânicos, com exceção do cobre.

A segunda componente principal, PC2, separa a classes 1 das demais classes . A classe 1 é caracterizada pelas marcas de cigarro que contém em média, grande quantidade de Cd. Segundo GALAZYN-SIDORCZUK et al. (2007) observou que, 30% do Cd presente no cigarro, durante a queima do tabaco é absorvido pelo fumante. E o pesquisador NNROM et al. (2005) estimou que, para uma pessoa que fuma 20 cigarros por dia, há um aumento na retenção da concentração de Cd no organismo, por aproximadamente 1 µg /dia.

Pela PCA foi possível verificar a separação apenas da classe 1 com o mesmo tipo de cigarro, já nas outras classes observar-se que as concentrações dos constituintes inorgânicos no cigarro são independentes do tipo do cigarro, ou seja, cigarros do tipo convencional, com sabores ou ligth e red não possuem necessariamente as mesmas porcentagens de constituintes inorgânicos Cd, Co, Cu, Pb e Ni. Isto deve ao fato que não foi verificado a formação de classes exclusivamente com apenas um tipo de cigarro, por exemplo, na classe 4 apresentou os quatros tipos de cigarros analisados. No entanto, CRISPINO *et al*. (2007), observou a formação de 3 classes conforme o tipo de cigarro, separando cigarros do tipo light, com sabores e convencionais, porém foram analisados os constituintes inorgânicos Ca, Cu, K, Na, e Sr.

Analisando as 4 classes formadas através da PCA, em relação à toxicidade das marcas de cigarro, pode-se atribuir à classe 4, no qual apresenta as marcas de cigarros, em geral, mais baratas como a mais tóxica, por ter em média, maior

concentração de todos os constituintes inorgânicos, quando comparada as outras classes. Em ordem decrescente de toxicidade, tem-se a classe 1, por apresentar em média maior concentração de Cd; a classe 2, que tem a maior concentração de Cu, e por último a classe 3 que é a menos tóxica, em relação as outras classes. Uma particularidade relevante de afirmar em que os cigarros do tipo light no qual representam cigarros de baixos teores, em relação a concentração de nicotina e alcatrão, que tem sido divulgado como sendo menos nocivo a saúde humana, não é uma indicação de baixa concentração de constituintes inorgânicos potencialmente tóxicos. Portanto, é uma designação equivocada da crença popular.

De acordo com dados da literatura é importante ressaltar que, os constituintes inorgânicos presentes no cigarro são transferidos para a fumaça, que além de prejudicar o fumante, prejudica as pessoas que estão mais próximas, conhecidos como fumantes passivos. Este é uma importante razão pela qual tornou-se o tabagismo passivo uma preocupação para saúde.

6.3 - Análises Hierárquica de Agrupamentos (HCA)

A HCA complementa a PCA, sendo outra forma de visualizar as semelhanças e diferenças entre as marcas de cigarro analisadas, de acordo com as concentrações dos constituintes inorgânicos Cd, Co, Cu, Ni e Pb. O dendrograma da HCA, figura 11, foi obtido pelo cálculo da distância euclidiana entre as amostras e agrupado pelo método de Ward's.

De acordo com o dendrograma da figura 11, verifica-se a existência de 4 classes distintas, que são correspondentes as mesmas classes formadas pelas 2 componentes principais (PCA), evidenciando a importância de aplicar estes dois tipos de análises quimiometricas em conjunto, para a melhor interpretação dos resultados.

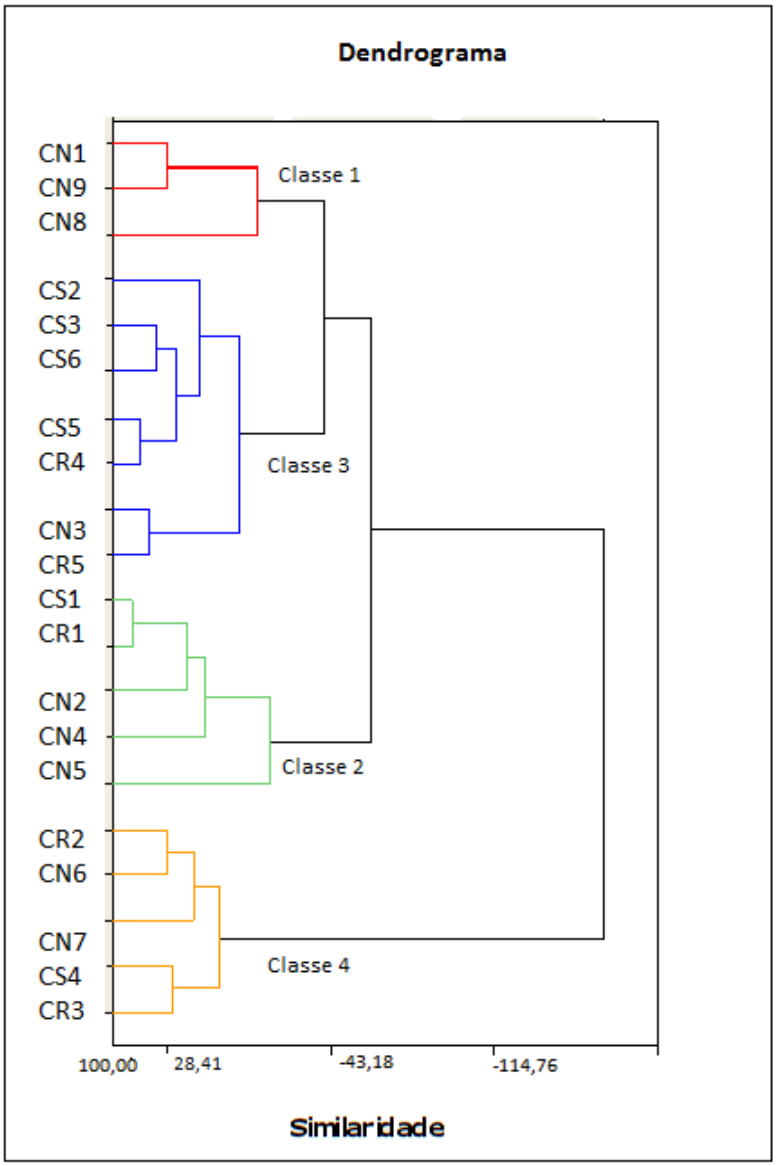

Figura 11 – Dendrograma da HCA dos resultados obtidos para classificação das 20 marcas de cigarro analisadas.

CONCLUSÃO

8. CONCLUSÃO

No presente trabalho foi possível concluir que nas 20 marcas de cigarros analisadas, no qual correspondem os tipos comuns facilmente disponíveis aos consumidores, são fontes de constituintes inorgânicos potencialmente tóxicos, Cd, Co, Cu, Ni e Pb, que contribuem negativamente para a saúde.

As concentrações dos constituintes inorgânicos nos cigarros demonstraram que as marcas mais baratas, em geral, são as mais tóxicas.

Com relação aos Métodos Quimiómetricos, PCA e HCA, estes se mostraram eficazes para a classificação de amostras de cigarros considerando-se os dados analisados. Portanto, a técnica analítica de FAAS juntamente com a análise quimiométrica podem ser utilizadas para avaliar as concentrações dos constituintes inorgânicos potencialmente tóxicos de amostras de cigarro e sua classificação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMU, C, A.; et al. Residual metal levels in soils and leaf accumulations in tobacco a decade following farland application of municipal sludge**. Environ. Pollut**, v. 56, p. 113-126, 1989.

AJAB, H.; et al. Evaluation of trace metals in tobacco of local and imported cigarette brands used in Pakistan by spectrophotometer through microwave digestion. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 33, n.4. p. 415-420, 2008.

ALVARADO, J; CRISTIANO, A R. Determination of Cadmium, Cobalt, Iron, Nickel and Lead in Venezuelan Cigarettes by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 8, p. 253-259, 1993.

ANDERSON, K, A.; et al. Determinig the geographical origin of potatoes with trace metal analysis using statistical and neural network classifiers. **Journal Agric. Food Chem,** v. 47, p. 1568-1575, 1999.

ANDRADE, M.F**. Análise de Cluster**. Universidade de São Paulo. Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciência Atmosféricas. Aula 36. 8 f. 22 de junho de 2007. Disponível em www.dca.iag.usp.br/www/material/mftandra/material/aca366/analisecluster.pdf. Acessado em março de 2009**.**

ARAIN, M,B.; et al. Hazardous impact of toxic metals on tobacco leaves grown in contaminated soil by ultrasonic assisted pseudo-digestion: Multivariate study. **Journal Hazardous Materials**, v. 155, p. 216-224, 2007.

BOECK, M.; KIRSCH-VOLDERS, M.; LISON, D. Cobalt and antimony: genotoxicity and carcinogenicity. **Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 548, p. 127-12814, 2004.

BORIN, A. **Aplicação de quimiometria e Espectroscopia no Infravermelho no controle de Qualidade de Lubrificantes**. 2003. 104p. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2003.

CARVALHO, M C. **O cigarro**. São Paulo, PubliFolha, 2001. 88 p.

CASSARET, A., DOULL'S, D. **Toxicology: The Basic Science of Poisons**. 4.ed. New York , McGraw-Hill, 1991. 1111p.

CAVALCANTE, T, M.; Tobacco control in Brazil: Advances and challenges. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 23, n. 5, 2005.

CHANG, M, J.; et al. Impaction collection and slurry sampling for the determination of arsenic, cadmium, and lead in sidestream cigarette smoke by Inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Journal Environ. Monit,** v. 7, p. 1349-1354, 2005.

CHIBA, M.; MASIRONI, R. **Toxic and trace elements in tobacco**. Geneva; World Health Organization; 1991. 31 p.

CHRISTIAN, G.D.; O'REILLY. **Instrumetal Analysis**, Allyn and Bacon, Inc., 2 ed., Singapore, 1986, p. 278-311.

ÇİFTÇİ, H.; ÖLÇÜCÜ, A. Determination of Iron, Copper, Cadmium and Zinc in Some Cigarette Brands in Turkey. **International Journal of Science & Technology**, v. 2, n. 1, p. 29-32, 2007.

COSTA E SILVA, V. L. Tabagismo, um problema de saúde pública no Brasil. **Jornal brasileiro de Medicina**, Rio de Janeiro, 1990. v. 59, p.14 – 16.

CRISPINO, C.C.; et al. Multivariate Classification of Cigarettes According to Their Elemental Content Determination by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Analytical Sciences**, v. 23, 2007.

DEVORE, J.L. **Probabilidade e Estatística: para Engenharia e Ciências.** Tradução de Joaquim Pinheiro Nunes da Silva. 6.ed. São Paulo, Pioneira Thomson Learning, 2006. 692 p.

FERREIRA, M, C.; et al. Quimiometria I: Calibração Multivariada, Um Tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 724-731, 1999.

FREEMAN, D; BRUCKS, M; WALLENDORF, M; BOLAND, W. Youths' understandings of cigarette advertisements. **Addictive Behaviors,** v. 34, p. 36-42, 2008.

GALAZYN-SIDORCZUK, M.; et al. Estimation of Polish cigarettes contamination with cadmium and lead, and exposure to these metals via smoking**. Eviron. Monit. Assess**, v. 137, p. 481-493, 2007.

GIUST, A, L. Interferencia do Taboco no sistema Imunitário - estado atual e pespectivas - Revisão da Literatura. **ConScientiae Saúde**, v. 6, n.1, p. 155-163, 2007.

HAIR, J F; ROLPH, A; TATHAM, R L; WILLIAM, B C. **Analise Multivariada de Dados.** Tradução de Adonai Schlup Sant' Anna e Anselmo Chaves Neto. 5.ed. Porto Alegre, Bookman, 2005. 579 p.

HOENING, M.; KERSABIEC, A,M. Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present satus**. Sprectrochimica Acta Part B**, v. 51, p. 1297-1307, 1996.

ISNTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Disponível em: <www.inca.gov.br> Acessado em 15 maio 2008.

KAZI, T, G.; et al. Toxic metals distribution in different components of Pakistani and imported cigarettes by electrothermal atomic absorption spectrometer. **Journal Hazardous Materials**, 2008.

LEITE, A. O tabagismo e a boca**. Rev. Ass. Paul. cirug. dent**., v. 55, n.1, p.7-14, 2001.

LUGON-MOULIN, N.; et al. Critical review of the science and opitions for reducing cadmium in tobacco (*Nicotiana tabacum L*) and other plant. **Adv.Agron**, v. 83, p.111-118, 2004.

LUGON-MOULIN, N.; et al. Cadmium concentration in tobacco (*Nicotiana tabacum L.*) from different countries and its relationship with other elements. **Chemosphere**, v. 63, p. 1074-1086, 2005.

MASSADEH, A.; et al. Determination of copper and zinco in different brands of cigarettes in Jordan**. Acta Chim Slov**, v. 50, p. 375-381, 2003.

MASSADEH, A.; et al. Determination of cadmium and lead in different brands of cigarettes in Jordan. **Acta Chim Slov**, v. 104, p. 163-170, 2004.

MATOS, G, D.; et al. Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens. **Revista Analytica,** n. 6, p. 38-50, 2003.

MENDHAM, J.; DENNEY, R.C.; BARNES, J.D.; THOMAS, M. Vogel Análise Quimica Quantitativa. Trad. De Júlio Carlos Afonso; Paula Fernandes de Aguiar; Ricardo Bicca de Alencastro. 6. ed. LTC, Rio de Janeiro, 2002, p. 325-343.

MILAGRES, J A S. **Fumar pra quê, Meninas e Meninos**. Rio de Janeiro, capitulo 16, livro disponível em: < www.cigarro.med.br>. Acessado em 23 abril. 2008

MINGOTI, Sueli A. **Analise de Dados Através de Métodos de Estatística Multivariada.** Minas Gerais: Editora UFMG, 2005. 204 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Disponível em : <http://portal.saude.gov.br/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21806> Acessado em 15 maio de 2008

MOITA NETO, J C; MOITA Graziela C. Uma introduçao à análise exploratória de dados multivariados. **Química Nova,** São Paulo, v. 21, n. 4, p. 467-469, 1997.

MOREIRA, F, R.; MOREIRA, J, C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Rev Panam Salud Publica**, v. 15 n. 2, p.119–29. 2004.

MULCHI, C,L.; et al. Residual heavy metal levels in sludge amended coastal plain soil- II.Predicting metal levels in tobacco from soil test information. **Soil Sci. Plant Anal**, v. 23, p. 1053-1067, 1992.

NADA, A.; et al. Heavy metals and rare earth elements source-sink in some Egyptian cigarettes as determined by neutron activation analysis. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 5, p. 131-136, 1999.

NAVAS-ACIEN, A.; et al. Lead, Cadmium, Smoking, and Increased Risk of Peripheral Arterial Disease. **Journal of American Heart Association**, p. 3196-3201, 2004.

NETO, B B; SCARMINIO, I S; BRUNS, R E. 25 anos de Quimiometria. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1401-1406, 2006.

NETO, W B.; **Aplicação de Métodos de Reconhecimento de Padrões para Classificação de Óleos vegetais**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, 2001.

NNOROM, I, C.; et al. Cadmium determination in cigarettes available in Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, p. 1128-1132, 2005.

OTTO, M. Chemometrics: statistics and computer application in analytica chemistry. New York: Chichester;Brisbane; Singapore; Toronto; Wiley-vch, 1999. 314p.

PAPPAS, R S; POLZIN, G M; WATSON, C H; ASHLEY, D L. Cadmium, lead, and thallium in mainstream tobacco smoke particulate **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p.714-723, 2005.

PAPPAS, R S; POLZIN, G M; WATSON, C H; ASHLEY, D L. Cadmium, lead and thallium in smoke particulate from counterfeit cigarettes compared to authentic US brands. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 202-209, 2006.

PARREIRA, T F. **Utilização de Métodos quimiométricos em dados de natureza multivariada**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade Federal de Campinas, 2003

RICKERT, W,S.; KAISERMAN, M, J. Level of Lead, Cadmium, and Mercury in Canadian Cigarette Tobacco as Indicators of Environmental Change: Results from a 21-Year Study (1968-1988). **Environ. Sci. Technol***,* v. 28, n. 5, p. 924-927, 1994.

ROUTH, H,B.; et al. Historical aspects of tabacco use and smoking**. Clinic. Dermatolo**, v. 16, n. 5, p. 539-544, 1998.

SARGENTELLI, V.; et al. Aspecto do metabolismo no cobre no homem. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 290-293, 1995.

SCHWARTZ, R.S.; HECKING L. T. Determination of geographic origin of agricultural products by multivariate analysis of trace metal composition. **Journal Anal.At. Spectrom**, v. 6, p. 637-642, 1991.

SHAIKH, A, N.; et al. Characterization of Indian cigarette tobacco and its smoke aerosol by nuclear and allied techniques. **Journal of Radionalytical and Nuclear Chemistry**, v. 253, n.2, p. 231-234, 2002.

SISMAN, A, Z.; et al. Cadmium exposure in tobacco workers: possible renal effects. **Journal Trace Elem. Med. Biol.** v. 17, n. 1, p. 51-57, 2003.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. Saunders College Publishing, 7. ed., USA, 1996, p.497-556; 611-636.

SLEZAKOVA, K.; et al. Influence of tobacco smoke on the elemental composition of indoor particles of different sizes. **Atmospheric Environment,** v. 43, p. 486–493, 2009.

SOHN, S.; et al. Effect of tobacco compounds on gene expression profiles in human epithelial cells**. Environmental toxicology and Pharmacology**, v. 25, p. 111-119, 2009.

SOTIROPOULO, A; GIKAS, A; SPANOU E; DIMITRELOS D, KARALOSTAS F; SKLIROS E; APOSTOLOU O; POLITAKIS P; PAPPAS S. Smoking habits and associated factors among Greek physicians. **Journal of the Royal Institute of Public Health**, v. 121, p. 333-340, 2007.

SUGITA, M.; et al. Cadmium absorption from smoking cigarettes: calculation using recent finding from Japan. **Health and Preventive Medicine**, v. 6, p. 154-159, 2001.

TAYLOR, L.R.; PAPP, R.B.; POLLARD, B.D. **Instrumental methods for determining elements**. VCH Publishers, Inc., New York, 1994, p.19-21.

TORRENCE, K,M.; et al. Slurry sampling for the determination of arsenic, cadmium, and lead in mainstream cigarette smoke condensate by graphite furnace–atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma–mass spectrometry. **Anal Bional Chem**, p. 723-731, 2002.

WAGNER, G,J**.;** Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. **Adv-agron**. San Diego, Calif. : Academic Press. v. 51 p. 173-212. 1993.

WHO (World Health Organization). Tobacco Health: A Global Status Peport, Geneva. International Agency of Research on Cancer (IARC):1986. Tobacco Smoding, IARC Monograph 38, International Agency of Research on Cancer, Lyon, France, 1997.

WHO: The World Health Report 2002-reducing risks, promoting healthy life (Geneva, Switzerland: WHO)

WOLD, S.; SJOSTROM, M. Chemometrics, present and future success. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 44, p.3–14, 1998.

ZHANG, C.; et al. Determination fo cadmium, zinc, nickel and cobalt in tobacco by reversed-phase high-perfomace liquid chromatography with 2-(8-quinolylazo)-4,5-diphenylimidazole as a chelating reagent. **Analytical Sciences,** v. 21, p. 1105-1110, 2005.

ZULFIQAR, S.; et al. Metal distribuition in Pakistani and foreign brands of cigarette tabacco. **Envrionmetal Contamination Toxicology**, v. 77, p. 671-678, 2006.