UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-graduação em
Toxicologia

DETERMINAÇÃO DE METAIS NO TABACO DE CIGARROS
COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE SÃO PAULO E EM
AMOSTRAS DE URINA DE FUMANTES

OVANDIR ALVES SILVA

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Dr. ESTER DE CAMARGO
FONSECA MORAES

São Paulo
1985

À Profa. Dra.
Ester de Camargo Fonseca Moraes,
orientadora deste trabalho,
minha profunda gratidão.

A Vera,
esposa e companheira
de todos os momentos.
A meus Pais.

AGRADECIMENTOS

- À *Rosemary Custódio Pedroso*, cujo apoio foi decisivo para a realização desse trabalho;
- Ao A. *Flávio Midio*, acima de tudo o amigo de sempre;
- À *Zilda N. R. Baptista*, pela colaboração no estudo estatístico dos resultados;
- Ao *Koiti Tsuchida*, pelo apoio e valiosas sugestões;
- À *Elenice Santa*, pela boa vontade e eficiência no trabalho de datilografia;
- Ao *Félix J.J. Van Deursen*, pelo incentivo;
- À *Ivana do Carmo Perez*, pela colaboração técnica.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO E PLANO DE TRABALHO	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1. Padronização das condições de operação do espectro- fotômetro de fluorescência atômica para determinação de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn	5
3.1.1. Material	5
3.1.1.1. Reagentes	5
3.1.1.2. Aparelho	5
3.1.2. Método	6
3.1.2.1. Escolha das condições de trabalho para a determinação simultânea dos metais...	6
3.1.2.2. Estudo preliminar da interferência do NaCl	6
3.2. Padronização das técnicas de concentração dos metais estudados em amostras orgânicas	6
3.2.1. Material	6
3.2.1.1. Amostras	6
3.2.1.2. Reagentes	7
3.2.1.3. Aparelho	7
3.2.2. Método	7
3.2.2.1. Preparo da amostra de tabaco para a de- terminação dos metais selecionados	7
3.2.2.2. Escolha de técnica para a análise dos metais em amostras de urina	8

3.3. Determinação de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn em amostras de tabaco de cigarros provenientes do comércio varejista de São Paulo	9
3.3.1. Material	9
3.3.2. Método	9
3.4. Determinação de Cd, Mn e Zn em amostras de urina de fumantes de cigarros comercializados em São Paulo..	10
3.4.1. Material	10
3.4.1.1. Amostras	10
3.4.1.2. Reagentes	10
3.4.1.3. Aparelho	11
3.4.2. Método	11
3.5. Estudo estatístico dos resultados	12
4. Resultados	13
4.1. Padronização das condições de operação do espectrômetro de fluorescência atômica para determinação de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn	13
4.2. Padronização das técnicas de concentração dos metais estudados em amostras orgânicas	13
4.3. Determinação de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn em amostras de tabaco de cigarros	15
4.4. Determinação de Cd, Mn e Zn em amostras de urina de fumantes	15
4.5. Estudo estatístico dos resultados	28
5. Discussão	40

6. Conclusões	60
7. Referências Bibliográficas	63

┌ No Brasil existem aproximadamente 24 milhões de fumantes que consomem cerca de 130 bilhões de cigarros por ano⁵. Calcula-se que morram no mínimo 100 mil pessoas, anualmente, vítimas do uso do tabaco⁷¹.

Apesar desses dados alarmantes o número de fumantes tem aumentado progressivamente. A projeção do consumo para o ano de 1985 é de 137 bilhões de cigarros. Se para a indústria fumageira e para os órgãos arrecadadores de impostos esse fato é extremamente vantajoso, não o é, porém, para a manutenção da saúde. O tabagismo representa um dos graves problemas de poluição ambiental, criado por decisão pessoal de milhões de indivíduos⁵⁵. Porém, como a fumaça do cigarro constitui um contaminante cuja emissão pode ser evitada, ela não costuma ser considerada como matéria de saúde ambiental. Hoje, entretanto, a atenção tem sido despertada para a inalação involuntária a que se submetem as pessoas obrigadas a respirar o ar poluído deixado pelos fumantes. Daí os dispositivos legais que introduzem a proibição de fumar em muitos lugares públicos, principalmente onde haja possibilidade de concentração dos contaminantes emitidos pela queima do cigarro.

Segundo ANGENOT⁴, a fumaça do cigarro, resultante da combustão incompleta do tabaco, é constituída por uma mistura heterogênea que contém mais de 1200 substâncias.

┌ A composição química da fumaça depende do tipo de tabaco, da ventilação, da filtração e da maneira de fumar. Os constituintes do tabaco variam de acordo com o potencial genético da planta, com a qualidade do solo e com as condições de cultivo. O uso de praguicidas, principalmente fungicidas, na fumicultura e o emprego de aditivos para alterar o sabor, aroma e consistência do produto na fase de industrialização, são fatores que exer

tem influência na composição química final do cigarro²⁰.

A fumaça do tabaco é formada por duas fases: uma gasosa e outra particulada. As substâncias se distribuem nessas fases segundo suas propriedades físico-químicas. É conhecida como "corrente secundária" a fumaça que se evola da ponta do cigarro fumegante; esta, comparada com a inspirada pelo tabagista nas tragadas, contém, segundo ROSEMBERG⁷¹, cinco vezes mais CO, três vezes mais nicotina e alcatrão, quatro vezes mais benzopireno e quarenta e seis vezes mais amônia.

Os metais têm sido detectados na fase particulada do tabaco, tanto na corrente principal, inalada pelo tabagista, como na secundária, que atinge o fumante passivo. De acordo com FALK³¹, os principais íons metálicos presentes na fase particulada são: ferro, zinco, cádmio, níquel, chumbo, mercúrio e antimônio.

O tabagismo pode dobrar o teor de cádmio em material biológico, principalmente onde a exposição, via alimentos, não é elevada^{1, 35, 42}. Mesmo no caso de ingestão de alimentos contaminados com alto teor desse metal, o hábito de fumar pode constituir o fator de maior influência no estabelecimento do nível de concentração de cádmio no sangue⁷⁴.

Entretanto, pouco se conhece quanto à real correspondência dos teores de metais no tabaco, com as respectivas concentrações na urina de fumantes.

Os trabalhos de publicação recente, referentes aos teores de metais no sangue e na urina, para controle de exposição ambiental, têm mostrado a influência do tabagismo nesses valores, pela comparação dos resultados entre fumantes e não fumantes^{13, 25, 26, 28, 36, 40, 45, 46, 61, 72, 74, 80}. Assim, de

acordo com MULLER⁶², em regiões de alta concentração de cádmio, este é encontrado no tabaco em níveis dez vezes maiores que a do solo de plantio do fumo.

Um cuidadoso levantamento bibliográfico foi feito no sentido de se obter dados que possibilitassem correlacionar os teores de íons metálicos, com a concentração desses mesmos metais na urina de tabagistas. Todavia, nos trabalhos a que tivemos acesso, essa não foi preocupação dos pesquisadores; em nenhum deles foram analisadas, ao mesmo tempo, as amostras de urina e de tabaco consumido. Dois, provavelmente, foram os motivos dessa falta de informação:

1. a limitação oferecida pelos métodos de análise usuais para determinações simultâneas de traços de metais em amostras de tabaco e de urina, quer quanto à sensibilidade exigida como quanto ao dispêndio de tempo e custo para realização;

2. a dificuldade em controlar o grau de exposição do fumante, pois esta depende, além do número e frequência dos cigarros fumados, da duração e do tipo de tragada.

Foi justamente devido à possibilidade de utilizar a espectrometria de fluorescência atômica, técnica de recente introdução para análise simultânea de metais em amostras industriais, que nos animou a perspectiva de verificar a viabilidade de adaptá-la para análise de urina de fumantes e do tabaco comercializado na região, na tentativa de verificar a possível correlação entre os teores encontrados.

2 - OBJETIVO E PLANO DE TRABALHO

Já está bem estabelecido que o tabaco pode constituir um veículo para a introdução de substâncias nocivas no organismo. Muitos trabalhos já foram realizados no sentido de verificar a presença de constituintes orgânicos, do tabaco ou seus produtos de biotransformação, em amostras de material biológico. Porém, quanto aos compostos inorgânicos, muitas vezes presentes no tabaco, apenas sob forma de traços as informações ainda são escassas. Vários pesquisadores já verificaram que os teores de metais são maiores em amostras provenientes de fumantes que nas de não fumantes; porém, pouco ou nada é conhecido quanto à eventual equivalência dessas concentrações.

O objetivo do presente trabalho foi correlacionar os teores de íons metálicos presentes em amostras do tabaco fumado, com os de amostras de urina dos fumantes. Para tal, foi elaborado o seguinte plano de trabalho:

- adaptar a técnica de espectrometria de fluorescência atômica para análise de metais em amostras de tabaco e de urina;
- determinar os teores de metais em amostras de marcas de cigarro mais consumidas na região;
- determinar os teores desses mesmos metais em amostras de urina de fumantes e não fumantes;
- avaliar a correlação dos resultados obtidos.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Padronização das condições de operação do espectrômetro de fluorescência atômica para determinação de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn

3.1.1. Material

3.1.1.1. Reagentes

- soluções-padrão de Cd^{++} , Cr^{+++} , Fe^{+++} , Mn^{++} e Zn^{++} , 10 mg/L, TITRISOL[®] em HNO_3 0,1% .
- argônio industrial
- gás liquefeito de petróleo (GLP)
- oxigênio medicinal
- NaCl

3.1.1.2. Aparelho

- espectrômetro de fluorescência atômica (PLASMA/AFS-BAIRD CORP.), equipado com módulos específicos para determinação de cádmio, cromo, ferro, manganês e zinco, ajustado nas seguintes condições^δ:

elemento	rádio-freqüência (W)	corrente da lâmpada (mA)	região de leitura no plasma * (nm)	comprimentos de onda (nm)
cádmio	400-500	6,3	125-140	228,8
cromo	400-600	19,8	95-110	357,9-359,4-360,5
ferro	450-600	18,2	115-130	248,3-248,8-249,1
manganês	400-500	18,2	130-140	279,5-279,8-280,1
zinco	400-500	11,1	125-140	213,9

* altura calculada a partir da extremidade do tubo central

fluxo de gases: arraste (argônio) 1,2 mL/min.

resfriamento (argônio) 10 L/min.

reduzidor (GLP)

fluxo de aspiração da amostra: 1,2 mL/min.

3.1.2. Método

3.1.2.1. Escolha das condições de trabalho para a deter minação simultânea dos metais

O espectrômetro de fluorescência atômica foi pro
gramado em "TEST EXERCISE" e as soluções-padrão foram submetidas
sucessivamente às condições ajustadas em 3.1.1.2, no sentido de
se verificar a resposta analítica do aparelho. Com a finalidade
de se obter as condições ótimas de trabalho foram processadas va
riações na potência da radiofrequência e na intensidade da corren
te das lâmpadas de cátodo oco de cada elemento.

Foi verificada a influência da presença de gás re
dutor na tocha ou plasma. Para tanto, foram feitas leituras das
soluções-padrão, com e sem a introdução do gás redutor (GLP).

3.1.2.2. Estudo preliminar da interferência do NaCl

Foi adicionado cloreto de sódio à mistura de solu
ções-padrão dos metais até se obter a concentração de 480 mg/L do
sal. Alíquotas da solução resultante foram submetidas à análise no
espectrômetro nas condições selecionadas em 3.1.2.1.

3.2. Padronização das técnicas de concentração dos metais em amos tras orgânicas

3.2.1. Material

3.2.1.1. Amostras

- tabaco proveniente de cigarro comercializado em
São Paulo
- urina de voluntário não fumante

3.2.1.2. Reagentes

- solução-padrão de Cd^{++} , Cr^{+++} , Fe^{+++} , Mn^{++} e Zn^{++} 10 mg/L, TRITISOL® em HNO_3 0,1%
- solução de pirrolidinaditiocarbamato de amônio (PDCA) 5%
- HCl
- HNO_3
- NaOH 20%
- ciclohexanona
- cloreto de metileno
- clorofórmio
- metilisobutilcetona
- xileno

3.2.1.3. Aparelho

- Foram modificadas para a análise de amostras de tabaco e de urina as seguintes condições iniciais de operação do espectrômetro:

potência da radiofrequência

460 W (tabaco)

420 W (urina)

- intensidade da corrente aplicada na lâmpada de Cd 9,5 mA
- nas leituras da fase orgânica (urina) não foi usado o GLP, sendo introduzido oxigênio.

3.2.2. Método

3.2.2.1. Preparo da amostra de tabaco para a determina ção dos metais selecionados

A partir das recomendações de ELINDER et al²⁷, MULLER⁶², BLANUSA

& BRESKI¹², as amostras foram calcinadas em bequer de vidro boro silicato, sendo submetidas a elevação lenta e gradual da temperatura, até a obtenção de cinza clara. Esta foi solubilizada com 5 mL de sol. HNO_3 10% e analisada no espectrômetro ajustado nas condições descritas (3.2.1.3). Foi usado como gás redutor o GLP, sendo ajustado o valor 30 da escala de controle do fluxo.

3.2.2.2. Escolha de técnica para análise dos metais em amostras de urina

Foi adicionada a mistura de soluções-padrão dos elementos estudados em amostras de urina de maneira a se obter uma concentração final dos metais correspondendo a 1 mg/L.

Em primeiro lugar foi experimentada a análise espectrométrica direta das amostras, apenas acidificadas com HCl , gota a gota, até se obter um título de aproximadamente 0,04 M.

Não tendo sido logrado êxito, foram as mesmas submetidas à concentração prévia, antes de serem introduzidas no espectrômetro.

Como também, neste caso, os resultados não foram satisfatórios, foi experimentado a extração com solvente orgânico, após complexação dos metais presentes nas amostras de acordo com a técnica seguinte:

- colocar em funil de separação alíquotas de 20 mL de amostra de urina;
- ajustar o pH a $\pm 5,5$ com sol. de NaOH 20%, ou sol. de HCl N se estiver alcalina;
- aquecer até $\pm 50^\circ\text{C}$;
- adicionar 5 mL de sol. pirrolidinaditiocarbamato de amônio a 5% e agitar;

- adicionar 10 mL do solvente e agitar vigorosamente;
- separar as fases e efetuar a leitura da fase orgânica nas condições obtidas em 3.2.1.3.

3.3. Determinação de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn em amostras de tabaco de cigarros provenientes do comércio varejista (São Paulo)

3.3.1. Material

- amostras de tabaco proveniente de sete diferentes marcas de cigarro, adquiridos no comércio varejista de São Paulo.
- soluções-padrão em HNO_3 10%, dos metais estudados nas seguintes concentrações:

Cd^{++} 1 mg/L

Cr^{+++} 5 mg/L e 50 mg/L

Fe^{+++} 8 mg/L e 80 mg/L

Mn^{++} 5 mg/L e 30 mg/L

Zn^{++} 3 mg/L e 15 mg/L

- espectrômetro de fluorescência atômica com os módulos dos metais analisados ajustado nas condições referidas em 3.2.1.3.

3.3.2. Método

Depois de ensaios prévios foi estabelecida a técnica seguinte:

- retirar do cigarro, cuidadosamente, todo o tabaco e pesar;
- colocar a amostra em bēquer de vidro boro sílica

to e tampar com vidro de relógio.

- aquecer o bēquer aumentando a temperatura gradual e lentamente até $\pm 150^{\circ}\text{C}$; manter nessa temperatura até aparecimento de cinzas (evitar que o tabaco sofra ignição);
- transferir o bēquer para mufla elevando a temperatura até $\pm 350^{\circ}\text{C}$ deixando nessa condição até o aparecimento de cinzas claras;
- solubilizar o resíduo obtido com sol. de 1 mL de HCl 50%, aquecer brandamente e adicionar 4 mL de água desmineralizada;
- efetuar a determinação dos metais no espectrômetro nas condições referidas em 3.2.1.3.

3.4. Determinação de Cd, Mn e Zn em amostras de urina de fumantes de cigarros comercializados em São Paulo

3.4.1. Material

3.4.1.1. Amostras

- Grupo I urina de fumantes
- Grupo II urina de não fumantes

3.4.1.2. Reagentes

- amostras de urina enriquecidos com Cd, Mn e Zn na concentração, de 1 mg/L
- solução de HCl N
- solução de NaOH 20%
- sol. de pirrolidinaditiocarbamato de amônio a 5% (PDCA)
- ciclohexanona

3.4.1.3. Aparelho

- espectrômetro equipado com módulos de Cd, Mn e Zn, nas condições de operação adequadas para as amostras de urina (3.2.1.3).

3.4.2. Método

3.4.2.1. Determinação da creatinina urinária

Foi utilizado o método descrito por VASAK, com as modificações sugeridas por DJURIC²¹.

3.4.2.2. Determinação do tiocianato urinário

Foi utilizado o método preconizado por PETTIGREW e FELL⁷⁰.

3.4.2.3. Determinação de cádmio, manganês e zinco

Após os resultados obtidos na fase de padronização (3.2.2.2.) empregamos a seguinte técnica:

- medir o pH da amostra;
- transferir uma alíquota de 50 mL para funil de separação e levar a pH $\pm$ 5,5, com adição de HClN ou NaOH 20%;
- adicionar 5 mL da sol. de PDCA 5% e agitar;
- adicionar 10 mL de ciclohexanona e agitar vigorosamente durante dois minutos;
- recolher a fase emulsionada, após a separação e centrifugar a 3.500 rpm durante 20 min.;
- efetuar a determinação dos metais na fase orgânica com o espectrômetro nas condições descritas em 3.2.1.3.

Para cada grupo de amostras foram analisadas, concomitantemente, uma alíquota de urina isenta de metais (branco) e outra adicionada com os padrões, as quais foram usadas na calibração do espectrômetro.

3.5. Estudo estatístico dos resultados

Os resultados serão submetidos à análise de Variância com Único Critério, para verificar a existência ou não de similaridade⁷. Não sendo as médias amostrais iguais, será aplicado o teste de diferença significativa "mínima", de FISHER:

$$D_{ij} = t \sqrt{s^2 \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

onde:

s^2 = média quadrática do erro (MQD)

t = valor encontrado na tabela de Student para o nível de significância $\alpha/2$ e respectivo grau de liberdade de s^2

n_i = tamanho da amostra i

n_j = tamanho da amostra j

Para verificar a correlação entre as concentrações dos metais, será utilizado o coeficiente de correlação de Pearson.

4.1. Padronização das condições de operação do espectrômetro de fluorescência atômica para determinação de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn

As posições de 420 e 460 W, referentes a potência aplicada na radiofrequência, foram consideradas as melhores para as leituras de todos os elementos selecionados, após exaustivo estudo das condições ótimas de operação. Exceto para a lâmpada de cádmio, cuja intensidade de corrente de 9,5 mA foi mais apropriada, os valores indicados na programação original do aparelho (3.1.1.2) foram considerados satisfatórios.

As leituras fornecidas pelas soluções-padrão do cromo, ferro e manganês foram dependentes da presença do gás redutor no plasma. A adição do GLP melhorou consideravelmente as leituras desses elementos, além de não interferir na intensidade de fluorescência do cádmio e do zinco.

Não foi detectada interferência mútua nas leituras da intensidade de fluorescência dos elementos, quando processados concomitantemente.

As concentrações do ferro foram aumentadas em até 500 mg/L, mesmo assim, não foi observada diminuição nas respostas dos outros elementos.

A adição de cloreto de sódio nas soluções-padrão dos elementos não produziu alterações nas leituras de cádmio, cromo, ferro e zinco. A resposta do manganês, porém, foi prejudicada, sendo obtidas leituras abaixo do esperado.

4.2. Padronização das técnicas de concentração dos metais estudados em amostras orgânicas

Após minuciosas tentativas foi observado que o aque

cimento da amostra deve ser efetuado em duas fases:

- na primeira, a temperatura deve ser elevada lentamente até $\pm 150^{\circ}\text{C}$ e mantida nessa condição até o aparecimento de cinzas;
- na segunda, realizada em mufla, a temperatura deve ser elevada gradualmente até $\pm 350^{\circ}\text{C}$.

O resíduo obtido nessas condições (cinzas claras) é apropriado para a solubilização em solução ácida e posterior análise no espectrômetro. Foi verificado que não havia interferência de outros compostos do tabaco na leitura da intensidade de fluorescência dos metais.

A nebulização direta da amostra de urina adicionada, deu origem a uma intensa fluorescência em toda a região do "tocha" ou plasma, que interferiu na intensidade de fluorescência dos metais estudados.

Os resíduos obtidos após a evaporação da amostra foram considerados impróprios para uso no espectrômetro, pois apresentaram micro partículas que obstruíram o tubo capilar de aspiração da amostra, impedindo a formação de um fluxo contínuo de nebulização.

Os extratos orgânicos obtidos após extração com metilisobutilcetona, cloreto de metileno e clorofórmio, quando introduzidos na região de formação do plasma, extinguíram-no. Foram feitas alterações na velocidade de aspiração da amostra, que foram, contudo, insuficientes para resolver o problema.

Com a nebulização do extrato orgânico obtido com o xileno foi observado o desenvolvimento de uma luminosidade em toda a região de formação do plasma. Essa alteração impediu que a

fluorescência dos metais fosse convenientemente medida.

A adição de oxigênio não alterou as condições de leitura.

No extrato orgânico obtido com a ciclohexanona, após a adição de oxigênio ao plasma, foi possível observar e medir a intensidade de fluorescência do Cd, Mn e Zn. Entretanto, as respostas do Cr e Fe não foram consideradas satisfatórias.

4.3. Determinação de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn em amostras de tabaco de cigarros

Na Tabela I são apresentados os teores de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn encontrados no tabaco de sete diferentes marcas de cigarro comercializadas em São Paulo.

Nas Tabelas II, III, IV, V e VI são apresentados os valores máximos, médios e mínimos dos metais por marca e por cigarro, e na Tabela VII, os teores de metais no tabaco.

A Figura 1 apresenta a distribuição dos teores dos metais do tabaco nas marcas de cigarro analisadas.

4.4. Determinação de Cd, Mn e Zn em amostras de urina de fumantes

Inicialmente foram feitas as determinações de creatinina e tiocianato urinário, cujos resultados estão apresentados na Tabela VIII; na Tabela IX foram confrontados os valores de tiocianato urinário com o tempo e o número de cigarros fumados diariamente.

A Figura 2 ilustra a representação gráfica dos valores de tiocianato urinário correspondentes aos grupos I (fumantes) e II (não fumantes); a Figura 3 ilustra a representação grá

TABELA I - Teores de cádmio, cromo, ferro, manganês e zinco encontrados no tabaco de sete diferentes marcas de cigarro comercializadas em São Paulo

marca	Cd	Cr	Fe	Mn	Zn
	µg/cigarro				
A	0,64	3,23	149,20	111,75	23,40
	0,70	3,34	146,65	101,40	24,85
	0,79	3,31	171,75	108,35	24,75
	0,84	3,66	149,25	103,25	25,05
B	0,87	6,13	204,25	116,90	35,10
	0,70	3,37	202,35	127,65	36,95
	0,50	3,18	213,40	116,75	35,55
	0,93	10,49	227,95	127,85	41,50
C	0,63	6,90	255,80	136,85	26,40
	0,63	8,25	339,70	149,70	30,50
	0,55	5,05	230,00	115,45	23,50
	0,68	7,00	305,70	127,80	25,85
D	0,44	4,67	308,85	145,15	43,85
	0,50	5,39	278,60	127,60	40,50
	0,50	5,48	319,70	139,00	44,20
	0,48	5,25	319,60	119,55	40,30
E	0,49	7,55	243,65	128,60	31,80
	0,58	7,50	272,70	127,50	31,55
	0,50	5,30	255,25	124,30	30,05
	0,54	4,00	260,10	131,80	31,05
F	0,61	5,45	312,15	132,20	24,95
	0,60	6,15	346,00	125,30	26,20
	0,46	7,55	334,40	132,55	26,00
	0,39	5,35	384,00	156,55	34,75
G	0,64	3,79	152,79	123,00	29,15
	0,58	2,81	151,60	114,00	29,20
	0,52	2,98	150,65	125,20	31,50
	0,65	3,76	169,30	133,10	32,50

TABELA II - Teores de CÁDMIO em algumas marcas de cigarro comercializadas em São Paulo

marca	peso (média) (g)	concentração ($\mu\text{g}/\text{cigarro}$)		
		mínima	média	máxima
A	0,7339	0,64	0,74	0,84
B	0,7959	0,50	0,75	0,93
C	0,7568	0,55	0,62	0,68
D	0,8218	0,44	0,48	0,50
E	0,7885	0,49	0,53	0,58
F	0,7985	0,39	0,52	0,61
G	0,7575	0,52	0,60	0,65

TABELA III - Teores de CROMO em algumas marcas de cigarro comercializadas em São Paulo

marca	peso (média) (g)	concentração ($\mu\text{g}/\text{cigarro}$)		
		mínima	média	máxima
A	0,7339	3,23	3,39	3,66
B	0,7959	3,18	5,79	10,49
C	0,7568	5,05	6,80	8,25
D	0,8218	4,67	5,20	5,48
E	0,7885	4,00	6,09	7,55
F	0,7985	5,35	6,13	7,55
G	0,7575	2,81	3,34	3,79

TABELA IV - Teores de FERRO em algumas marcas de cigarro comercializadas em São Paulo

marca	peso (média) (g)	concentração ($\mu\text{g}/\text{cigarro}$)		
		mínima	média	máxima
A	0,7339	147	154	172
B	0,7959	202	212	228
C	0,7568	230	283	340
D	0,8218	279	307	320
E	0,7885	244	258	273
F	0,7985	312	344	384
G	0,7575	151	156	169

TABELA V - Teores de MANGANÊS em algumas marcas de cigarro comercializadas em São Paulo

marca	peso (média) (g)	concentração ($\mu\text{g}/\text{cigarro}$)		
		mínima	média	máxima
A	0,7339	101	106	112
B	0,7959	117	122	128
C	0,7568	115	132	150
D	0,8218	120	133	145
E	0,7885	124	128	132
F	0,7985	125	137	157
G	0,7575	114	124	133

TABELA VI - Teores de ZINCO em algumas marcas de cigarro comercializadas em São Paulo

marca	peso (média) (g)	concentração ($\mu\text{g}/\text{cigarro}$)		
		mínima	média	máxima
A	0,7339	23,40	24,51	25,05
B	0,7959	35,10	37,28	41,50
C	0,7568	23,50	26,56	30,50
D	0,8218	40,30	42,21	44,20
E	0,7885	30,05	31,11	31,80
F	0,7985	24,95	27,98	34,75
G	0,7575	29,15	30,59	32,50

TABELA VII - Teores médios de METAIS encontrados no tabaco de algumas marcas de cigarro comercializadas em São Paulo

marca	concentração ($\mu\text{g/g}$ tabaco)				
	Cd	Cr	Fe	Mn	Zn
A	1,01	4,61	210	145	33,4
B	0,94	7,27	266	154	46,8
C	0,82	8,98	372	175	35,1
D	0,58	6,32	373	162	51,3
E	0,67	7,72	327	162	39,5
F	0,65	7,67	431	171	35,0
G	0,79	4,40	206	164	40,4
média	0,78	6,71	312	162	40,0
desvio padrão	0,16	1,70	87	10	6,7

A, B, C, D, E, FeG - Tabaco de sete marcas de cigarro

Intervalo representando $\bar{x} \pm \text{desvio-padrão}$
 o valor mínimo
 • valor máximo

Fig. 1 - Distribuição dos teores de metais no tabaco de sete marcas de cigarro comercializadas em São Paulo

-24-

TABELA VIII - Valores de creatinina e tiocianato em amostras de urina de fumantes e não fumantes

fumantes			não fumantes		
amostra	creatinina g/L	tiocianato $\mu\text{mol/L}$	amostra	creatinina g/L	tiocianato $\mu\text{mol/L}$
1	1,76	17,92	1	2,10	8,30
2	2,60	16,04	2	0,80	5,70
3	1,28	14,67	3	1,70	5,70
4	2,34	13,42	4	1,40	5,50
5	1,87	13,33	5	2,10	5,30
6	1,74	12,83	6	2,00	5,30
7	1,17	12,71	7	1,50	5,00
8	1,22	12,33	8	1,00	5,00
9	1,20	12,29	9	1,98	4,73
10	0,23	11,87	10	2,80	4,70
11	2,55	10,67	11	1,50	4,70
12	1,62	10,42	12	1,45	4,33
13	2,40	9,58	13	1,20	4,30
14	2,29	8,15	14	2,00	4,30
15	1,10	7,66	15	1,70	4,21
16	2,16	7,54	16	1,36	3,65
17	1,83	7,46	17	1,57	3,51
18	1,33	7,33	18	1,80	3,40
19	1,00	6,67	19	1,16	3,40
20	1,66	6,05	20	1,00	3,30
21	0,90	5,83	21	1,50	3,30
22	0,80	5,83	22	1,30	3,24
23	1,95	5,53	23	1,61	3,16
24	0,35	4,79	24	1,61	3,03
25	1,90	4,26	25	0,80	3,00
26	0,39	4,17	26	0,60	2,80
27	1,20	3,15	27	1,35	2,73
28	0,50	2,96	28	0,90	2,70
29	1,00	2,41	29	1,72	2,43
30	0,60	2,22	30	0,53	2,16
31	1,20	1,85	31	1,00	1,70
32	0,26	1,70	32	0,30	1,70
média		8,24			3,95
desvio padrão		4,50			1,39

FIGURA: 2 REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS VALORES DE TIOCIANATO URINÁRIO

TABELA IX - Valores de tiocianato urinário confrontados com o tempo de fumante e número de cigarros fumados por dia

amostra	tempo de fumante (anos)	nº de cigarros/dia	tiocianato urinário $\mu\text{mol/L}$
1	11	20	17,92
2	5	15	16,04
3	20	20	14,67
4	7	10	13,42
5	25	20	13,33
6	5	10	12,83
7	13	20	12,71
8	15	20	12,33
9	36	20	12,29
10	4	10	11,87
11	5	20	10,67
12	11	10	10,42
13	14	40	9,58
14	11	20	8,15
15	18	40	7,66
16	26	15	7,54
17	15	10	7,46
18	25	20	7,33
19	8	10	6,67
20	5	20	6,05
21	14	20	5,83
22	14	15	5,83
23	35	40	5,53
24	14	20	4,79
25	27	20	4,26
26	21	40	4,17
27	25	20	3,15
28	15	10	2,96
29	15	10	2,41
30	10	10	2,22
31	5	10	1,85
32	24	15	1,70

FIGURA 3 — FAIXA DE VARIAÇÃO DOS TEORES DE TIOCIANATO URINÁRIO EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE CIGARROS FUMADOS POR DIA.

fica dos valores de tiocianato contra o nº de cigarros fumados/dia.

Devido a dificuldades técnicas, nas amostras de urina foram analisados somente Cd, Mn e Zn; os resultados da de terminação estão apresentados na Tabela X para o Grupo I (fumantes) e na Tabela XI para o Grupo II (não fumantes).

4.5. Estudo estatístico dos resultados

A Tabela XII apresenta a Análise de Variância com um único critério, feita a partir dos resultados dos teores de metais nas marcas de cigarro analisadas.

As Tabelas XIII, XIV, XV, XVI e XVII correspondem aos resultados obtidos na análise estatística feita para verificar a similaridade (teste da diferença significativa "mínima" das médias, de Fischer), entre os teores de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn, respectivamente. Estas tabelas, referentes a similaridade entre as marcas, quanto aos teores dos metais analisados estão resumidas numa representação gráfica (Figura 4).

A Tabela XVIII apresenta a fração da variância total entre x e y (metais) explicada pela relação linear, a qual foi encontrada através da aplicação do Coeficiente de Correlação de Pearson entre os teores de metais nas diferentes marcas de cigarro (Tabela XIX).

As Tabelas XX e XXI apresentam os Coeficientes de Correlação de Pearson, entre os teores de metais nas amostras de urina do Grupo I (fumantes) e do Grupo II (não fumantes), respectivamente.

TABELA X - Teores de Cd, Mn e Zn em amostras de urina de
tes-29-
fuman

amostra	idade	sexo	concentração µg/L		
			Cd	Mn	Zn
1	31	M	nd	3	2147
2	21	F	5	4	327
3	40	F	7	1	643
4	27	F	9	1	336
5	40	M	3	nd	282
6	26	F	7	nd	507
7	31	F	2	3	1378
8	27	M	nd	1	719
9	47	M	2	3	296
10	21	F	6	nd	446
11	21	F	4	1	345
12	29	F	2	2	639
13	26	M	nd	2	358
14	22	M	nd	7	477
15	44	M	2	6	359
16	50	F	3	2	1078
17	33	F	4	1	214
18	43	M	2	2	630
19	24	F	6	nd	992
20	24	F	nd	1	307
21	31	M	6	nd	1030
22	31	F	5	2	131
23	49	M	6	nd	1291
24	31	F	nd	4	195
25	34	M	nd	6	375
26	36	F	11	10	398
27	48	M	9	4	609
28	28	F	3	2	124
29	33	F	1	1	553
30	32	F	1	2	96
31	26	F	nd	4	1294
32	40	M	1	5	132
nd - não detectado					
média			3,34	2,50	585
desvio-padrão			3,11	2,36	458

TABELA XI - Teores de Cd, Mn e Zn em amostras de urina de não fumantes

amostra	idade	sexo	concentração µg/L		
			Cd	Mn	Zn
1	20	M	5	2	471
2	23	F	4	11	941
3	32	M	4	nd	906
4	25	M	4	3	541
5	24	M	7	6	2248
6	43	M	nd	nd	703
7	26	F	nd	nd	941
8	24	F	1	7	385
9	34	F	1	nd	1129
10	29	F	5	nd	582
11	17	F	1	nd	795
12	19	F	nd	nd	950
13	32	M	3	2	342
14	26	M	5	10	812
15	52	F	2	nd	468
16	32	M	2	nd	232
17	55	F	1	3	721
18	21	F	nd	7	522
19	24	F	2	1	190
20	27	M	7	4	307
21	29	M	8	4	725
22	23	F	3	3	325
23	21	F	nd	nd	545
24	30	F	1	2	327
25	24	M	nd	8	242
26	31	F	4	1	204
27	25	F	nd	6	69
28	26	M	3	2	342
29	21	M	4	3	582
30	21	F	2	2	886
31	23	M	2	3	278
32	33	M	3	2	174

nd - não detectado

médica 2,63 2,88 590

desvio-padrão 2,25 3,08 412

TABELA XII - Resultados obtidos pela Análise de Variância com único critério das determinações dos teores dos metais nos cigarros analisados.

	Cd	Cr	Fe	Mn	Zn
A	0,74 ± 0,09	3,39 ± 0,19	154,21 ± 11,75	106,19 ± 4,73	24,51 ± 0,75
B	0,75 ± 0,19	5,79 ± 3,41	211,99 ± 11,68	122,29 ± 6,31	37,28 ± 2,92
C	0,62 ± 0,05	6,80 ± 1,32	282,80 ± 49,26	132,45 ± 14,46	26,56 ± 2,91
D	0,48 ± 0,03	5,20 ± 0,36	306,69 ± 19,40	132,83 ± 11,45	42,21 ± 2,10
E	0,53 ± 0,04	6,09 ± 1,74	257,93 ± 12,03	128,05 ± 3,09	31,11 ± 0,04
F	0,52 ± 0,06	6,13 ± 1,01	344,14 ± 30,06	136,65 ± 13,68	27,98 ± 4,55
G	0,60 ± 0,06	3,34 ± 0,51	156,01 ± 8,89	123,83 ± 7,86	30,59 ± 1,68
STQ	0,48	98,83	142535,10	4450,35	1077,22
SQE	0,28	45,25	129920,96	2467,38	938,84
SQD	0,20	53,58	12614,15	1982,86	138,38
g ₂₁	6	6	6	6	6
g ₂₂	21	21	21	21	21
g ₂₃	27	27	27	27	27
MQE	0,05	7,54	21653,49	411,23	156,47
MQD	0,01	2,55	600,57	94,43	6,59
F	4,96	2,96	36,05	4,36	23,75

A, B, C, D, E, F e G - marcas de cigarro
STQ - soma total de quadrados
SQE - soma de quadrados dos desvios entre grupos
SQD - soma de quadrados dos desvios dentro grupos
F_{5%,6,21} = 2,57
g₂₁ - graus de liberdade entre grupos
g₂₂ - graus de liberdade dentro grupos
g₂₃ - graus de liberdade total
MQE - médias quadráticas entre grupos
MQD - médias quadráticas dentro grupos

TABELA XIII - Resultados obtidos na análise estatística para verificar a similaridade entre as marcas de cigarro quanto ao teor de CÁDMIO

marca	$D_{ij} = \bar{x}_i - \bar{x}_j$	homogeneidade	similaridade
A	D_{AB}	0,01	aceito
	D_{AC}	0,12	aceito
	D_{AD}	0,26	rejeitado
	D_{AE}	0,16	rejeitado
	D_{AF}	0,22	rejeitado
	D_{AG}	0,14	aceito
B	D_{BC}	0,15	aceito
	D_{BD}	0,27	rejeitado
	D_{BE}	0,22	rejeitado
	D_{BF}	0,23	rejeitado
	D_{BG}	0,15	aceito
C	D_{CD}	0,14	aceito
	D_{CE}	0,09	aceito
	D_{CF}	0,10	aceito
	D_{CG}	0,02	aceito
D	D_{DE}	0,05	aceito
	D_{DF}	0,04	aceito
	D_{DG}	0,12	aceito
E	D_{EF}	0,01	aceito
	D_{EG}	0,07	aceito
F	D_{FG}	0,08	aceito

H_0 = As marcas i, j são homogêneas quanto ao teor de Cádmio

MQD = 0,01

$D_{Cd} = 0,15$

$t_{(0,05, 21)} = 2,080$

TABELA XIV - Resultados obtidos na análise estatística para verificar a similaridade entre as marcas de cigarro quanto ao teor de CROMO

marca	$D_{ij} = \bar{x}_i - \bar{x}_j$	homogeneidade	similaridade
A	D_{AB} 2,40	rejeitado	A-D-G
	D_{AC} 3,41	rejeitado	
	D_{AD} 1,81	aceito	
	D_{AE} 2,70	rejeitado	
	D_{AF} 2,74	rejeitado	
	D_{AG} 0,05	aceito	
B	D_{BC} 1,01	aceito	B-C-D-E-F
	D_{BD} 0,59	aceito	
	D_{BE} 0,30	aceito	
	D_{BF} 0,34	aceito	
	D_{BG} 2,45	rejeitado	
C	D_{CD} 1,60	aceito	C-D-E-F
	D_{CE} 0,71	aceito	
	D_{CF} 0,67	aceito	
	D_{CG} 3,46	rejeitado	
D	D_{DE} 0,89	aceito	D-E-F-G
	D_{DF} 0,93	aceito	
	D_{DG} 1,86	aceito	
E	D_{EF} 0,04	aceito	E-F
	D_{EG} 2,75	rejeitado	
F	D_{FG} 2,79	rejeitado	

H_0 = As marcas i, j são homogêneas quanto ao teor de Cromo

$MQD = 2,55$

$D_{Cr} = 2,35$

$t_{(0,05, 21)} = 2,080$

TABELA XV - Resultados obtidos na análise estatística para verificar a similaridade entre as marcas de cigarro quanto ao teor de FERRO

marca	$D_{ij} = \bar{x}_i - \bar{x}_j$	homogeneidade	similaridade
A	D_{AB} 57,78	rejeitado	A-G
	D_{AC} 128,59	rejeitado	
	D_{AD} 152,48	rejeitado	
	D_{AE} 103,72	rejeitado	
	D_{AF} 189,93	rejeitado	
	D_{AG} 1,80	aceito	
B	D_{BC} 70,81	rejeitado	
	D_{BD} 94,70	rejeitado	
	D_{BE} 45,94	rejeitado	
	D_{BF} 132,15	rejeitado	
	D_{BG} 55,98	rejeitado	
C	D_{CD} 23,89	aceito	C-D-E
	D_{CE} 24,87	aceito	
	D_{CF} 61,34	rejeitado	
	D_{CG} 126,79	rejeitado	
D	D_{DE} 48,76	rejeitado	
	D_{DF} 37,45	rejeitado	
	D_{DG} 150,68	rejeitado	
E	D_{EF} 86,21	rejeitado	
	D_{EG} 101,92	rejeitado	
F	D_{FG} 188,13	rejeitado	

H_0 = As marcas i, j são homogêneas quanto ao teor de Ferro

$MQD = 600,67$

$D_{Fe} = 36,05$

$t_{(0,05, 21)} = 2,080$

TABELA XVI - Resultados obtidos na análise estatística para verificar a similaridade entre as marcas de cigarro quanto ao teor de MANGANÊS.

marca	$D_{ij} = \bar{x}_i - \bar{x}_j$	homogeneidade	similaridade
A	D_{AB} 16,10	rejeitado	
	D_{AC} 26,26	rejeitado	
	D_{AD} 26,64	rejeitado	
	D_{AE} 21,86	rejeitado	
	D_{AF} 30,46	rejeitado	
	D_{AG} 17,64	rejeitado	
B	D_{BC} 10,16	aceito	
	D_{BD} 10,54	aceito	
	D_{BE} 5,76	aceito	B-C-D-E-F-G
	D_{BF} 14,36	aceito	
	D_{BG} 1,54	aceito	
C	D_{CD} 0,38	aceito	
	D_{CE} 4,40	aceito	
	D_{CF} 4,20	aceito	C-D-E-F-G
	D_{CG} 8,62	aceito	
D	D_{DE} 4,78	aceito	
	D_{DF} 3,82	aceito	D-E-F-G
	D_{DG} 9,00	aceito	
E	D_{EF} 8,60	aceito	
	D_{EG} 4,22	aceito	E-F-G
F	D_{FG} 12,82	aceito	F-G

H_0 = As marcas i, j são homogêneas quanto ao teor de manganês

MQD = 94,43

D_{Mn} = 14,29

$t_{(0,05,21)} = 2,080$

TABELA XVII - Resultados obtidos na análise estatística para verificar a similaridade entre as marcas de cigarro quanto ao teor de ZINCO

marca	$D_{ij} = \bar{x}_i - \bar{x}_j$	homogeneidade	similaridade
A	D_{AB} 12,77	rejeitado	A-C-F
	D_{AC} 2,05	aceito	
	D_{AD} 17,70	rejeitado	
	D_{AE} 6,60	rejeitado	
	D_{AF} 3,47	aceito	
	D_{AG} 6,08	rejeitado	
B	D_{BC} 10,72	rejeitado	
	D_{BD} 4,93	rejeitado	
	D_{BE} 6,17	rejeitado	
	D_{BF} 9,30	rejeitado	
	D_{BG} 6,69	rejeitado	
C	D_{CD} 15,65	rejeitado	C-F
	D_{CE} 4,55	rejeitado	
	D_{CF} 1,42	aceito	
	D_{CG} 4,03	rejeitado	
D	D_{DE} 11,10	rejeitado	
	D_{DF} 14,23	rejeitado	
	D_{DG} 11,62	rejeitado	
E	D_{EF} 3,13	aceito	E-F-G
	D_{EG} 0,52	aceito	
F	D_{FG} 2,61	aceito	F-G

H_0 = As marcas i, j são homogêneas quanto ao teor de Zinco

MQD = 6,59

$D_{Zn} = 3,78$

$t_{(0,05, 21)} = 2,080$

Fig. 4 - Representação gráfica da similaridade entre as marcas de cigarro quanto aos teores de metais analisados.

TABELA XVIII - Fração da variância total entre x e y explicada pela relação linear

metal	Cd	Cr	Zn	Mn	Fe
Cd	100%				
Cr	10%	100%			
Zn	2%	10%	100%		
Mn	62%	49%	3%	100%	
Fe	50%	61%	-	74%	100%

TABELA XIX - Coeficientes de correlação de Pearson entre os teores de metais nas diferentes marcas de cigarro analisadas

metal	Cd	Cr	Zn	Mn	Fe
Cd	1,00				
Cr		1,00			
Zn			1,00		
Mn	-0,79	0,70		1,00	
Fe	-0,71	0,78		0,86	1,00

TABELA XX - Coeficientes de correlação de Pearson entre os teores de metais nas amostras de urina de fumantes (GRUPO I)

metal	Cd	Mn	Zn
Cd	1,00		
Mn	0,005	1,00	
Zn	0,004	0,01	1,00

TABELA XXI - Coeficientes de correlação de Pearson entre os teores de metais nas amostras de urina de não fumantes (GRUPO II)

metal	Cd	Mn	Zn
Cd	1,00		
Mn	0,04	1,00	
Zn	0,07	0,01	1,00

A espectrometria de fluorescência atômica foi recentemente introduzida como técnica para análise de traços de elementos com a vantagem de realizar determinações simultâneas^{17, 48, 49, 52, 66, 77}. Devido às características de alta sensibilidade para vários metais, foi estudada a viabilidade de sua aplicação na análise das amostras orgânicas (tabaco e urina) de interesse do presente trabalho.

No caso específico do aparelho utilizado — um espectrômetro PLASMA/AFS —, foram encontrados na literatura disponível, apenas trabalhos referentes à determinação de elementos em aço, óleos derivados de petróleo e de metais preciosos^{49, 50, 51}. Segundo LANCIONE e DREW⁵⁰, neste aparelho existe uma combinação das técnicas de absorção e emissão atômica. Esses fenômenos ocorrem no compartimento denominado tocha ou plasma, que é constituído fisicamente por um plasma gasoso obtido por indução, pela passagem do argônio num campo magnético formado através de um gerador de radiofrequência. A amostra é introduzida pelo gás de arraste ao longo do centro geométrico do plasma, onde seus elementos passam para o estado atômico.

Para obtenção da fluorescência atômica, uma lâmpada de cátodo ôco emite radiações características dirigidas para o plasma. Os átomos dos elementos absorvem a energia irradiada e posteriormente, ao liberarem essa energia, emitem fluorescência característica. Essa é detectada e amplificada por um detetor fotomultiplicador. A lâmpada de cátodo ôco e o detetor fotomultiplicador de cada elemento, estão adequadamente colocados em um módulo único. Assim, vários módulos podem ser posicionados ao redor da tocha ou plasma, possibilitando a determinação simultânea de vários elementos. Contudo, as condições para esse tipo de análise

se não foram discutidas nos poucos trabalhos disponíveis.

Para desenvolver esta pesquisa foi necessário um amplo estudo dos procedimentos analíticos referentes às condições de operação do equipamento, do tratamento das amostras e à possível interferência dos elementos entre si.

Inicialmente foi verificada a possibilidade de uso de gases mais acessíveis em nosso meio, uma vez que os indicados, de alto grau de pureza são de custo bastante elevado. A substituição de argônio puro, por argônio industrial, não alterou as condições da tocha ou plasma. O uso de gás liquefeito de petróleo (GLP), como gás redutor, em substituição ao recomendado propano, também foi adequada.

Uma das condições necessárias para o desenvolvimento da análise no espectrômetro é a manutenção do plasma em condições de exercer a sua função de atomizar a amostra. Nesse sentido, a potência da radiofrequência é crítica. Pelos parâmetros apresentados em 3.1.1.2 foi verificado que os elementos devem ser processados em uma determinada faixa de potência; as posições selecionadas em 4.1 permitiram a manutenção do plasma em condições de uso.

Outro fator que altera as condições de análise no plasma é a cuidadosa introdução de gás redutor, que propicia o meio adequado para leitura de alguns elementos, como o manganês, o cromo e o ferro. Pelos resultados obtidos foi observado que as leituras da intensidade de fluorescência do cádmio e zinco não foram afetadas pela presença do GLP, o que possibilitou estabelecer condições para a determinação simultânea dos elementos estudados.

LANCIONE & DREW⁵⁰, ao analisarem amostras de ligas de aço e ferro, verificaram a existência de uma pequena degrada

ção nas leituras de cromo e alumínio. Na falta de informações referentes aos elementos de interesse, tal questão foi estudada e pelos resultados obtidos, não foram detectadas alterações na intensidade de fluorescência dos elementos, quando analisados simultaneamente.

Sendo a urina uma das amostras de trabalho, foi examinada a possível influência de íons Cl^- e Na^+ na fluorescência dos metais analisados, uma vez que trabalhos relativos à determinação de Cd em material com alto teor de NaCl, sugerem tal fato⁵⁶. A resposta do manganês foi prejudicada pela presença de NaCl.

Após serem padronizadas as condições de trabalho do espectrômetro de fluorescência atômica, foram estudadas as técnicas de concentração dos metais em amostras orgânicas.

Um dos fatores que contribui para a complexidade da análise de metais em amostras orgânicas é a fase de separação. O problema torna-se ainda maior quando os elementos pesquisados estão na ordem de grandeza de partes por milhão.

A matéria orgânica presente, se não for convenientemente mineralizada, pode se tornar uma indesejável fonte de interferência nas fases seguintes do procedimento analítico; esta fase foi bem estudada para cada uma das amostras.

DERMELEJ et al.¹⁸ ao analisarem metais pesados em tabaco utilizaram diferentes técnicas de separação, de acordo com o equipamento a ser usado na fase posterior de determinação quantitativa. MÜLLER⁶² e ELINDER et al.²⁷, por exemplo, usaram a calcinação como técnica de escolha.

A calcinação da amostra pode acarretar perda dos

elementos devido à volatilização, ou pela aderência às paredes do recipiente. Por outro lado, a adição de ácidos para tratamento por via úmida aumenta a possibilidade de contaminação da amostra.

Não existindo, no caso do tabaco, referências quanto ao grau necessário de remoção da matéria orgânica para posterior análise no espectrômetro de fluorescência atômica, foi feita inicialmente, uma avaliação nesse sentido. Foram testadas técnicas de mineralização tanto por via seca, quanto por via úmida. Pelos resultados, foi observado que não era necessário a mineralização total da substância orgânica.

Como a temperatura proposta por ELINDER et al.²⁷ para a determinação de cádmio e zinco em tabaco pode levar à perda de outros elementos de interesse, foram pesquisadas as condições de temperatura mais adequadas, considerando que não havia necessidade de uma calcinação total da amostra; a temperatura de aproximadamente 350°C, foi estabelecida como suficiente para obtenção de resíduos apropriados para a posterior leitura no espectrômetro. Nessa temperatura o risco de perda por volatilização dos metais estudados foi praticamente eliminado. Outra vantagem obtida, foi a possibilidade de ser utilizado como recipiente da amostra, material de vidro boro silicato, uma vez que o ferro pode aderir firmemente às paredes do recipiente quando se utiliza material de porcelana.

Na fase de aquecimento da amostra de tabaco, devido às suas características próprias, foi evitada a auto-ignição, que determinaria uma elevação da temperatura, não adequada. Assim o bēquer foi tampado com um vidro de relógio e submetido a uma secagem prévia de $\pm 150^{\circ}\text{C}$. Depois de completamente carbonizada, a amostra foi levada para mufla, até completar a calcinação.

Os resíduos obtidos dessa maneira podem ser facilmente solubilizados com a solução de HCl 50% para posterior diluição com água desmineralizada e leitura no espectrômetro. Foi observado o aparecimento de uma leve fluorescência acima da tocha ou plasma, fato que não afetou a leitura de intensidade de fluorescência da amostra.

O tempo gasto para uma calcinação conveniente foi de 18 horas.

A escolha de técnica para a análise dos metais em amostras de urina, foi feita levando em consideração que seria necessário uma concentração dos elementos.

Para separar metais de material biológico, uma técnica bastante recomendada é a extração por solvente orgânico, após uma conveniente complexação. Contudo, trabalhos referentes à aplicação dessa técnica na análise por espectrometria de emissão atômica, relatam restrições quanto ao uso de alguns solventes comumente empregados. Solventes altamente voláteis, ao serem introduzidos no plasma, formam uma quantidade excessiva de vapores que aumentam a velocidade dos gases, alterando as condições da manutenção da tocha ou plasma⁵⁹. Outros solventes afetam a impedância elétrica do plasma (argônio) dificultando o acoplamento por indução da potência da radiofrequência⁷⁸.

LANCIONE E DREW⁵¹, observaram que o uso de querosene como veículo de introdução de amostras de óleo, provocava o aparecimento de uma luminosidade na região do plasma, devido à combustão incompleta do solvente. Dessa forma, o sistema de detecção dos elementos ficava saturado, o que impedia seu funcionamento adequado. Para contornar o problema, os autores propuseram a adição de oxigênio no plasma.

A partir das recomendações de autores que empregaram essa técnica de extração por solventes, para análise de metais, foram testados os solventes orgânicos mais indicados⁷⁹. Como agente de complexação foi escolhido a pirrolidinaditiocarbamato de amônio devido à sua capacidade de complexar com vários metais dentro das mesmas condições de pH⁶⁹. O pH de extração foi selecionado com base nas recomendações de DRASH et al.²⁴, MYAZAKY et al.⁵⁹ e de SIQUEIRA⁷⁵.

Conforme relatado em 4.2 nenhum dos solventes propostos apresentou condições de uso na espectrometria de fluorescência atômica.

Foi tentado, então, o uso da ciclohexanona, que apresentou condições de viscosidade e tensão superficial compatíveis com a utilização no espectrômetro.

Entretanto, algumas condições de trabalho do aparelho tiveram que ser adotadas além das referidas em 3.2.1.3; foi necessário utilizar um gás oxidante para manutenção do plasma em condições de exercer sua função. Com isto o meio tornou-se desfavorável para a leitura da intensidade de fluorescência dos metais que requerem a presença de gás redutor, como o ferro e o cromo, porém permitiu determinar o cádmio, o manganês e o zinco.

Devido às alterações ocorridas nas características plasma não foi possível estabelecer condições de trabalho que permitissem a determinação, em amostras de urina, de todos os metais estudados no tabaco.

Uma vez padronizadas as condições de trabalho, o tabaco de alguns cigarros comercializados na região e amostras de urina de fumantes, passaram a ser examinadas.

Cinco marcas de cigarro foram selecionadas pela

freqüência do consumo, mais uma, entre todas como baixo teor de alcatrão e nicotina, e ainda outra, considerada como uma das preferidas pelo sexo feminino.

Os cigarros são fabricados a partir de mistura de fumos provenientes de diversos tipos de tabaco. Os fatores que determinam a escolha desses fumos para a mistura são puramente de ordem comercial, fato que justifica possíveis diferenças na qualidade do fumo para uma mesma marca.

Os teores de metais encontrados nas sete marcas analisadas estão apresentados nas Tabelas I e VII.

Infelizmente, não existem para o cigarro limites de tolerância pré-estabelecidos para seus constituintes, sejam orgânicos ou inorgânicos. Assim, os valores obtidos foram confrontados com os referidos nos diversos trabalhos encontrados na literatura e resumidos na Tabela XXII.

Para o cádmio, verifica-se que os valores, na tabela, podem ser divididos em dois grupos: o primeiro, correspondente aos países industrializados, que apresentam teores do metal no cigarro, na faixa de 1 a 2 $\mu\text{g/g}$; o segundo, constituído por países em desenvolvimento, onde os teores estão situados numa faixa inferior, exceto para o México. Nas marcas analisadas, os teores encontrados para o cádmio estão próximos dos valores do segundo grupo.

Segundo MÜLLER⁶², a absorção de metais pela planta do tabaco, ocorre, principalmente, pela superfície das folhas. Esse fato poderia explicar a diferença entre os teores de cádmio encontrados; o tabaco, nos países mais desenvolvidos, apresenta concentrações mais elevadas devido, provavelmente, à maior freqüência de fontes de emissão do metal.

TABELA XXII - Resultados de alguns trabalhos que apresentam os teores de metais encontrados em tabaco de diversos países.

autor	local	concentração - µg/g							
		Cd		Cr		Fe		Mn	
		mínima	máxima	mínima	máxima	mínima	máxima	mínima	máxima
DELAGE et al. ¹⁶ *	França	0,8	3,5						
DERMELEGET al. ¹⁸	Iugoslávia	0,97	2,24	4,21		399	1150	2736	61
ELINDER et al. ²⁷	Suécia	1,14	1,87					144	195
	Argentina	0,38	-	0,72				34,4	-
	Finlândia	0,95	1,66					30,5	-
	Índia		0,19					38,5	42,5
	Japão	1,60	2,25					42,6	
	México		3,04					46,2	50,5
	China	0,55	0,91					52,5	
	Sri Lanka	0,33	0,46					36,4	-
MENDEN ⁵⁴ *	Estados Unidos da América	0,93	1,80					38,4	39,4
MÜLLER ⁶²	Rep. Fed. Alemã								
	França	1,07	1,46	2,30	3,4	4,9	6,7	292	428
	Inglaterra							572	
								33	45

* µg/cigarro

No Brasil, a fumicultura está localizada principalmente nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, regiões que apresentam menor concentração ambiental de metais pesados.

Os teores de cromo estão acima dos valores obtidos por MÜLLER⁶² em países industrializados; como nenhuma fonte ambiental importante desse elemento é conhecida, a origem do Cr encontrado deve ser motivo de estudo mais detalhado quanto ao local e às condições da região de cultivo⁴⁷.

ELINDER et al.²⁷, ao analisarem teores de cádmio e zinco em tabaco, sugeriram que as concentrações do cádmio seriam um efeito secundário da variação dos teores de zinco, ou vice-versa. Pela Tabela VII, verifica-se que no tabaco analisado não foi encontrada essa correlação.

Pela observação da Tabela V, verifica-se que os valores encontrados para o manganês são bastante próximos entre si.

Os teores de ferro, apresentados na Tabela IV, apresentaram uma acentuada diferença entre algumas marcas; no tabaco das marcas A e F, foram encontrados teores que correspondem aproximadamente à metade dos valores das marcas C e F.

A aplicação de fungicidas é, com certeza, uma fonte de contaminação para as plantas de tabaco. Os ditiocarbamatos constituem um grupo de fungicidas associados a metais e largamente utilizados na agricultura^{6,63}. São exemplos:

- dimetilditiocarbamato de zinco (Ziram);
- dimetilditiocarbamato de ferro (Ferbam);
- etilenobisditiocarbamato de manganês (Maneb);
- etilenobisditiocarbamato de zinco (Zineb);

- etilenobisditiocarbamato de manganês e zinco (Mancozeb).

Entre os produtos disponíveis no mercado brasileiro são encontrados os que contêm ferro, manganês e zinco. Estão liberados para uso na fumicultura o Ferbam e o Mancozeb; a aplicação destes é feita nas partes aéreas das plantas⁵⁸.

Uma possível explicação para os elevados teores de ferro encontrados em algumas marcas, seria o uso excessivo de fungicidas.

Na falta de valores de referência para a avaliação dos teores de metais encontrados no presente trabalho, foi feito um estudo estatístico dos dados com a finalidade de melhor interpretar os resultados obtidos.

Para cada metal foram calculados a média, o desvio-padrão e determinados os extremos da distribuição (valores mínimo e máximo). As Tabelas II, III, IV, V, VI e XII, apresentam os parâmetros estatísticos calculados. Com os dados dessas tabelas, foram construídos diagramas para se verificar o comportamento de cada um dos metais nas sete diferentes marcas de cigarro analisadas (Figura 1).

Pela observação da Figura 1, verifica-se que as marcas A e B apresentam os maiores valores quanto aos teores de cádmio. Estas, coincidentemente, são as únicas provenientes de um determinado fabricante. Na marca G, os teores de todos os elementos mantiveram-se sempre abaixo da média; o mesmo se observa para as amostras da marca A, com exceção do cádmio. Essas marcas estão numa faixa de preço de venda mais alto; talvez, isto signifique melhor qualidade. Para o manganês, os resultados apresenta

ram uma dispersão menor, ao contrário do observado com o zinco e o ferro.

A Análise de Variância com um único critério foi utilizada para testar se as diferenças observadas entre as 28 amostras de tabaco provenientes de sete diferentes marcas de cigarro, poderiam ser atribuídas a erros de flutuação ou seriam indicativas de diferentes populações. A hipótese nula testada foi:

H_0 - todas as marcas de cigarro apresentam os mesmos teores de metais

gl_1 - graus de liberdade entre grupos = 6

gl_2 - graus de liberdade dentro grupos = 21

Pelos resultados obtidos (Tabela XII), foi verificado que existia diferença significativa quanto ao teor de cada elemento nas sete marcas de cigarro. Assim, foi aplicado o teste da diferença significativa "mínima" entre as médias, de FISHER, para verificar quais, dentre as marcas, não eram iguais entre si (Tabelas XIII, XIV, XV, XVI e XVII).

Para melhor visualização dos resultados foi feita a representação gráfica da similaridade entre as marcas (Figura 2). Quanto aos teores de manganês, as marcas são praticamente iguais, com exceção da marca A. No caso do cromo, pode ser considerada a existência de um só grupo, ou seja, todas as marcas apresentam teores similares desse metal. Foi verificada a existência de dois grupos distintos quanto aos teores de cádmio; as marcas C e G apresentaram valores compatíveis com os dois grupos. As maiores dispersões de teores entre as marcas foi observado para os teores de ferro e zinco.

Para verificar a existência de possíveis correla

ções entre os teores dos metais, nas diferentes marcas, foi aplicada a análise de diagramas de dispersão. Esses, permitem estudar o grau de associação entre duas variáveis (metais). Foi calculado o Coeficiente de Correlação de PEARSON. Todas as cinco variáveis foram combinadas duas a duas obtendo-se 10 diagramas de dispersão. Após análise dos coeficientes de correlação, foram conservados somente aqueles que apresentaram correlações significativas (Tabela XIX). A fração da variância total de x e y (metais) explicada pela relação linear está apresentada na Tabela XVIII. Os valores de Cd x Mn apresentaram uma correlação linear negativa de 0,79. Os valores de Cd x Fe, também, apresentaram correlação linear negativa de 0,71.

Os valores encontrados de Cr x Mn e Cr x Fe apresentaram correlação linear positiva de 0,70 e 0,78, respectivamente. Os valores de Fe x Mn apresentaram correlação linear positiva de 0,86. No caso do Zn, não foi encontrada correlação com nenhum dos outros elementos.

As correlações encontradas entre os teores de Fe x Cr, Mn x Cr estão em concordância com os resultados obtidos por MÜLLER⁶². A correlação entre Cd e Zn referida por outros autores, não foi encontrada, pois o Zn apresentou dispersão em relação aos outros metais.

A correlação entre Mn x Fe foi altamente significativa, tanto que poderia indicar uso de fungicidas no cultivo do fumo.

A quantidade de metal que o tabagista introduz nos pulmões corresponde à concentração encontrada na corrente principal da fumaça. Os estudos relativos a estas concentrações são res

tritos a poucos elementos. Para o cádmio, a concentração corresponde em média a 10% da encontrada no tabaco. Considerando-se que a absorção pulmonar é da ordem de 25 a 50%, um fumante de 20 cigarros por dia, das marcas analisadas, estaria exposto a uma concentração de 0,3 μg a 0,6 $\mu\text{g}/\text{dia}$, de acordo com a marca usada. Esses índices, aparentemente pouco representativos, significam, entretanto, que o fumante médio está exposto diariamente, à mesma quantidade de cádmio que respira um indivíduo, quando vive próximo a uma fonte de emissão do metal.

Não foram encontradas informações quanto à concentração dos outros metais, possivelmente presentes na fumaça do tabaco.

Segundo BERLIN¹⁰, vários poluentes já alcançaram, no ambiente, concentrações que podem ocasionar efeitos nocivos à saúde humana. Estudos colaborativos de caráter internacional, têm sido realizados no sentido de avaliar a exposição ambiental a alguns desses elementos. Dentre estes, os metais têm recebido uma atenção especial devido ao risco ecotoxicológico que podem apresentar. As diferentes condições climáticas e desenvolvimento sócio-econômico são variáveis que afetam o binômio dose/efeito. Este fato, tem levado ao interesse de determinar, por exemplo, cádmio no ar, no solo, na água, em plantas e nos animais.

Um dos objetivos que deve ser alcançado no controle biológico de populações não expostas é o de estabelecer possíveis correlações entre os teores de xenobióticos encontrados no organismo, com as prováveis fontes de contaminação. Os fumantes de tabaco, sem dúvida, constituem um grupo definido que se enquadra nessas condições. Devido à complexidade do assunto, é extremamente difícil estudar essa correlação, pois além da exposição especí

fica ao tabaco, outros fatores podem contribuir para a introdução de metais no organismo. Todavia, programas de controle toxicológico e epidemiológico devem ser desenvolvidos para a obtenção de subsídios que permitam equacionar o problema^{43, 60}.

No presente trabalho foram determinadas as concentrações de cádmio, manganês e zinco em amostras de urina provenientes de indivíduos fumantes e não fumantes, com a finalidade de investigar, se haveria correlação entre os valores encontrados e os teores dos metais no tabaco.

As amostras foram coletadas diretamente em frascos de polietileno previamente descontaminados e mantidos na temperatura de 4°C até a realização das análises.

Com a finalidade de reduzir a influência de possíveis variações na curva de eliminação de substâncias na urina, tem sido utilizado, como parâmetro de correção, a concentração de creatinina e/ou a densidade²⁹. Assim, devido à dificuldade de obtenção de amostras de 24 horas, os valores de índices biológicos obtidos pela análise de amostras únicas costumam ser corrigidas na tentativa de diminuir possíveis flutuações na eliminação urinária. Amostras muito diluídas ou muito concentradas, podem ser rejeitadas pelo uso de tais parâmetros de referência.

A validade dessa correção tem sido contestada por autores que consideram a possibilidade da mesma levar a erros de interpretação^{2, 37, 39}. Segundo ALESSIO et al.², indivíduos com concentrações baixas de creatinina apresentarão um falso alto valor pela correção; este fato pode ocorrer no caso de amostras provenientes de indivíduos do sexo feminino, idosos, ou com pouco desenvolvimento muscular. O uso, indiferentemente, de um ou outro parâmetro também é criticado porque nem sempre há correlação entre os

valores da creatinina e da densidade.

BERLIN et al.¹¹, em trabalho recente, estudaram o assunto utilizando a determinação de cádmio em amostras de urina coletadas durante 24 horas e em amostras ocasionais; os valores encontrados, quando expressos em $\mu\text{g/L}$, $\mu\text{g/g}$ creatinina ou em $\mu\text{g/L}$ (D 1024), mostraram uma estreita correlação, não havendo, portanto, vantagem em efetuar a correção.

No trabalho, os valores de creatinina foram determinados com a finalidade de permitir uma comparação com os resultados obtidos por outros autores (Tabela VIII).

Segundo FREDERIKSEN³², ao ser realizado um trabalho cujo interesse é avaliação de riscos para a saúde devido ao uso de tabaco, é necessário uma descrição adequada do hábito de fumar. Nesse sentido, foi solicitado aos doadores de amostras de urina que respondessem a um inquérito; esse, além dos dados pessoais, pedia informações sobre a marca, o número de cigarros consumidos por dia, o tempo de tabagismo e a frequência da inalação da fumaça.

O grau de exposição à fumaça do tabaco foi avaliado através da determinação do tiocianato urinário. Esse parâmetro bioquímico tem sido recomendado como índice que expressa esta exposição^{22, 23, 53, 64}.

DJURIC et al.²², ao estudarem a eliminação de tiocianato na urina de fumantes, encontraram correlação entre os valores determinados e o número de cigarros fumados.

Os resultados obtidos com amostras do Grupo I (fumantes) apresentaram um valor médio de $8,24 \pm 4,50 \mu\text{mol/L}$; o valor médio encontrado para o Grupo II (não fumantes) foi $3,95 \pm$

1,39 $\mu\text{mol/L}$ (Tabela VIII).

Segundo BENOWITZ⁹, o tiocianato não é um índice altamente específico para fumantes, pois está presente no organismo de não fumantes, podendo ser particularmente alto em indivíduos vegetarianos, contudo, na média, os fumantes apresentam níveis de duas a quatro vezes maiores que não fumantes.

No presente trabalho, o valor médio do tiocianato urinário dos fumantes foi duas vezes maior que o valor dos não fumantes. Contudo, os valores abaixo de 6 $\mu\text{mol/L}$ são encontrados para indivíduos dos dois grupos (Figura 2).

Os valores de tiocianato quando confrontados com o número de cigarros consumidos, não apresentaram correlação (Tabela IX). Uma explicação para este fato seriam as variações individuais na maneira de fumar, que sem dúvida, alteram consideravelmente o grau de exposição à fumaça de tabaco.

As amostras foram retiradas do refrigerador uma hora antes do início das análises, com a finalidade de reduzir a ocorrência de emulsão durante a fase de extração.

O complexo formado pelo metal com a pirrolidinaditiocarbamato de amônio foi extraído com ciclohexanona, porém, em alguns casos, com certa dificuldade devido à emulsão formada.

Como foi observado por SIQUEIRA⁷⁵, quanto à extração com metilisobutilcetona, também no caso da ciclohexanona o complexo de manganês permaneceu estável, no máximo até duas horas. Já os complexos formados com o cádmio e o zinco foram estáveis por mais de 3 horas.

Os valores médios das concentrações dos metais na urina ($\mu\text{g/L}$) de fumantes (Grupo I) e não fumantes (Grupo II) fo

ram, respectivamente:

cádmio	$3,34 \pm 3,11$	e	$2,63 \pm 2,25$
manganês	$2,50 \pm 2,36$	e	$2,88 \pm 3,08$
zinco	585 ± 458	e	590 ± 412

Embora os grupos de fumantes e não fumantes tenham apresentado diferenças entre os teores dos metais, a grande flu tuação destes valores em cada grupo não permite que sejam os mes mos caracterizados como distintos.

Algumas considerações de ordem geral permitem com preender a causa desse largo intervalo entre os valores mínimos e máximos de metais nas amostras dos dois grupos. Delas, a princi pal no caso dos fumantes, é a dificuldade de ser avaliada a quan tidade real de tabaco fumado, pois esta não corresponde, na realida dade, ao número de cigarros fumados. Outro fator muito importan te, é modo de tragar³⁸. Segundo ROSEMBERG⁷¹, por exemplo, um estu do revelou que quando se aspira a fumaça do cigarro profundamente, mantendo-o somente na boca, a absorção atinge 78% e, quando aque le é tragado, esta sobe a 95%.

Em relação aos não fumantes há que ser considerado o grave problema da exposição involuntária à fumaça e, consequen temente, aos riscos dos contaminantes presentes na corrente secun dária que se forma pela queima do tabaco^{67, 68}. Assim sendo, o fu mante passivo poderá também respirar tais produtos em quantidade bastante aleatória⁵⁵.

Cabe lembrar que condições individuais, como idade e sexo, podem exercer influência nos teores de metais excretados na urina^{76, 80}; além disto, não pode deixar de ser acrescido o fato, muito significativo para os dois grupos, da eventual conta

minação do ambiente por produtos inorgânicos e, como consequência, dos alimentos produzidos na região.

Todos estes fatores enumerados provavelmente contribuíram para a grande variação encontrada nos dois grupos, quanto aos teores de metais.

Embora os resultados obtidos não tenham permitido caracterizar como diferente, o grupo de fumantes, possibilitaram entretanto, demonstrar que o tabaco dos cigarros fumados na região de São Paulo contém metais como contaminantes. Mais ainda, que pelos teores urinários de metais encontrados nos dois grupos analisados, ficou evidenciada a exposição a esses elementos.

As concentrações de cádmio das amostras analisadas estão acima dos níveis considerados normais em urina de populações não expostas, tanto para o Grupo I (fumantes) como para o Grupo II (não fumantes)^{19,30}. Entretanto, COLACIOPPO¹⁵, em trabalho realizado com amostras de urina de uma população de trabalhadores expostos a fumos de soldagem, porém não ao Cd ambiental, cita como valores encontrados no grupo controle, $8,04 \pm 5,31 \mu\text{g/L}$.

Trabalhos têm referido o aumento da concentração de cádmio em vários órgãos de indivíduos expostos ao metal, de acordo com a idade^{44, 65, 73}. Um fator que provavelmente contribui para essa fato é a longa meia vida biológica do cádmio, que tem sido calculada de 19 a 38 anos^{3,34}. Assim a concentração máxima no cortex renal seria alcançada por volta dos 50 anos³³, a partir dessa idade os níveis encontrados na urina seriam mais elevados. Segundo HAMMOND & BELILES⁴¹, em populações expostas a baixas concentrações, a capacidade de acúmulo não seria ultrapassada, não sendo, portanto, observado o aumento da concentração na urina. De acordo com os teores de cádmio encontrados no tabaco consumido

na região, a população estudada estaria exposta a níveis considerados baixos, levando-se em conta apenas o tabagismo como fonte de contaminação, entretanto, é preciso lembrar que outras fontes de exposição podem estar presentes.

Quanto ao manganês, as concentrações encontradas nos dois grupos analisados no presente trabalho estão próximos dos valores obtidos por SIQUEIRA⁷⁵, ($4,84 \pm 2,27 \mu\text{g/L}$) em amostras de trabalhadores não expostos ocupacionalmente ao metal. SCHALLER & ZOBEL⁷², referem não ter encontrado correlação entre as concentrações de manganês em amostras de urina de fumantes e não fumantes.

Segundo CIRLA et al.¹⁴, não existe concordância quanto aos níveis de zinco considerados como normais em urina de indivíduos não expostos ocupacionalmente. Os valores encontrados por vários autores são bastante variáveis. MIDIO⁵⁷, por exemplo, cita valores de 0,06 a 0,43 mg/g creatinina. No presente trabalho tal fato foi, também, observado; o intervalo entre as concentrações foram de 96 a 2147 $\mu\text{g/L}$ no Grupo I e de 69 a 2248 $\mu\text{g/L}$ no Grupo II. ELINDER et al.²⁸, relatam que a eliminação de zinco é maior em urina de fumantes, quando comparadas com as de não fumantes. Essa diferença, contudo, não foi considerada como significativa.

Foi verificada a correlação entre teores de metais encontrados nas amostras de fumantes e não fumantes, aplicando o Coeficiente de Correlação de Pearson. Os resultados obtidos (Tabelas XX e XXI) indicam que não há correlação entre Cd x Mn, Cd x Zn e Mn x Zn, nos dois grupos.

Conforme foi mencionado anteriormente, as referências de trabalhos sobre íons metálicos presentes no tabaco são es

cassos na literatura universal, e praticamente nulos entre nós. Assim, não foi possível fazer uma comparação dos valores obtidos com os tolerados, pela falta do estabelecimento de limites de tolerância de metais no tabaco. O assunto, entretanto, deveria merecer maior atenção, pois é indiscutível que aos efeitos adversos causados pelos já tão estudados constituintes orgânicos do cigarro, não pode deixar de ser somado o risco da ação tóxica decorrente da interação dos metais.

6 - CONCLUSÕES

- 1 - A espectrometria de fluorescência atômica (PLASMA/AFS), nas condições padronizadas no trabalho, mostrou ser técnica adequada para a determinação simultânea de Cd, Cr, Fe, Mn e Zn, em solução aquosa e de Cd, Mn e Zn em solução orgânica.
- 2 - As técnicas propostas para separação e/ou concentração dos metais em amostras de tabaco e urina, apresentaram resultados satisfatórios.
- 3 - Nas amostras de tabaco provenientes de cigarros comercializados na região de São Paulo, foram encontrados os seguintes teores médios de metais (em $\mu\text{g/g}$ tabaco):
 - cádmio : 0,78
 - cromo : 6,71
 - ferro : 312
 - manganês: 162
 - zinco : 40
- 4 - O estudo estatístico dos resultados obtidos pela análise das amostras de cigarro, indicou que as marcas analisadas são diferentes entre si quanto aos teores dos metais estudados.
- 5 - Nas sete diferentes marcas de cigarro analisadas foram encontradas correlações significativas:
 - positivas entre os teores de Cr x Fe, Cr x Mn, Fe x Mn;
 - negativas entre os teores de Cd x Mn e Cd x Fe;
 - os teores de Zn apresentaram dispersão de resultados.

6 - Os valores médios encontrados na determinação do tiocianato urinário foram ($\mu\text{mol/L}$):

GRUPO I (fumantes) $8,24 \pm 4,50$

GRUPO II (não fumantes) $3,95 \pm 1,39$

7 - Não foi encontrada correlação significativa entre os valores determinados do tiocianato urinário do Grupo I (fumantes) e o número de cigarros consumidos por dia.

8 - Os valores médios encontrados em amostras de urina do Grupo I (fumantes) foram ($\mu\text{g/L}$):

Cd - $3,34 \pm 3,11$

Mn - $2,50 \pm 2,36$

Zn - 585 ± 458

9 - Os valores médios encontrados em amostras de urina do Grupo II (não fumantes) foram ($\mu\text{g/L}$):

Cd - $2,63 \pm 2,25$

Mn - $2,88 \pm 3,08$

Zn - 590 ± 412

10 - As concentrações dos metais nas amostras de urina de ambos os Grupos, não apresentaram correlação entre si.

11 - Os Grupos I e II apresentaram diferença quanto às concentrações de Cd e Mn, porém não considerada significativa; para o Zn não foi verificada diferença entre os valores.

X 12 - A análise dos resultados obtidos no trabalho indicam que

seria conveniente estabelecer Limites de Tolerância para os teores de metais no tabaco industrializado.

- 13 - Dada a importância toxicológica do assunto, torna-se imperiosa a necessidade do estudo dos constituintes metálicos presentes na fumaça primária e secundária formada pela combustão do cigarro.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AITIO, A. & JARVISALO, J. - Collection, processing and storage of specimens for biological monitoring of occupational exposure to toxic chemicals. Pure Appl. Chem., London, 56: 549-566, 1984.
2. ALESSIO, L.; BERLIN, A.; DELL'ORTO, A.; TOFFOLETTO, F.; GHEZZI, I. - Reliability of urinary creatinine as a parameter used to adjust values of urinary biological indicators. Int. Arch. Occup. Environ. Health, Berlin, 55(2): 99-106, 1985.
3. ALESSIO, L. & BERTELLI, G. - Examples of biological indicators of metals in occupational health. In: FACCHETTI, S. (Ed.) - Analytical techniques for heavy metals in biological fluids Amsterdam, Elsevier Science Pub., 1983. p. 43.
4. ANGENOT, L. - Composition chimique de la fumée de tabac. J. Pharm. Belg., Brussels., 38(3): 172-180, 1983.
5. ANTUNES, M.H. - Mais um ano ruim para a indústria. Ind. Desenv., São Paulo, 17(3): 14-17, 1984.
6. ARIENS, E.J.; LEHMANN, P.A.; SIMONIS, A.M. - Introducion a la toxicologia general. México, Ed. Diana, 1978. p. 125.
7. ARKIN, H. & COLTON, R.H. - Statistical Methods. Barnes & Noble. 5th Ed.
8. BAIRD CORP. - Instruction manual: Plasma/AFS atomic fluorescence spectrometer, Bedford, s.d. 207 p.
9. BENOWITZ, N.L. - The use of biologic fluid samples in assessing tobacco smoke consumption. In: GRABOWSKI, J. & BELL, C. S. Measurement in the analysis and treatment of smoking behavior. NIDA Res. Monogr., Rockville, (48): 6-26, 1983.

10. BERLIN, A. - Biological monitoring in environmental and occupational health in the european community. In: FACCHETTI, S. (Ed.) - Analytical techniques for heavy metals in biological fluids. Amsterdam, Elsevier Science Pub., 1983. p. 24.

11. BERLIN, A.; ALESSIO, L.; SESANA, G.; DELL'ORTO, A.; GHEZZI, I. - Problems concerning the usefulness of adjustment of urinary cadmium for creatinine and specific gravity. Int. Arch. Occup. Environ. Health., Berlin, 55(2): 107-111, 1985.

12. BLANUSA, M. & BRESKI, D. - Comparison of dry and wet ashing procedures for cadmium and iron determination in biological material by atomic-absorption spectrophotometry. Talanta, St. Louis, 28: 681-686, 1981.

13. BROCKHAUS, A.; FREIER, I.; EWERS, U.; JERMANN, E.; DOLGNER, R. - Levels of cadmium and lead in blood in relation to smoking, sex, occupation, and other factors in an adult population of the FRG. Int. Arch. Occup. Environ. Health, Berlin, 52: 167-175, 1983.

14. CIRLA, A.M.; PISATI, G.; RATTI, R. - Biological evaluation of zinc retention normal values in adult subjects. Med. Lavoro, Milano, 3: 244-250, 1980.

15. COLACIOPPO, S. - Avaliação da exposição profissional a fumos metálicos em operações de solda. São Paulo, Faculdade de Saúde Pública da USP, 1984. 87p. (Tese Doutorado).

16. DELAGE, C.; OUDART, N. & GUICHARD, C. - Détermination du Cadmium par spectrophotométrie d'absorption atomique, envue de concretisations toxicologiques: dosage dans les aliments et le tabac. Ann. Pharm. Fr. Paris, 34(7-8): 315-322, 1976.

17. DEMERS, D.R. & ALLEMAND, C.D. - Atomic fluorescence spectro-
metry with an inductively coupled plasma as atomization
cell and pulsed hollow cathode lamps for excitation. Anal.
Chem., Washington, 53: 1915-1921, 1981.
18. DERMELJ, M.; RAVNIK, V.; BYRNE, A.R.; VAKSELJ, A. - Trace
heavy metals in various Yugoslav tobaccos. Mikrochim. Acta,
Vienna, 1(3-4): 261-270, 1978.
19. DE SILVA, P.E. & DONNAN, M.B. - Chronic cadmium poisoning in
a pigment manufacturing plant. Br. J. Ind. Med., London,
38(1): 76-86, 1981.
20. DIAS, E.P.F. - Perfil analítico da urina de fumantes por cro-
matografia em camada delgada. São Paulo, Faculdade de Ciên-
cias Farmacêuticas da USP, 1984, 131 p. (Dissertação de
Mestrado).
21. DJURIC, D. - Determination of carbon disulphide and its me-
tabolites in biological material. In: BRIEGER, H., TEISINGER,
J., ed: Toxicology of carbon disulphide-proceedings,
Amsterdam, 1-67. Excerpta Medica Foundation, p. 52-61, 1967.
- 22. DJURIC, D.; RAICEVIC, P.; KONSTANTINOVIC, I. - Excretion of
thiocyanates in urine smokers. Arch. Environ. Health,
Washington, 5: 18-21, 1962.
23. DOI, M.L. - Influência do tabagismo e dos anticoncepcionais
orais sobre alguns componentes lipídicos na fração alfa li-
poproteína em mulheres. Faculdade de Ciências Farmacêuti-
cas da USP, 1981. 100 p. (Dissertação de Mestrado).
24. DRASCH, G.; MEYER, L.V.; KAVERT, G. - The detection of heavy

metals from biological material by gas-liquid chromatography via the diethyldithiocarbamates. In: OLIVER, J. S. (Ed.) - Forensic Toxicology. London, Croom Helm Ltd., 1980. p. 60-66.

25. DRASCH, G.; KAUERT, G. & MEYER, L. - Cadmium body burden of an occupationally non burdened population in southern Bavaria (FRG). Int. Arch. Occup. Environ. Health, Berlin, 55 (2): 141-148, 1985.
26. ELINDER, C.G.; FRIBERG, L.; LIND, B.; JAWAID, M. - Lead and cadmium levels in blood samples from the general population of Sweden. Environ. Res., New York, 30(1): 233-253, 1983.
27. ELINDER, C.G.; KJELLSTROEM, T.; LIND, B.; LINMAN, L.; PISCATOR, M. & SUNDSTEDD, K. - Cadmium exposure from smoking cigarettes: variations with time and country where purchased. Environ. Res., New York, 32(1): 220-227, 1983.
28. ELINDER, C.G.; KJELLSTRÖM, T.; LINNMAN, L. & PERSHAGEN, G. - Urinary excretion of cadmium and zinc among persons from Sweden. Environ. Res., New York, 15(3): 473-484, 1978.
29. ELKINS, H.; PAGNOTTO, L.D.; SMITH, H.L. - Concentration adjustments in urinalysis. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., Akron, 35: 559-565, 1974.
30. EWERS, U.; BROCKHAUS, A.; OLGNER, R.; FREIER, I.; JERMANN, E.; BERNARD, A.; STILLER-WINKLER, R.; HAHN, R.; MANOJLOVIC, N. - Environmental exposure to cadmium and renal function of elderly women living in cadmium - polluted areas of the Federal Republic of Germany. Int. Arch. Accup. Environ. Health, 55(3): 217-239, 1985.

31. FALK, H.L. - Chemical agents in cigarette smoke. In: LEE, D. H. Handbook of physiology. Bethesda, American Physiological Society, 1977. p. 199-211.
32. FREDERIKSEN, L.W. - Evaluation of smoking risk: some proposed minimum standards. In: GRABOWSKI, J. & BELL, C.S. Measurement in the analysis and treatment of smoking behavior. NIDA Res. Monog., Rockville, (48): 90-95, 1983.
33. FRIBERG, L. & ELINDER, C.G. - Cadmium. In: INTERNATIONAL LABOUR OFFICE. Encyclopaedia of Occupational Health and Safety. Geneva, 3^d Ed., 1983. p. 357.
34. FRIBERG, L.; NORDBERG, G.F.; VONK, V.B. - Handbook on the toxicology of metals. Amsterdam, Elsevier, 1979. p. 355-381.
35. FRIBERG, L. & VAHTER, M. - WHO/UNEP Pilot Project on assessment of human exposure to pollutants through biological monitoring - metals component. In: FACCHETTI, S. (Ed.). Analytical techniques for heavy metals in biological fluids. Amsterdam, Elsevier Science Pub., 1983. p. 3.
36. FRIBERG, L. & VAHTER, M. - Assessment of exposure to lead and cadmium through biological monitoring: Results of a UNEP/WHO global study. Environ. Res., New York, 30(1): 95-128, 1983.
37. GHEZZI, I.; TOFFOLETTO, F.; SESANA, G.; FAGIOLI, M.G.; MICHELI, A.; DI SILVESTRO, P.; ZOCCHETTI, C.; ALESSIO, L. - Behaviour of biological indicators of cadmium in relation to occupational exposure. Int. Arch. Occup. Environ. Health, Berlin, 55(2): 133-140, 1985.

38. GRABOWSKI, J. & BELL, C.S. - Measurement in the analysis and treatment of smoking behavior. NIDA - Res. Monog., Rockville, (48), 1983. 121p.

39. GRAUL, R.J. & STANLEY, R.L. - Specific gravity adjustment of urine analysis results. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., Akron, 43 (11): 863, 1982.

40. GROOT, G. & SANGSTER, B. - Determination of urinary cadmium excretion as diagnostic procedure to evaluate cadmium exposure of inhabitants of a polluted quarter of stadskanaal. Fresenius Z. Anal. Chem., Wiesbaden, 317: 433-437, 1984.

41. HAMMOND, P.B. & BELILES, R.P. - Metals. In: DOULL, J.; KLAASSEM, C.D. & AMDUR, N.O. ed - Toxicology: the basic science of poisons. New York, Mc Millan Publ., 1980, p. 409-467.

42. HASSLER, E.; LIND, B.; PISCATOR, M. - Cadmium in blood and urine related to present and past exposure. A study of workers in an alkaline battery factory. Br. J. Ind. Med., London, 40(4): 420-425, 1983.

43. INTERNATIONAL LABOUR OFFICE Geneva. - Encyclopaedia of Occupational Health and Safety. 3^d Ed., 1983. p. 2071.

44. IWA0, S.; TSUCHIYA, K. & SUGITA, M. - Variation of cadmium accumulation among Japanese. Arch. Environ. Health, Washington, 38(3): 156-162, 1983.

45. JAWAID, M.; LIND, B. & ELINDER, C.G. - Determination of cadmium in urine by extraction of flameless atomic-absorption spectrophotometry. Talanta, St. Louis, 30(7): 509-513, 1983.

46. JESSEN, H.; KRUSE, H. & PIECHOTOWSKI, I. - Cadmiumkonzentrationen im Blut von Stadt - und Inselbewohnern in Schleswig-Holstein. Int. Arch. Occup. Environ. Health, Berlin, 54 (1): 45-54, 1984.
47. KALLIOMÄKI, P.L.; RAHKONEN, E.; VAARANEN, V.; KALLIOMÄKI, K. & AITTONIEMI, K. - Lung-retained contaminants, urinary chromium and nickel among stainless steel welders. Int. Arch. Occup. Environ. Health, Berlin, 49(1): 67-75, 1981.
48. KOSINSKI, M.A.; UCHIDA, H. & WINEFORDNER, J.D. - Atomic fluorescence spectrometry with inductively coupled plasma as excitation source and atomization cell. Anal. Chem., Washington, 55: 688-692, 1983.
49. LANCIONE, R.L. & DREW, D.M. - AFS technique gives error-free analysis of precious metals. Ind. Res. Dev., Chicago, 25 (2): 100-104, 1983.
50. LANCIONE, R.L. & DREW, D.M. - Application of inductively coupled plasma atomic fluorescence. Spectrometry in the steel industry. BAIRD CORP., Bedford, 1983.
51. LANCIONE, R.L. & DREW, D.M. - Use of oxygen to simplify oil analysis by ICP atomic fluorescence spectrometry. BAIRD CORP., Bedford, s.d.
52. LOON, J.C.V. - Atomic fluorescence spectrometry present status and future prospects. Anal. Chem., Washington, 53(2): 332A-361A, 1981.
53. LUNDQUIST, P.; MARTENSSON, J.; SORBO, B.; OHMAN, S. - Method for determining thiocyanate in serum and urine, Clin.

Chem., New York, 25(5): 678-81, 1979.

54. MENDEN, E.E.; ELIA, V.J.; MICHAEL, L.W.; PETERING, H.G. - Distribution of cadmium and nickel of tobacco during cigarette smoking. Environ. Sci. Technol., 6(9), 830-832, 1972. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 77: 148-247w, 1972.
55. MENZEL, D.B.; MCCLELLAN, R.O. - Toxic responses of the respiratory system. In: DOULL, J.; KLASSEN, C.D.; AMDUR, M. O. (Ed.). Toxicology the basic science of poisons. New York, McMillan Publ., 1980. p. 246-274.
56. MICHEL, R.G.; HALL, M.L.; OTTAWAY, J.M. - Determination of cadmium in blood and urine by flame atomic-fluorescence spectrometry. Analyst, London, 104: 491-504, 1979.
57. MIDIO, A.F. - Excreção urinária de zinco em trabalhadores expostos ao sulfeto de carbono. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, 1979. 54 p. (Tese Doutorado).
58. MINISTÉRIO DA SAÚDE - Portaria GAB/SNVS nº 22 de 18 de maio de 1984.
59. MIYAZAKI, A.; KIMURA, A.; BANSO, K.; UMEZAKI Y. - Simultaneous determination of heavy metals in waters by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry after extraction into diisobutyl ketone. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 144: 213-221, 1982.
60. MONROE, C.B. - The role of biological monitoring in medical and environmental surveillance. In: CHOUDHAY, G. (Ed.) - Chemical Hazards in the Workplace measurement and control. Washington, ACS Symposium Series - 149, 1981. p. 223-233.

61. MOREAU, T.; ORSSAUD, G.; LELLOUCH, J.; CLAUDE, J.R.; JUGUET, B.; FESTY, B. - Blood cadmium levels in a general male population with special reference to smoking. Arch. Environ. Health, Washington, 38(3): 163-167, 1983.
62. MÜLLER, G. - Schwermetallgehalte (Cd, Zn, Pb, Cu, Cr) im tabak häufig in der BR Deutschland gerauchter Zigaretten. Chem. Zgt., Herdelberg, 103(4): 133-137, 1979.
63. MURPHY, S.D. - Pesticides. In: DOULL, J.; KLASSEN, C.D.; AMDUR, M.O. (Ed.). Toxicology the basic science of poisons. New York, McMillan Publ., 1980. p. 357-408.
64. NGOGANG, J.; EBEN-MOUSSI, E.; RAISONNIER, A. - Salivary, urinary and plasma thiocyanate in smokers and non-smokers. Pathol. Biol., Paris, 31(3): 155-160, 1983.
65. OESTERGAARD, K. - Concentrations of cadmium in renal tissue in smokers and non-smokers. Ugeskr. Laeg., Copenhagen, 139(17): 989-990, 1977. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 87: 112737y, 1977.
66. OMENETTO, N. - Review of spectrochemical techniques. In: FACCHETTI, S. (Ed.) - Analytical techniques for heavy metals in biological fluids. Amsterdam, Elsevier Science Pub., 1983. p. 157.
67. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD - Consecuencias del tabaco para la salud. Ginebra, 1974 (Série de Informes Técnicos 568).
68. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD - Lucha contra el tabaquismo epidémico. Ginebra, 1979 (Série de Informes Técnicos, 636).

69. PARKER, C.R. - Water analysis by atomic absorption spectroscopy - Varian Techtron, Springvale, 1972. 78p.
70. PETTIGREW, A.R. & FELL, G.S. - Simplified colorimetric determination of thiocyanate in biological fluids, and its application to investigation of the toxic and amblyopias. Clin. Chem.; New York, 18(9): 996-1000, 1972.
71. ROSEMBERG, J. - Tabagismo, sério problema de saúde pública. São Paulo, Almed - EDUSP, 1981. 370p.
72. SCHALLER, K.H. & ZOBEL, A. - Renal excretion of toxicologically relevant metals in occupationally non-exposed individuals. Aerztl. Lab., Berlin, 28(7): 209-214, 1982.
73. SCOTT, R.; AUGHERY, E.; REILLY, M.; CUNNINGHAM, C.; MCCLELLAND, A.; FELL, G.S.F. - Renal cadmium content in the west of Scotland. Vrol. Res., Berlin, 11(6): 285-290, 1983.
74. SHARMA, R.P.; KJELLSTROM, T.; MCKENZIE, J.M. - Cadmium in blood and urine among smokers and non-smokers with high cadmium intake via food. Toxicology, Shannan, 29: 163-171, 1983.
75. SIQUEIRA, M.E.B. - Avaliação do ácido homovanílico urinário e da adenosina desaminase plasmática como índice da exposição ocupacional ao manganês. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, 1984. 78p. (Tese Doutorado).
76. STAESSEN, J.; BULPITT, C.J.; ROELS, H.; BERNARD, A.; FAGARD, R.; JOOSSENS, J.V.; LAUWERYS, R.; LIJNEN, P.; AMERY, A. - Urinary cadmium and lead concentrations and their relation to blood pressure in a population with low exposure. BR. J. Ind. Med., London, 41: 241-248, 1984.

77. STOEPPLE, M. - General analytical aspects of the determination of lead, cadmium and nickel in biological fluids. In: FACCHETTI, S. (Ed.) - Analytical techniques for heavy metals in biological fluids. Amsterdam, Elsevier Science Pub., 1983. p. 136.
78. SUGIMAE, A. - Determination of trace elements in sea water by inductively-coupled plasma emission spectrometry. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 121: 331-336, 1980.
79. TAO, H.; MIYAZAKI, A.; BANSO, K.; UMEZAKI, Y. - Determination of trace levels of heavy metals in waters by extraction with ammonium tetramethylenedithiocarbamate and hexamethylenediammonium hexamethylenedithiocarbamate into xylene followed by inductively-coupled plasma emission spectrometry. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 156: 159-168, 1984.
80. WIBOWO, A.A.E.; HERBER, R.F.M.; VAN DEYCK, W.; ZIELHUIS, R. L. - Biological assessment of exposure in factories with second degree usage of cadmium compounds. Int. Arch. Occup. Health, Berlin, 49(3-4): 265-273, 1982.