

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Programa de Pós-Graduação
em Química



Estudo da potencialidade da espectroscopia de infravermelho próximo na análise de cabelo utilizando ferramentas quimiométricas para diferenciar fumantes de não fumante

Leomir Aires Silva de Lima

Dissertação de Mestrado
Natal/RN, julho de 2013

Leomir Aires Silva de Lima

**ESTUDO DA POTENCIALIDADE DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO
PRÓXIMO NA ANÁLISE DE CABELO UTILIZANDO FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS PARA DIFERENCIAR FUMANTES DE NÃO FUMANTES**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química – PPGQ – do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte em cumprimento as exigências para a obtenção do título Mestre em Química.

Orientador: Prof.^o Dr. Robson Fernandes de Farias
Co-orientadora: Prof.^a Dra. Deyse de Souza Dantas

**NATAL-RN
2013**

Divisão de Serviços Técnicos

Catálogo da Publicação na Fonte. UFRN
Biblioteca Setorial do Instituto de Química

Lima, Leonir Aires Silva de.

Estudo da potencialidade da espectroscopia de infravermelho próximo na análise de cabelo utilizando ferramentas quimiométricas para diferenciar fumantes de não fumantes / Leomir Aires Silva de Lima. Natal, RN, 2013
42 f.

Orientador: Robson Fernandes de Farias.
Co-orientadora: Deyse de Souza Dantas

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química. Afetividade. Química. Aulas experimentais.

1. Espectroscopia NIR – Dissertação. 2. Cabelo - Dissertação. 3. Análise Forense - Dissertação. 4. PCA – Dissertação. 5. Nicotina – Dissertação. I. Farias, Robson Fernandes de, II. Dantas, Deyse de Souza. III. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. IV. Título.

RN/UFRN/BSE- Instituto de Química

CDU 543.422.3-74(043)

Leomir Aires Silva de Lima

ESTUDO DA POTENCIALIDADE DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO
PRÓXIMO NA ANÁLISE DE CABELO UTILIZANDO FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS PARA DIFERENCIAR FUMANTES DE NÃO FUMANTES

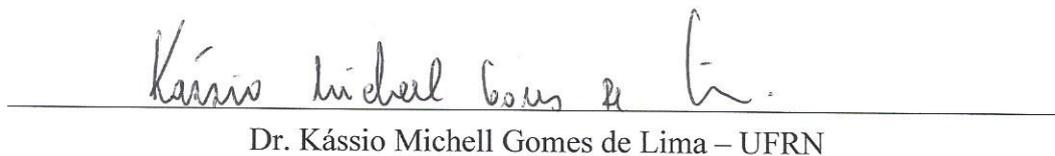
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 23 de julho de 2013.

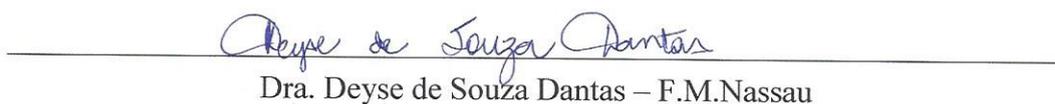
Comissão Examinadora:



Dr. Robson Fernandes de Farias – UFRN (orientador)



Dr. Kássio Michell Gomes de Lima – UFRN



Dra. Deyse de Souza Dantas – F.M.Nassau



Dra. Alice Aparecida da Matta Chasin – FOC/USP

AGRADECIMENTOS

À Deus acima de tudo.

Aos meus pais Baltazar Francisco de Lima e Terezinha de Jesus Silva de Lima, por todo apoio.

A minha esposa Euclécia Elaine da Silva por toda compreensão e apoio durante essa longa caminhada.

Aos meus irmãos por terem me apoiado a cada dia.

Ao meu orientador, Prof^o. Dr. Robson Fernandes de Farias, pela ajuda e compreensão.

Ao Prof^o. Dr. Kássio Michell G. de Lima pela paciência, compreensão e troca de conhecimentos.

A prof^a. Deyse pelas orientações.

A todo o grupo de quimiometria aplicada pelas horas de dedicação e paciência para com o próximo e todo conhecimento adquirido.

Ao grupo de química inorgânica aplicada, “os gabirus”, pela parceria cotidiana durante toda essa caminhada.

A CAPES pela ajuda de custo e financiamento do trabalho.

RESUMO

Nesse trabalho investiga-se a potencialidade da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) para análise forense de cabelo humano, a fim de diferenciar amostras fumantes de não fumantes, utilizando-se a modelagem quimiométrica como ferramenta analítica. Foram obtidos um total de 19 amostras de cabelo, sendo 9 de indivíduos fumantes e 10 de não fumantes variando sexo, cor do cabelo, idade e tempo de consumo de tabaco, todos coletados diretamente da cabeça dos mesmos na grande Natal-RN. A partir dos espectros NIR, obtidos sem nenhum tratamento prévio das amostras, foi realizado um estudo exploratório dos dados químicos multivariados aplicando-se pré-tratamentos espectrais seguido da análise dos componentes principais (PCA). Após modelagem quimiométrica dos dados, conseguiu-se, sem qualquer outro dado experimental além dos espectros NIR, diferenciarem indivíduos fumantes de não fumantes, demonstrando-se a influência significativa do tabaco na composição química do cabelo, bem como a potencialidade da metodologia na identificação forense.

Palavras-chave: Espectroscopia NIR. Cabelo. Análise Forense. PCA. Nicotina.

ABSTRACT

This paper investigates the potential of near infrared spectroscopy (NIR) for forensic analysis of human hair samples in order to differentiate smokers from nonsmokers, using chemometric modeling as an analytical tool. We obtained a total of 19 hair samples, 9 smokers and 10 nonsmokers varying gender, hair color, age and duration of smoking, all collected directly from the head of the same great Natal-RN. From the NIR spectra obtained without any pretreatment of the samples was performed an exploratory multivariate chemical data by applying spectral pretreatments followed by principal component analysis (PCA). After chemometric modeling of the data was achieved without any experimental data beyond the NIR spectra, differentiate smokers from nonsmokers, by demonstrating the significant influence of tobacco on the chemical composition of hair as well as the potential of the methodology in forensic identification.

Keywords: NIR spectroscopy. Hair. Forensic Analysis. PCA. Nicotine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Evolução de fios de cabelo.....	11
Figura 2 – Estrutura da nicotina.....	12
Figura 3 – Modo de reflectância difusa.....	15
Figura 4 – Modelo do Oscilador Harmônico.....	18
Figura 5 – Relação da quimiometria com outras disciplinas.....	19
Figura 6 – Análise de componentes principais.....	23
Figura 7 – Local de coleta dos fios de cabelo.....	25
Figura 8 – Porta amostra antes e depois de colocar os fios de cabelo.....	28
Figura 9 - Espectros brutos das 19 amostras de cabelo.....	29
Figura 10 - Região de trabalho dos espectros brutos.....	30
Figura 11 - Espectro NIR da amostra 2 no intervalo de 1800 a 2500 nm.....	30
Figura 12 - Espectros das 19 amostras após aplicação dos pré-tratamentos.....	32
Figura 13 – Scores do PCA.....	34
Figura 14 – Número de amostras por tempo de consumo de tabaco.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NIR – Near Infrared

MEV – Microscópio eletrônico de varredura

MID – Middle Infrared

FAR - *FAR Infrared*

PCA – Principal components analysis

PC – Principal component

GC-MS - Gas Chromatography-Mass Spectrometry

EPI - Equipamentos de proteção individual

PLS - Partial Least Squares

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	O PÊLO.....	10
1.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CIGARRO.....	11
1.3	ANÁLISE DE CABELO EM QUÍMICA FORENSE.....	13
1.4	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO.....	14
1.4.1	Vantagens e desvantagens da espectroscopia NIR.....	16
1.4.2	Fundamentação teórica da espectroscopia NIR.....	17
1.5	QUIMIOMETRIA.....	18
1.5.1	Pré-processamento de dados.....	20
1.5.1.1	Centragem na média.....	20
1.5.1.2	Suavização.....	21
1.5.1.3	Derivada.....	22
1.5.2	Pca.....	22
1.6	OBJETIVO DO TRABALHO.....	24
2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	25
2.1	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA.....	25
2.2	INSTRUMENTAÇÃO.....	27
2.2.1	Nir.....	27
2.3	SOFTWARE E ANÁLISE DE DADOS.....	28
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
3.1	ESCOLHA DA REGIÃO DE TRABALHO NO ESPECTRO NIR.....	30

3.2	ANÁLISE DAS BANDAS ASSOCIADAS AO ESPECTRO NIR.....	31
3.3	PRÉ-TRATAMENTO DOS DADOS.....	32
3.4	ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS DADOS.....	32
4	CONCLUSÃO.....	37
4.1	PESPECTIVAS.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38
	ANEXOS.....	41

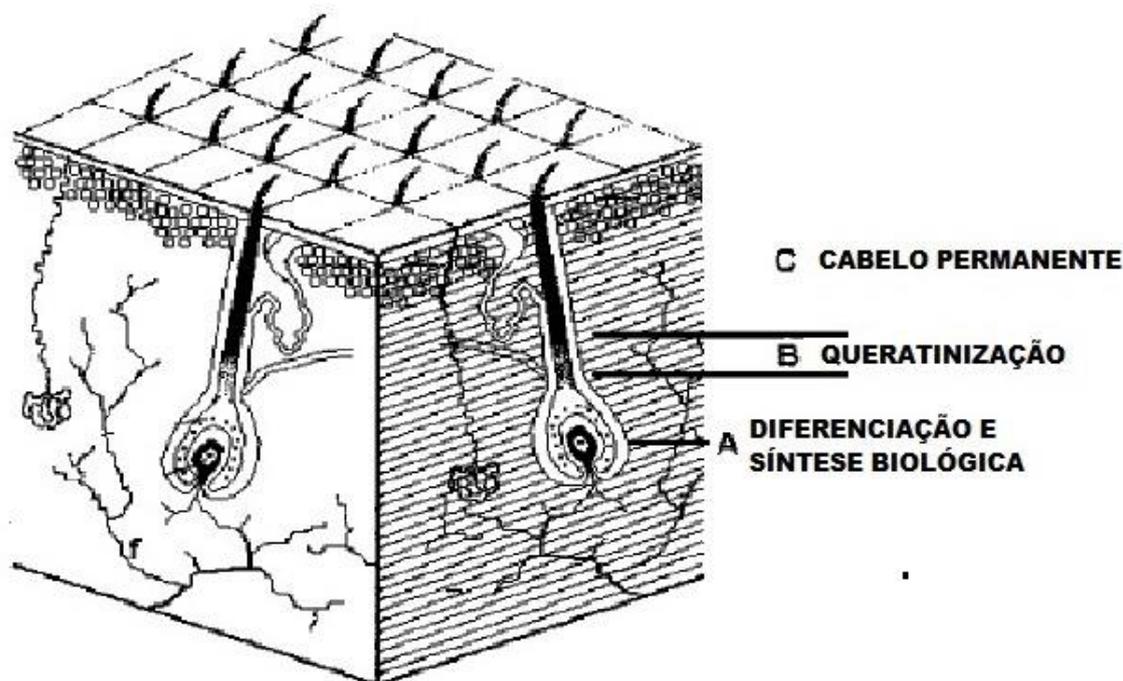
1 INTRODUÇÃO

1.1 O PÊLO

Estudos recentes têm demonstrado que diversos fatores tais como hábitos de vida, meio ambientes e condições de saúde podem influenciar de forma significativa na composição química do pêlo. Um indivíduo tem capacidade de modificar sua estrutura capilar via absorção exógena ou endógena, caracterizada pelo meio que ele está inserido, sua alimentação cotidiana, como também os resíduos produzidos e expostos no ambiente. Foi demonstrado por (CHOJNACKA, GÓRECKA, GÓRECKI, 2006) que pessoas que moram em localidades diferentes apresentam variações na concentração de alguns elementos presentes no pêlo, ou ainda em áreas industriais ou rurais, isso se dá através da água e comida que esses indivíduos ingerem, excretando resíduos com teor diferente, estocado nos fios de pêlo.

O pêlo humano é um tipo de fibra com constituição média de 80% de proteínas, principalmente queratina, 15% de água, 2% de lipídios e 3% de glândulas específicas da região de origem corporal (POZEBON, DRESSLER, CURTIUS, 1999) A taxa média de crescimento dos fios de pêlo é de 1 cm por mês, passando por três etapas até externar o couro cabeludo como mostrado na **Figura 1**. Como o pêlo é considerado um tecido excretor, diversos metabólitos podem estar inalterados e protegidos de degradação por um longo tempo, tornando essa matriz interessante à pesquisa quando comparada ao sangue e urina. Fios de pêlo podem ser testados durante meses e estocados sem precauções mínimas de temperatura, como também se trata de uma coleta não invasiva. Por outro lado, o sangue perde suas propriedades durante algumas horas e a urina em alguns dias, além de serem classificadas como fluidos de natureza biológica sendo sensível a contaminações e riscos de infecção bacteriana.

Figura 1 – Evolução de fios de pêlo



Fonte: Pozebon et al, 1999

Essa matriz recentemente tem se mostrado alvo de pesquisas nos diversos campos, como por exemplo, em (GOTTARDO, FANIGLIULO, SORIO, LIOTTA, BORTOLOTTI, TAGLIARO, 2012) onde se investigou o monitoramento e diferenciação de drogas e metabólitos utilizando eletroforese acoplada a um espectrômetro de massa, ou ainda em (JUDITH, GRONER, HUANG, NICHOLSON, KUCK, BOETTNER, BAUER, 2012) onde se estudou o nível de nicotina em pêlo de crianças expostas a fumaça de cigarro.

1.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CIGARRO

A fumaça do cigarro apresenta forte contribuição para alterações na constituição bioquímica do pêlo por ser um material rico em compostos químicos, sendo em sua maioria substâncias tóxicas à saúde humana. A nicotina não ingressa de forma pura no organismo. Ela está presente no tabaco contido no cigarro e, portanto, é administrada ao organismo com milhares de outras substâncias tóxicas. Tanto os usuários ativos do tabaco como aqueles que inalam apenas fumaça de forma passiva são vítimas dessas substâncias, que diariamente são metabolizados pelo organismo e excretados no pêlo. Um estudo realizado por (BERNERT, ALEXANDER, SOSNOFF, MCGUFFEY, 2011) demonstrou que o tabaco tem comporta dezenas de substâncias cancerígenas

entre outras toxinas. Dentre estas a nicotina e o alcatrão são as mais prejudiciais. A principal substância presente no tabaco e de fácil absorção no organismo é a nicotina, um alcaloide presente no tabaco, que possui como principal metabólito a cotinina. Trata-se de um composto orgânico, uma amina terciária composta de anéis de piridina e pirrolidina, de forma molecular $C_{10}H_{14}N_2$, a **Figura 2** ilustra a estrutura química da nicotina.

Figura 2 – Estrutura da nicotina



Fonte: Autor

A nicotina após absorvida pelo usuário demora em média 2 a 3 horas no sangue, percorrendo todos os tecidos regados pelo fluido e se depositando em grande porcentagem no pêlo. No pêlo, esse alcaloide apresenta maior tempo de retenção quando comparado ao sangue, urina e saliva.

O monóxido de carbono (CO) é um gás altamente tóxico. Este gás tem numerosos efeitos negativos sobre o organismo, sendo o mais importante dificultar o transporte de oxigênio para os tecidos do corpo. O CO tem mais afinidade com a hemoglobina do sangue do que o próprio oxigênio, deixando o corpo do fumante, ativo ou passivo, intoxicado pela fumaça.

Quanto ao alcatrão, este é uma mistura de centenas de substâncias químicas, apresentando-se de forma viscosa e cor negra. Entre as substâncias encontradas no alcatrão, incluem-se substâncias químicas orgânicas e inorgânicas e uma extensa variedade de produtos orgânicos voláteis que são substâncias atuam no desenvolvimento do câncer. O alcatrão também provoca a obstrução dos pulmões e causa perturbações respiratórias e, assim, à semelhança de outros componentes dos cigarros, é responsável pela sua toxicidade, provocando a dependência do tabaco e várias doenças associadas ao seu consumo.

Diversas técnicas têm sido empregadas no estudo do pêlo, principalmente no tocante à identificação de nicotina e seus metabólitos, no qual a que mais se destaca é a cromatografia gasosa com espectrometria de massa. Foi estudado por (APPENZELLERA, MATHONA, SCHUMMERA, ALKERWIB, LAIR, 2012) a quantificação de nicotina em pêlo de fumantes como também (ECHEVERRÍA, NIEMEYER, 2013) utilizando a mesma técnica, investigou a presença de nicotina em pêlo de múmias de São Pedro do Atacama.

Em pequenas doses, a nicotina estimula especialmente o sistema nervoso vegetativo, favorecendo a liberação de adrenalina e, em grandes doses, paralisa o sistema nervoso autônomo provocando convulsões que podem levar à morte.

A cromatografia gasosa com detecção espectrofotométrica com arranjo de diodo na região ultravioleta foi utilizada por (HATZINIKOLAOU, LAGESSON, 2006) para a análise da fumaça de cigarro. Foram identificados mais de 20 compostos voláteis e os principais compostos orgânicos voláteis foram determinados com boa precisão e reprodutibilidade, usando uma única corrida cromatográfica, executada em menos de 50 minutos.

1.3 ANÁLISE DE PÊLO EM QUÍMICA FORENSE

A química forense é puramente uma aplicação da química analítica e começou a ser utilizada com os romanos, onde na literatura, há relatos de um caso de envenenamento, onde o crime aconteceu em 82 A.C., mas somente 250 anos depois pode ser desvendado. A química forense existe onde a ciência e a lei se sobrepõem (BELL, 2006). O termo forense tem associação ao latim *Forum* – Lugar aonde os romanos conduziam negócios e procedimentos legais.

Na rotina dos laboratórios forense, diante de um caso, se segue uma linha de raciocínio simples seguido em três passos: Identificação, Classificação e Individualização da amostra. Primeiramente a identificação, onde análises tanto qualitativas quanto quantitativas são realizadas a fim de se conhecer a natureza da amostra. O segundo passo é a classificação no qual é investigada a procedência da amostra, onde são investigadas as possíveis fontes de onde a mesma pode ter sido gerada. Por fim trabalha-se a individualização da amostra onde um estudo aprofundado do caso é realizado interligando possíveis suspeitos aos dados obtidos nas etapas passadas.

A matriz pêlo tem despertado o interesse de diversos campos das ciências forenses devido à capacidade de preservação dos resíduos excretados na fibra, sendo também o único recurso para analisar drogas em pessoas falecidas. Utilizando técnicas termogravimétricas (FARIAS, PINTO, 2008) demonstrou que há diferença, no que diz respeito a perda de massa por degradação térmica das

queratinas, entre pêlo de indivíduos de diferentes sexo, como também há diferença entre pêlos de partes distintas do corpo. Em alimentos também tem se desenvolvido pesquisas utilizando pêlo como demonstrado em (NEUBERGER, JOPP, GRAW, PÜSCHEL, GISELA, 2013), onde se analisou isótopos de carbono e nitrogênio para reconstrução da vida nutricional de pacientes com anorexia, onde os mesmos podem ter sido vítimas de negligência alimentar e assim podendo fazer útil às leis implantadas na vara cível.

Inúmeras drogas podem ser identificadas em amostras de pêlo, podendo assim haver a realização de investigações cada vez mais conclusivas como demonstrado no estudo de (FAVRETTO, VOGLIARDI, STOCCHERO, NALESSO, TUCCI, TERRANOVA, FERRARA, 2013) que investigou a presença de substâncias alucinógenas em pêlo de usuários de drogas, podendo assim traçar padrões que auxiliem a elucidação de crimes.

Recentemente foi realizado um estudo por (JACKSON, MAYNARD, CAVANAGH-STEER, DUSTING, ROUX, 2013) onde se analisou partículas de vidro em pêlo de trabalhadores da indústria de vidro e indivíduos que não trabalhavam com vidro, onde foi demonstrado que há diferenças significativas no pêlo de ambos os grupos alvo do estudo, assegurando assim que as normas de segurança no trabalho e os equipamentos de proteção individual (EPI) sejam de aplicação obrigatória sob a custódia da lei.

Com isso, a análise de pêlo vem complementar a evolução de novas metodologias, as quais merecem ser estudadas a fim de auxiliar e evoluir o conhecimento diretamente na suposta fronteira entre a pesquisa e a perícia.

1.4 ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)

A região do NIR foi a primeira faixa do espectro não visível a ser descoberta, porém sua utilização como ferramenta analítica só ocorreu muito tempo depois sendo utilizada em pesquisas em alimentos. A radiação infravermelha compreende a faixa de 780 a 100000 nm. O espectro do infravermelho é dividido em infravermelho próximo (*NearInfraRed*– NIR), infravermelho médio (*MiddleInfrared*– MID) e infravermelho distante (*FAR Infrared*– FAR). A **Tabela 1** abaixo apresenta os limites aproximados para cada região.

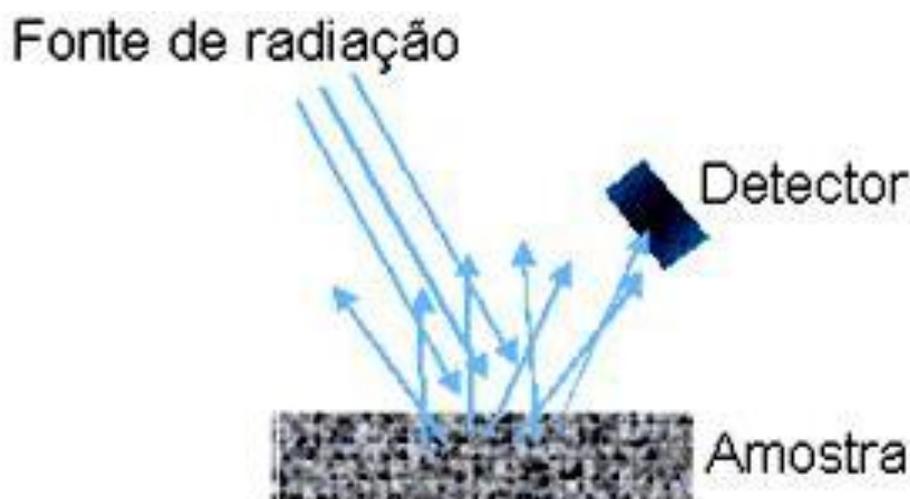
Tabela 1 – regiões espectrais do infravermelho

Região	Intervalos em números de onda (cm^{-1})	Intervalo em comprimento de onda, λ [nm]
Próximo (NIR)	12800 – 4000	780 – 2500
Médio (MID)	4000 – 200	2500 – 5000
Distante (FAR)	200 – 10	5000 – 10000

Fonte: SKOOG et al., 2002

Na região NIR, as ocorrências espectrais correspondem aos sinais de absorção, transmitância e também reflectância, que estão relacionados aos sobretons e combinações de transições fundamentais que ocorrem na região do MID. As ligações envolvidas nas transições vibracionais ativas no NIR são tipicamente C–H, N–H e O–H. Tal processo ocorre em todas as direções da superfície como consequência dos processos de absorção e dispersão e predomina quando os materiais são fracamente absorventes e quando a penetração da radiação é grande em relação ao comprimento de onda incidente, facilitando a obtenção de sinais a partir de amostras sólidas sem um prévio tratamento químico como realizado nos fios de pêlo.

Dentre os mecanismos de medida na região do infravermelho próximo, a reflectância é o mais utilizado para análise de amostras sólidas. Os espectros de reflectância, embora semelhantes na aparência, não são idênticos aos espectros de absorção correspondentes, pois carregam tanto informação química quanto física, podendo ser utilizados tanto para análises qualitativas como quantitativas.

Figura 3 – Modo de reflectância difusa

Fonte: Moreira, 2009

A espectrometria de reflectância difusa no infravermelho próximo é um método capaz de fornecer informações quantitativas a respeito da composição da amostra e, portanto, torna-se uma ferramenta analítica muito útil para análise de diversos tipos de amostras sólidas. Entretanto, os sinais de baixa intensidade, a grande dificuldade em se elaborar uma satisfatória correlação entre os grupos de átomos envolvidos na molécula, bandas de difícil interpretação e de alta complexidade fazem com que o uso da espectrometria NIR para realizar análises precisas e confiáveis, dependa quase que totalmente da utilização de métodos quimiométricos para tratamento de dados multivariados.

Estudos de matrizes sólidas utilizando como ferramenta a espectroscopia NIR têm sido utilizados com êxito como em (NEVES, MORAIS, COSTA, PORTO, LIMA, 2012) que mediu porcentagem de princípio ativo em comprimidos e obteve resultados satisfatórios e compatíveis com os métodos de referência ou ainda em (SOUZA, COELHO, FIGUEIRAS, CUNHA, DART, PARÉS, SIMON, CRUZ, POPPI, SANTOS, BERBARA. 2012) que utilizou a espectroscopia NIR para diferenciação de solos e demonstra a eficiência dessa técnica que por muitos anos foi ignorada pelos químicos analíticos, se tornando atualmente uma eficiente ferramenta de análise.

Na china foi possível diferenciar tipos de plantas de tabaco cultivada em províncias diferentes utilizando a espectroscopia NIR juntamente com ferramentas quimiométrica (NI, ZHANG, XIE, LUO. 2009) e a autenticidade de cigarros pode ser testada em (MOREIRA, PONTES, GALVAO, ARAUJO. 2009) que fez uso de métodos de exploração de dados como o PCA e SIMCA para classificar cigarros de diferentes fabricantes confirmando a eficiência da técnica quando comparado com os métodos tradicionais, inserindo assim uma nova técnica de controle de qualidade de tais produtos.

1.4.1 Vantagens e desvantagens da espectroscopia NIR

A espectroscopia NIR apresenta vantagens do ponto de vista analítico, sendo elas:

- É uma técnica não destrutiva.
- O Tratamento da amostra é mínimo, diminuindo a presença de interferentes químicos e manipulação de resultados fornecendo um sinal mais próximo da realidade, diminuindo também o tempo de análise.
- Tem baixo custo, devido a não utilização de reagentes para tratamento da amostra.
- A técnica permite a detecção de vários analitos sem haver a necessidade de um procedimento para cada deles separadamente.

A NIR não é diferente de outras técnicas apresentando desvantagens analíticas, como:

- É uma técnica dependente da quimiometria para interpretação dos dados devido à complexidade de seu sinal.
- O sinal deve passar por filtros de ajuste como, por exemplo, derivadas para a retirada de ruídos indesejáveis.
- A técnica é pouco sensível na detecção de componentes minoritários.

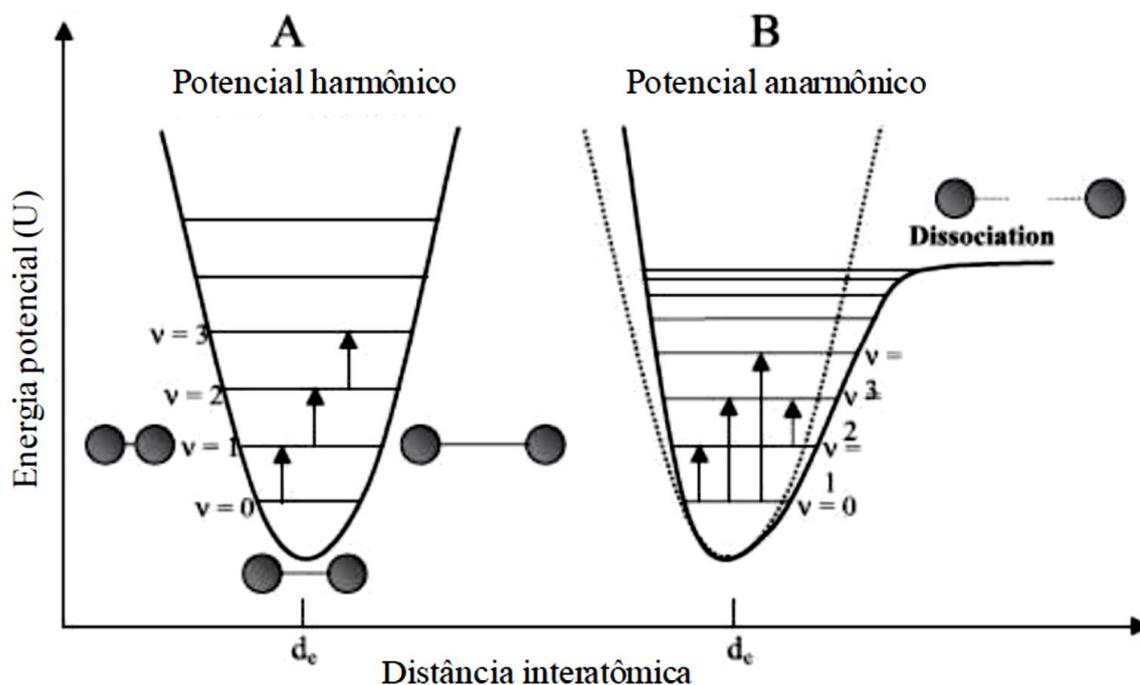
1.4.2 Fundamentação teórica da espectroscopia NIR

Naturalmente, os átomos envolvidos em ligações químicas não estão fixos e estáticos, uma vez que estão continuamente desenvolvendo movimentos vibracionais e rotacionais em torno de um eixo, ou átomo central. Basicamente, tais movimentos podem ser classificados como estiramentos ou deformações angulares, podendo, ambos, serem simétricos ou assimétricos. Os estiramentos são vibrações que ocorrem ao longo do eixo da ligação química, e sua consequência é o alongamento ou encurtamento da ligação. Esse movimento é simétrico quando os átomos vibrantes se afastam e se aproximam do átomo central ao mesmo tempo, ou assimétrico, quando à medida que um átomo vibrante se afasta, o outro se aproxima do átomo central. Por outro lado, as vibrações por deformação angular consistem em movimentos que um átomo realiza e alteram o ângulo de ligação entre três átomos.

Considerando o clássico modelo do oscilador harmônico, a energia potencial (V) de uma vibração será função do afastamento dos átomos. Apesar de útil para o entendimento do conceito de energia vibracional, tal abordagem é falha quando são considerados sistemas microscópicos, como no caso das moléculas, pelo fato de que tais sistemas não assumem perfis contínuos de energia, como seria previsto por esse modelo clássico. De acordo com a mecânica quântica, tais sistemas moleculares só podem assumir níveis discretos de energia.

De acordo com esse modelo quântico/harmônico, as transições entre os diferentes níveis vibracionais adjacentes só podem acontecer quando $\Delta v = \pm 1$. Ainda, essa diferença de energia entre os níveis é sempre a mesma. E, para que uma molécula absorva energia e, conseqüentemente, seja promovida até um nível vibracional excitado, a radiação incidente deve corresponder exatamente à diferença entre os dois níveis energéticos adjacentes.

Figura 4 - (A) Oscilador Harmônico, (B) Oscilador anarmônico



Fonte: NEVES, 2012.

Outro fator importante do modelo harmônico, é que todas as vibrações são independentes entre si, logo, as bandas de combinação NIR também não deveriam ser observadas. Todavia, tanto as bandas de combinação quanto os sobretons existem e são experimentalmente visualizados, na região NIR. A anarmonicidade também pode estar presente nas propriedades elétricas das moléculas. Especificamente, isso irá afetar no momento de dipolo, que em um modelo anarmônico, não tem dependência linear com a distância interatômica. Esse tipo de anarmonicidade pode fornecer caminhos para ocorrência de sobretons e bandas de combinação, mesmo se nenhum desvio mecânico do modelo harmônico for observado no sistema em questão, tornando os espectros NIR ainda mais complexos.

1.5 QUIMIOMETRIA

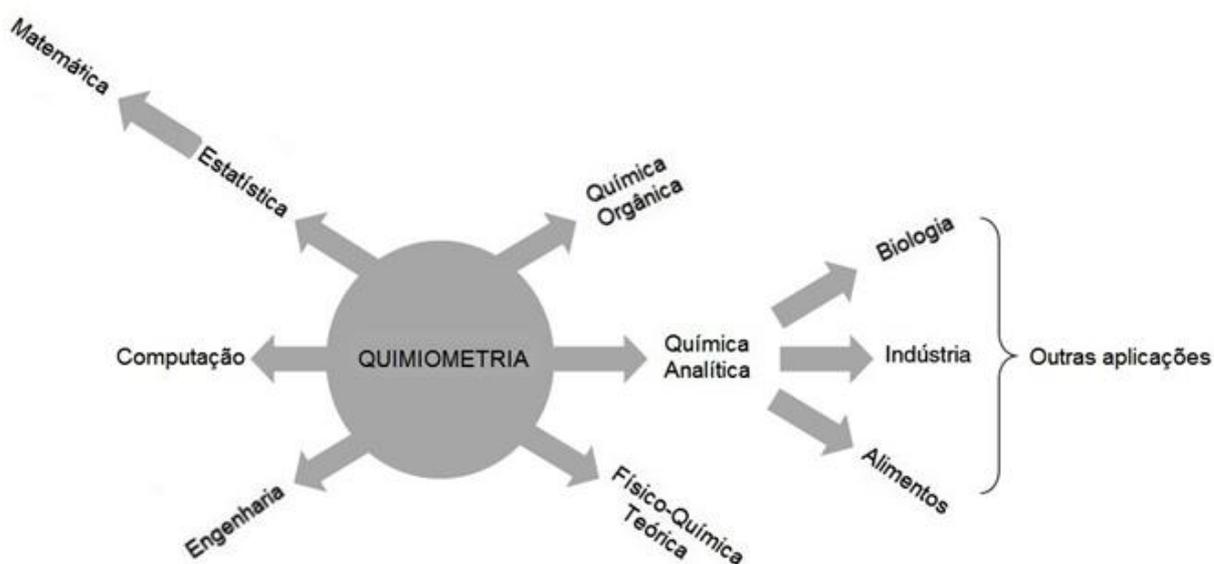
O aprimoramento da tecnologia e avanços das diversas técnicas instrumentais de análises químicas tem impulsionado o crescente desenvolvimento de uma nova área da ciência química, conhecida como quimiometria, que a partir de então tem se tornado uma

ferramenta muito importante nos diversos ramos da ciência, podendo assim superar grandes obstáculos.

A quimiometria é o ramo da química que usa a estatística multivariada no estudo dos fenômenos químicos, no que diz respeito à análise de dados. Com o surgimento dos computadores a quimiometria pode ser difundida, e hoje está cada vez mais inserida nas rotinas laboratoriais e campos de pesquisas. A quimiometria faz uma ligação entre os vários campos da ciência, não se limitando apenas a química e matemática. A sua relação com diferentes disciplinas está mostrada abaixo na **figura 5**.

A Quimiometria auxilia a espectrometria NIR nas mais variadas situações, como pré-processamento dos dados espectrais, planejamento e otimização de experimentos, processamento de sinais, seleção de variáveis e amostras, calibração multivariada, reconhecimento de padrões como também análise exploratória de dados. A área da quimiometria que apresenta grande destaque é o reconhecimento de padrões que pode ser aplicado com diversas finalidades, especialmente na análise exploratória de dados e classificação de objetos. Uma vez que as respostas instrumentais carregam informações químicas e físicas das amostras, a análise exploratória é usada para detecção de padrões de associação nos conjuntos de dados e, a partir destes padrões, é possível se estabelecer relações entre as amostras e variáveis, descobrir amostras anômalas (*outliers*) ou agrupá-las conforme determinadas características.

Figura 5 – Relação da quimiometria com outras disciplinas



Fonte: Autor

A identificação de nicotina em tabaco utilizando métodos multivariados pode ser explorado em (TANA, WANGA, WUA, QINC, LI. 2010) que fez uso da espectroscopia no infravermelho próximo juntamente com regressão de mínimos quadrados parciais (PLS, *do inglês*, Partial Least Squares) para a quantificação rápida de nicotina conseguindo resultados semelhantes aos métodos de referência, demonstrando que métodos exploratórios de dados tem mostrado resultados não conclusivos, porém satisfatório dentro do conjunto de dados em estudo sendo necessário realizar melhorias nos modelos e ajustes nos modelos de calibração multivariada.

1.5.1 Pré-processamento de dados

A área de pré-processamento de sinais apresenta-se como uma área importante e determinante dentro da quimiometria. O princípio comum a todos os diversos métodos de pré-processamento é que os dados contenham o mínimo possível de informações irrelevantes para que possam, então, ser usados na construção de modelos multivariados. Dessa forma, a aplicação de um simples pré-processamento pode causar uma grande melhoria na qualidade do modelo final por maximizar a razão sinal/ruído e a quantidade de informação química referente aos analitos, ignorando a presença de efeitos físicos que causam variações aleatórias e sistemáticas às medidas instrumentais. Atualmente, diversos são os métodos de pré-processamento existentes. Dentre eles, o filtro digital ou suavização (do inglês, *smoothing*), o cálculo da derivada, a correção do espalhamento de luz (para o modo de reflectância) e a centragem na média (do inglês, *mean centering*) tem um papel de destaque em dados espectroscópicos complexos, como os espectros NIR.

1.5.1.1 Centragem na média

A centragem na média é um dos pré-tratamentos mais simples e também mais utilizados em estatística. Primeiramente, calcula-se a média de cada variável, conforme a equação abaixo:

$$X_{cj} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_{ij} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde X_{cj} é a matriz dos dados X_{ij} contido em uma coluna (variáveis). Em seguida, subtraem-se os dados originais pela média calculada:

$$X_{ij(cm)} = X_{ij} - X_{cj} \quad \text{Eq. 2}$$

Esse pré-tratamento é utilizado com o objetivo de diminuir a flutuação do sinal analítico (*offset*) que pode ocorrer devido a efeitos físicos ou erros sistemáticos. Após essa correção, as flutuações no sistema são causadas devido à composição química das amostras.

1.5.1.2 Suavização

Esse tipo de pré-tratamento tem o objetivo de aumentar a relação sinal/ruído o quanto for possível, uma vez que quanto maior for essa medição, maior será a intensidade do sinal em comparação ao “branco” (*background*). Os melhores métodos de suavização são aqueles que pesam os dados originais diferentemente através de operações polinomiais e não por funções lineares, pois estas tendem a diminuir a intensidade no ponto central do pico, levando a perda de informação. A suavização Savitzky-Golay é um tipo de filtro polinomial dos mais utilizados em dados espectrais e consistem em aplicar regressões polinomiais através de uma janela de k pontos, movendo-se um ponto por vez. Os coeficientes da função calculam o valor do ponto central da janela, que será o valor suavizado, conforme a equação 3 abaixo:

$$y_k^* = \frac{1}{\text{NORM}} \sum_{j=-m}^{j=m} c_j y_{k+j} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde NORM é o fator de normalização obtido a partir do somatório dos coeficientes C_j .

Ao se utilizar a suavização é importante determinar a melhor largura da janela de pontos para cada conjunto de dados em particular. Quando a suavização é feita em excesso os picos dos sinais são prejudicados tanto em intensidade quanto em resolução. Se, por outro lado, a suavização aplicada não for suficiente, mesmo após a sua utilização o ruído ainda permanecerá.

1.5.1.3 Derivada

O cálculo das derivadas é comumente empregado em dados espectroscópicos para remover deslocamentos de linha de base e espalhamentos ou flutuações do sinal analítico, e também para melhorar a resolução espectral³⁶. Um dos métodos mais utilizados e de abordagem sofisticada foi desenvolvido por Savitzky-Golay que, da mesma forma que na suavização, aplica regressões polinomiais para o cálculo de derivadas de primeira ou segunda ordem. Também é necessário selecionar uma janela de pontos (medidas instrumentais) nos quais será aplicada a derivada. A derivada de primeira ordem iguala à zero o ponto central de um pico, sendo esse um bom modo de localizar precisamente a posição de picos largos. Entretanto, a diferenciação pode trazer algumas desvantagens como a diminuição da razão sinal/ruído, uma vez que tal cálculo tende a amplificar o ruído, especialmente em dados muito ruidosos. Para evitar tal efeito, é indicado que junto à aplicação da derivada seja realizada uma suavização nos dados.

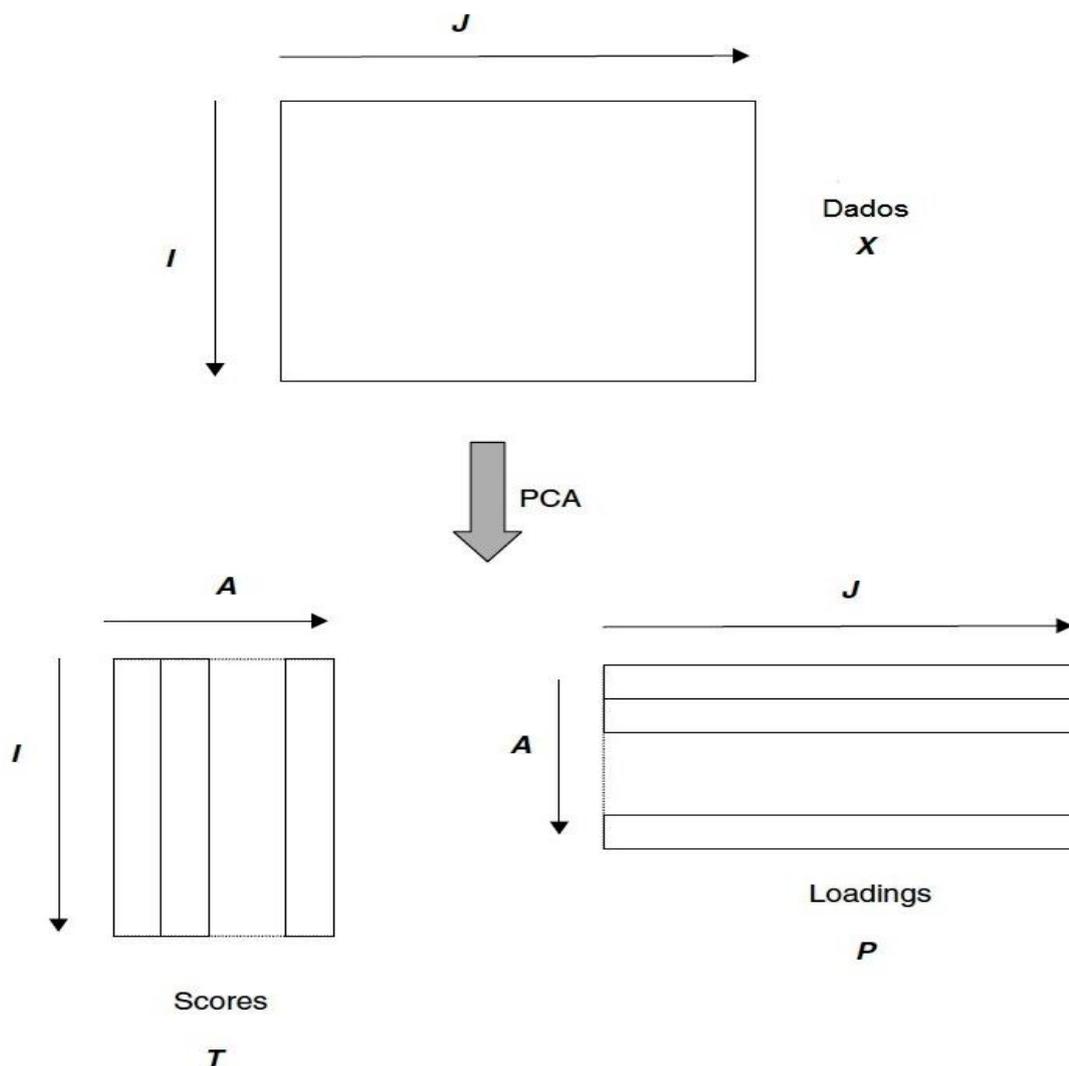
1.5.2 PCA

A PCA é o método de análise exploratória de dados mais utilizado na quimiometria. A partir de um grande conjunto de dados, a PCA permite fazer uma redução em um novo sistema, chamado Componente Principal (PC), o que possibilita a visualização da natureza multivariada dos dados em dimensões inferiores. As PC's são as representações dos novos eixos formados a partir da combinação linear das variáveis originais e nelas estão contidas as informações mais relevantes dos dados. Elas são sempre ortogonais (perpendiculares) umas as outras, e sucessivas PC's descrevem quantidades decrescentes da variância explicada dos dados.

Matematicamente, uma matriz de dados X é decomposta no produto de duas outras matrizes, denominadas *scores*(T) e *loadings* (P), somadas a uma matriz *erro*(E) (BRERETON, 2003), como mostrado na equação 4.

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{P} + \mathbf{E} \quad \text{Eq. 4}$$

Os scores correspondem a projeção das amostras em um vetor de dados formado pelos PC's, indicando a similaridade entre as amostras e os loadings corresponde ao peso que cada variável tem no conjunto de dados, demonstrando, portanto, a contribuição de cada variável na determinação de um PC. Contudo, o erro tem a função de regular o produto $T \cdot P$, sendo assim quando esse erro tende a zero a variabilidade do sistema é explicada.

Figura 6 – Análise de componentes principais

Fonte: BRERETON, 2003

Observando os gráficos e fazendo uma análise conjunta de scores e loadings é possível identificar quais variáveis são responsáveis pela diferenciação identificada nas amostras.

Os métodos estatísticos matemáticos multivariados são ferramentas muito sensíveis a pequenas mudanças ou flutuações em um conjunto de dados, principalmente no que diz respeito aos erros sistemáticos. Todo método quimiométrico é influenciado pelo método de pré-processamento de dados ou pela preparação previa da informação para aplicação do algoritmo matemático (BRERETON, 2003).

Foi possível em (MOREIRA, PONTES, GALVAO, ARAUJO. 2009) identificar a falsificação de cigarros dentre lotes distintos utilizando PCA juntamente com outras técnicas quimiométrica, onde o método utilizado conseguiu separar as amostras em distintas classes.

1.6 OBJETIVO DO TRABALHO

Atualmente, encontrar na literatura métodos de análise que apresentem rapidez de resposta, precisão, robustez, seletividade e abrangência é algo extremamente raro. No entanto, para análise de pêlos têm disponível técnicas, tais como, a cromatografia líquida de alto desempenho acoplada à espectrômetros de massa que apresenta resultados satisfatórios quanto à precisão, sendo confrontada com as demais características como também havendo a necessidade de técnico especializado e utilização de reagentes que contaminam e destroem as amostras, tornando essa técnica muito limitada. Tais fatos têm levado ao crescente desenvolvimento de técnicas que simplifiquem esses procedimentos, contemplando as características indispensáveis para esses tipos de análises.

Baseado nos argumentos acima citados, o objetivo desse trabalho é estudar a potencialidade da espectroscopia de infravermelho próximo auxiliada por métodos quimiométricos para analisar pêlos de diferentes indivíduos a fim de diferencia-los quanto pertencentes a indivíduos fumantes e não fumantes sem realizar nenhum tratamento prévio nas amostras, utilizando somente os espectros NIR.

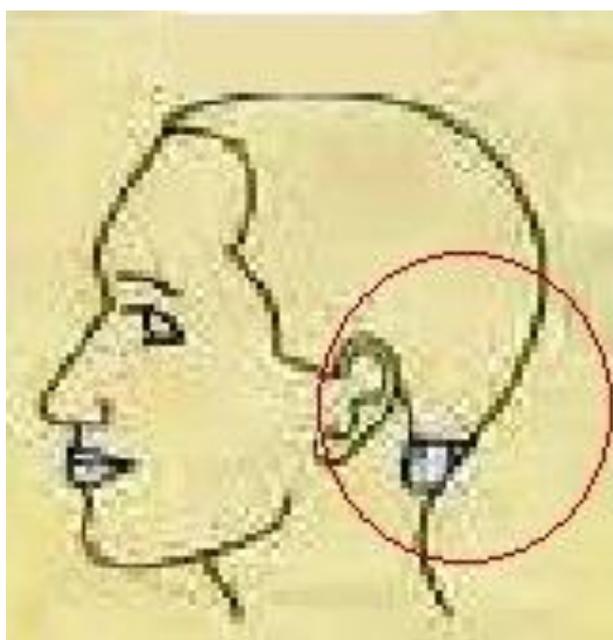
2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Para tal procedimento foram coletadas 20 amostras de pêlo todas provenientes da cabeça do próprio indivíduo sendo, precisamente da parte inferior traseira como está mostrado na **Figura 7**, utilizando uma tesoura se retirou uma mecha com fios de aproximadamente 10 cm de comprimento a uma distância média de 5 a 10 cm da nuca do indivíduo. 10 fumantes e 10 não fumantes foram escolhidos na grande natal-RN.

De todos os escolhidos foram também coletados alguns dados inerentes a pesquisa como: Idade, cor do pêlo, tempo e frequência de uso do tabaco, sexo, histórico de fumantes na família, no qual algumas dessas informações estão descritas na **Tabela 2**.

Figura 7 – Local de coleta dos fios de pêlo



Fonte: Autor

Durante o procedimento de recolhimento de amostra foi utilizado equipamento de proteção individual como luva plástica evitando assim o contato direto da mão do analista com o pêlo evitando assim possível contaminação por resíduos da mão do mesmo para com as amostras.

As amostras foram devidamente armazenadas em sacos plástico seco e livre de umidade, devidamente lacrados com fita adesiva protegido da luz e calor evitando assim algum tipo de contaminação, degradação ou transformação física e/ou química durante o processo de estocagem. Segue abaixo a **Tabela 2** detalhando as amostras.

Tabela 2 – Detalhamento das amostras

Amostra	Sexo ¹	Idade (Anos)	Cor do pêlo [*]	Fumante ^{**} /Tempo (anos)
1	M	49	P	Sim/20
2	F	54	P	Sim/38
3	M	43	P	Sim/22
4	F	50	LT	Sim/37
5	F	68	B	Sim/53
6	M	26	P	Sim/8
7	F	50	P	Sim/35
8	F	73	PT	Sim/63
9	F	74	B	Sim/60
10	M	49	P	Sim/27
11	F	11	P	Não
12	F	27	P	Não
13	F	33	P	Não
14	F	24	P	Não
15	F	15	P	Não
16	F	41	P	Não
17	F	40	P	Não
18	F	11	P	Não
19	M	3	P	Não
20	F	30	P	Não

1. M= Masculino F= Feminino; * P= Preto, B= Branco, T= Tingido, L= Loiro;
 ** S= Sim N= Não

Fonte: Autor

2.2 INSTRUMENTAÇÃO

2.2.1 NIR

Foi utilizado um aparelho NIR modelo FT – NIR – 160D no modo de reflectância difusa. Os espectros foram obtidos com resolução de 8 cm^{-1} 100 scans, em uma faixa de 1000-2500 nm. Foi empregado um porta amostra adaptado para os fios de pêlo confeccionado a partir de uma peça com modelo circular feita de teflon, dando um rasgo de 1cm^3 em todo diâmetro de 5 cm da peça para encaixar os fios utilizados. Segue abaixo na **Figura 8** o porta amostra antes e depois de colocar os fios.

Foi feito uma leitura somente com o porta amostra na ausência dos fios para servir como um espectro branco, sendo assim ao obter os espectros dos fios de pêlo, pode-se retirar a leitura do porta amostra isentando qualquer característica do mesmo na criação do modelo.

Figura 8 – Porta amostra antes e depois de colocar os fios de pêlo



Fonte: Autor

Os 20 espectros foram obtidos de forma aleatória sendo 1(um) para cada amostra e se preocupando em obter todos no mesmo momento, para que o modelo quimiométrico não considere o fator tempo de obtenção como uma variável do processo, tendo em vista que esse pode ser considerado um erro sistemático.

2.3 SOFTWARE E ANÁLISE DE DADOS

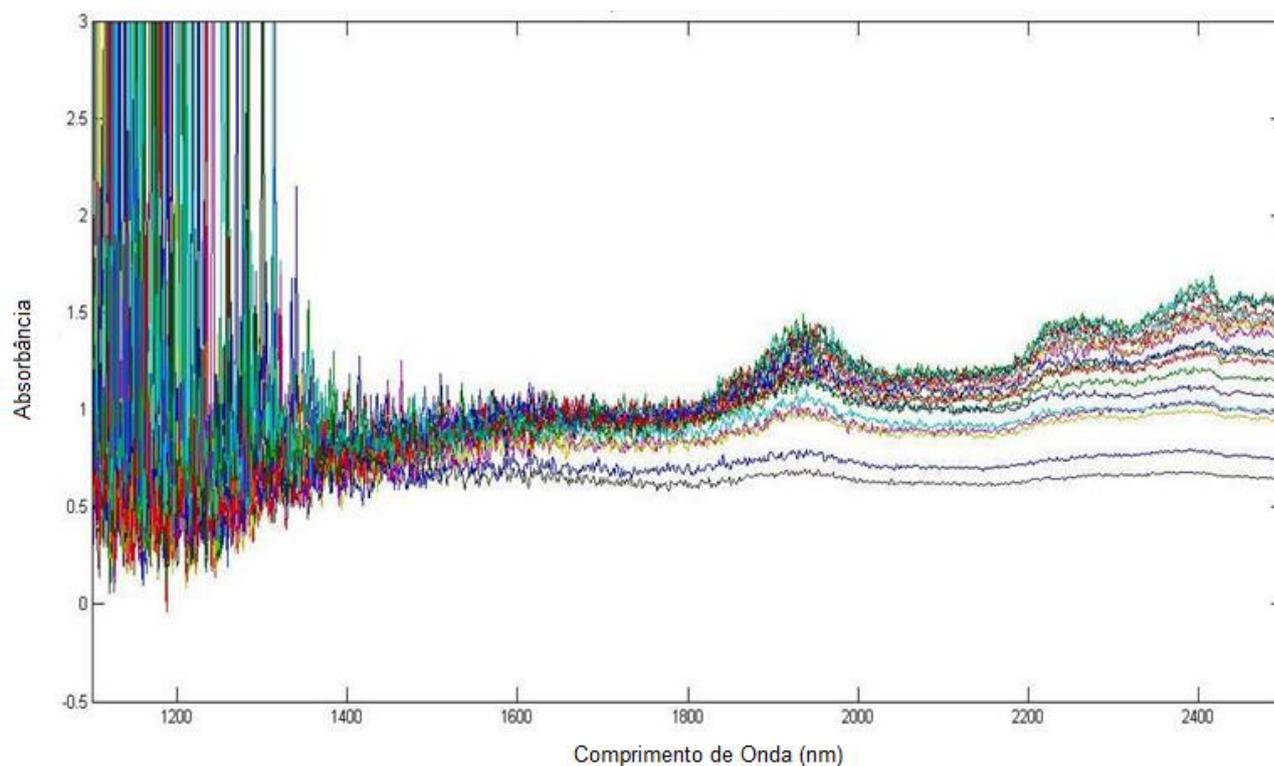
A importação, pré-tratamento e construção do modelo quimiométrico de exploração de dados foi feito com o software MATLAB version 6.5 (The Math-Works, Natick, USA) usando o PLS-toolbox (Eigenvector Research, Inc., Wenatchee, WA, USA, version 6.01). Os dados foram pré-tratados com o método de correção de linha base e a primeira derivada utilizando o algoritmo de savitzky-golay.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ESCOLHA DA REGIÃO DE TRABALHO NO ESPECTRO NIR

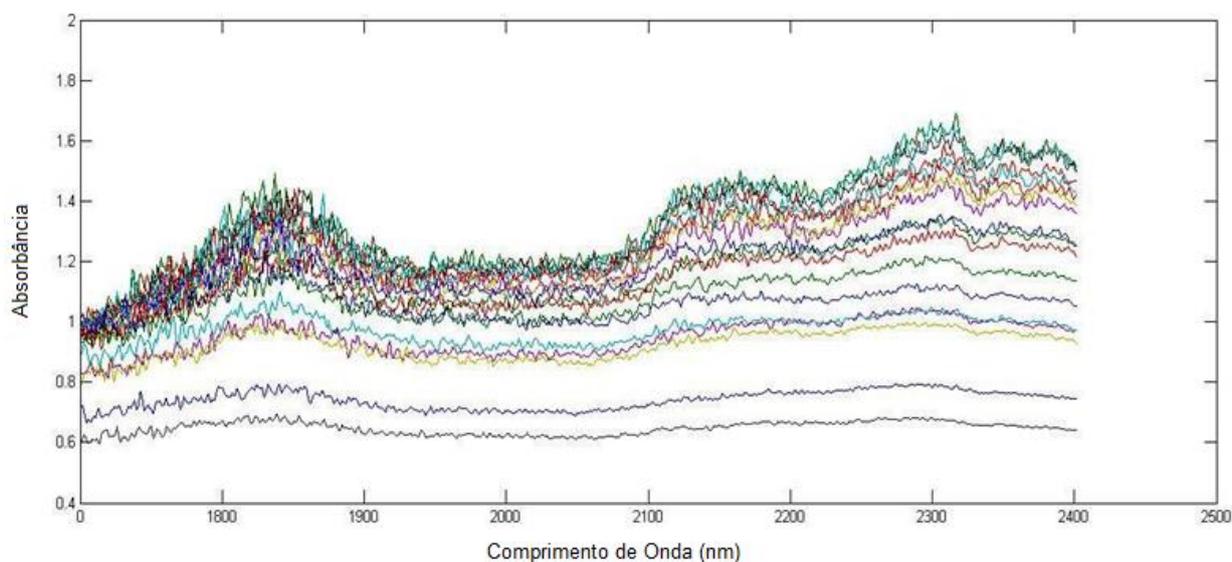
O espectro NIR carrega um sinal muito complexo e sobreposto, além de apresentar ruídos instrumentais e ambientais, o qual dificulta a análise direta do mesmo como mostrado na **figura 9**.

Figura 9 – Espectros brutos das 19 amostras de pêlo



Fonte: Autor

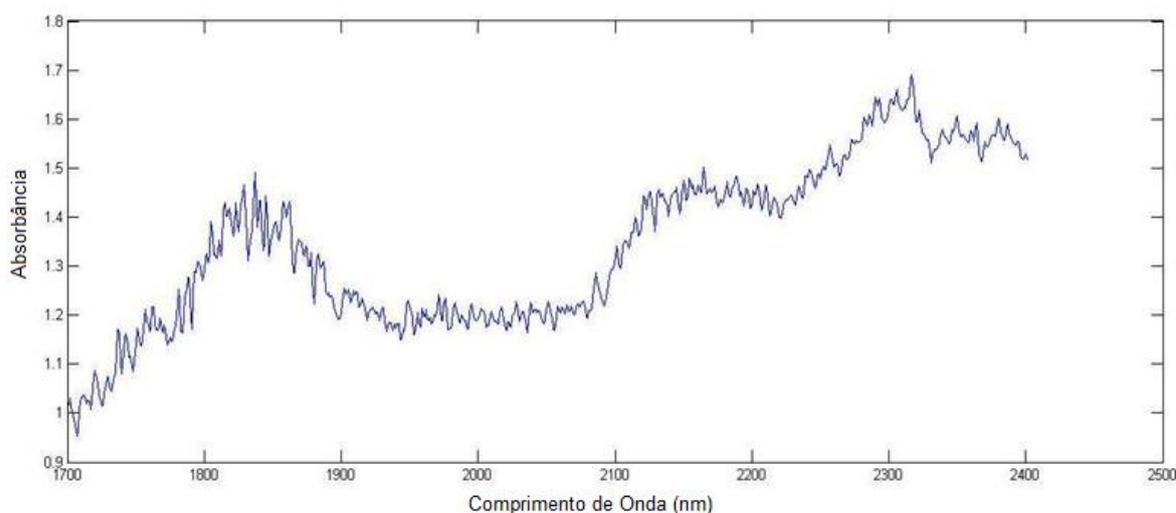
A eliminação de algumas variáveis não informativas (abaixo de 1800nm) e a escolha da região de trabalho (1800 a 2500 nm) se fez devido essa região apresentar faixas de sinal com muito ruído o que conseqüentemente irá provocar erros sistemáticos no modelo. Esses ruídos são causados pelo padrão de reflectância (no caso a peça de teflon mostrada na seção anterior) utilizado na obtenção dos espectros que difere em tons das amostras de cabelo. Contudo, se fez necessária a retirada dessa faixa do espectro a fim de filtrar as informações mais relevantes ao presente estudo. Assim, o espectro utilizado como região de trabalho está demonstrado na **figura 10**.

Figura 10 – Região de trabalho dos espectros brutos

Fonte: Autor

3.2 ANÁLISE DAS BANDAS ASSOCIADAS AO ESPECTRO NIR

Com espectros NIR das amostras de pêlo após escolha da faixa de trabalho **Figura 10**, foi escolhido ao acaso (amostra 2) um espectro individual para visualizar mais claramente as bandas de absorção relevantes para o estudo como mostra a **Figura 11**, sendo esse método supervisionado, se tem o conhecimento necessário para conhecer o comportamento das amostras durante a obtenção do modelo exploratório.

Figura 11 – Espectro NIR da amostra 2 no intervalo de 1800 a 2500 nm.

Fonte: Autor

A primeira banda que aparece na região entre 1800 e 2000 nm com o pico máximo em 1850 nm está associada tanto ao sobreton de transições vibracionais fundamentais relativas a

ligações C=O de grupos carboxílicos e ésteres, como também a bandas de combinação relativas à ligação OH de água. A segunda banda compreende o intervalo de 2100 a 2250 nm que pode ser atribuída a transições vibracionais fundamentais relativas às ligações OH de álcoois, mas principalmente, a bandas de combinação de ligação NH de compostos nitrogenados.

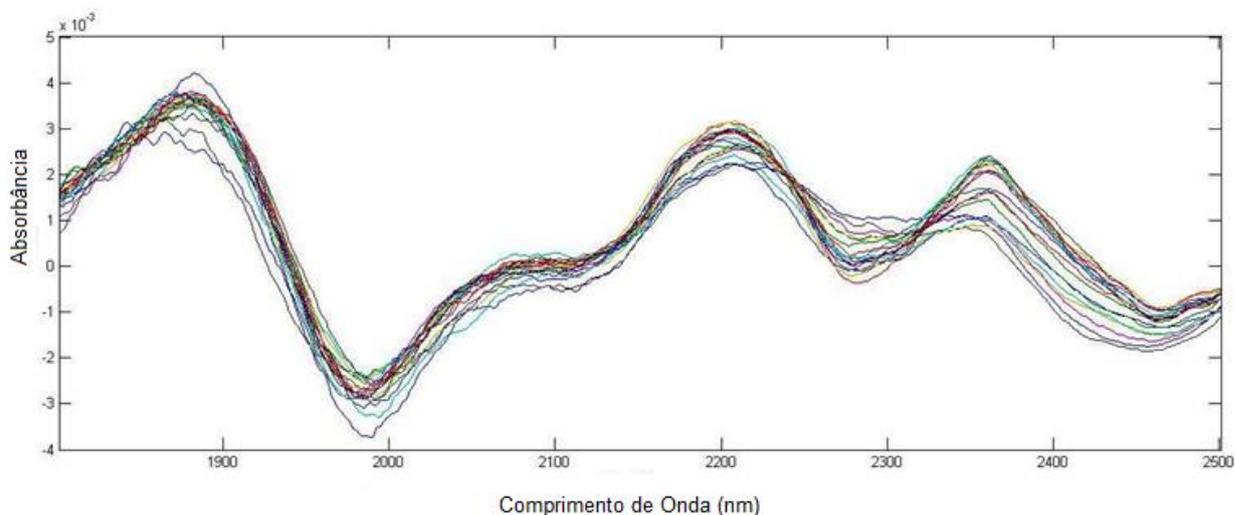
Por fim, há uma terceira banda próximo de 2300 nm podendo ser associada a bandas de combinações relativas às ligações CH e CC de compostos alifáticos e aromáticos, como também das queratinas que compõem o pêlo. Como o cigarro contém milhares de compostos químicos fica complicado a associação de alguma dessas bandas a um composto em específico, mas podemos destacar alguns mais importantes como a nicotina, o metanol, a amônia, o monóxido de carbono e a água, todos eles presentes na composição química do cigarro e possivelmente depositados nos fios de pêlo.

Após a obtenção de todos os espectros pode-se observar que visualmente seria impossível diferenciar as amostras, obviamente, devido à complexidade dos sinais gerados pelo NIR a partir dos pêlos. A natureza multivariada dos espectros é, de forma clara, predominantemente o fator mais decisivo na obtenção dos resultados diante do objeto de estudo. Portanto, devemos analisar os dados utilizando ferramentas multivariadas (quimiométrica) a fim de extrair o máximo de informações relevantes do conjunto de dados e assim apresentar resultados precisamente seguros.

3.3 PRÉ-TRATAMENTO DOS DADOS

Sendo assim, foi importante corrigir esses erros utilizando pré-tratamento espectral para filtrar as informações relevantes no estudo. Durante a obtenção experimental dos espectros houve oscilações na linha base dos mesmos, pois a posição do porta amostra no instrumento é impossível de ser repetida perfeitamente em todos os intervalos, como também há absorção de ruídos instrumentais e ambientais. Para correção desses problemas foram testados vários tipos de pré-tratamento aplicáveis às amostras. Para corrigir a linha base foi utilizada a suavização (*do inglês, smoothing*) e melhores resultados foram alcançados empregando o método de derivação (1ª derivada) de Savitzky-Golay, usando um polinômio de segunda ordem. Os espectros derivados das 20 amostras de pêlo, resultantes da aplicação desses pré-processamentos, são apresentados na **Figura 12**.

Figura 12 – Espectros das 19 amostras após aplicação dos pré-tratamentos



Fonte: Autor

3.4 ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS DADOS

A **Figura 10** mostra um perfil espectral muito semelhante e sobrepostos entre as amostras, isso se dá devido a semelhança na composição química do pêlo analisado como também a natureza complexa dos sinais obtidos pelo NIR, o que torna impossível a distinção das amostras fumantes e não fumantes por uma simples análise visual. Portanto, a fim de investigar se havia diferenciação entre as classes foi aplicado ao conjunto de dados uma PCA.

Por ser um método supervisionado, o comportamento do modelo pode ser observado melhor através dos dados da **Tabela 2**, onde é observado a formação de tendências que coincidem com as características dos indivíduos. Nessa mesma Tabela, é possível observar que há presença de 3 indivíduos que consomem o cigarro a muito mais tempo em relação aos outros portanto concluímos que estes também consomem em maior concentração diária a nicotina. A **Tabela 3** que segue relaciona que as amostras 8, 9 e 5 consomem o cigarro a mais de 50 anos.

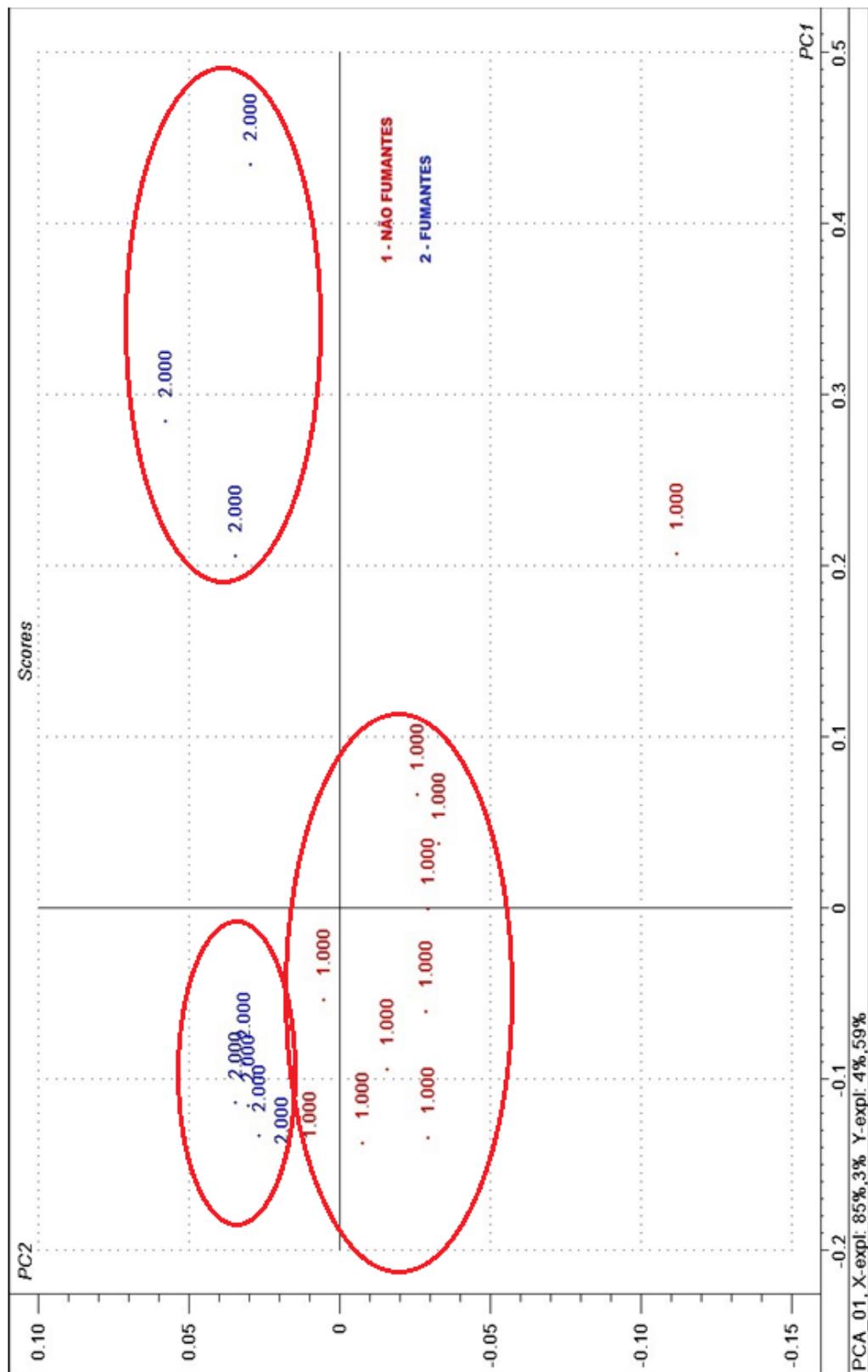
Tabela 3 – Relação entre o tempo de fumante de cada indivíduo.

RELAÇÃO DOS FUMANTES DE ACORDO COM O TEMPO DE FUMO	
Nº DA AMOSTRA	TEMPO/ANOS
<i>AMOSTRA 8</i>	<i>63</i>
<i>AMOSTRA 9</i>	<i>60</i>
<i>AMOSTRA 5</i>	<i>53</i>
<i>AMOSTRA 2</i>	<i>38</i>
<i>AMOSTRA 4</i>	<i>37</i>
<i>AMOSTRA 7</i>	<i>35</i>
<i>AMOSTRA 10</i>	<i>27</i>

Fonte: Autor

Essa análise mostrou que apesar das similaridades espectrais das amostras houve diferenciação das classes ao longo de PC1 e PC2, caracterizando dois grupos distintos e dentro de um dos grupos uma segunda divisão, como mostra a **Figura 13** a seguir.

Figura 13 – Scores do PCA

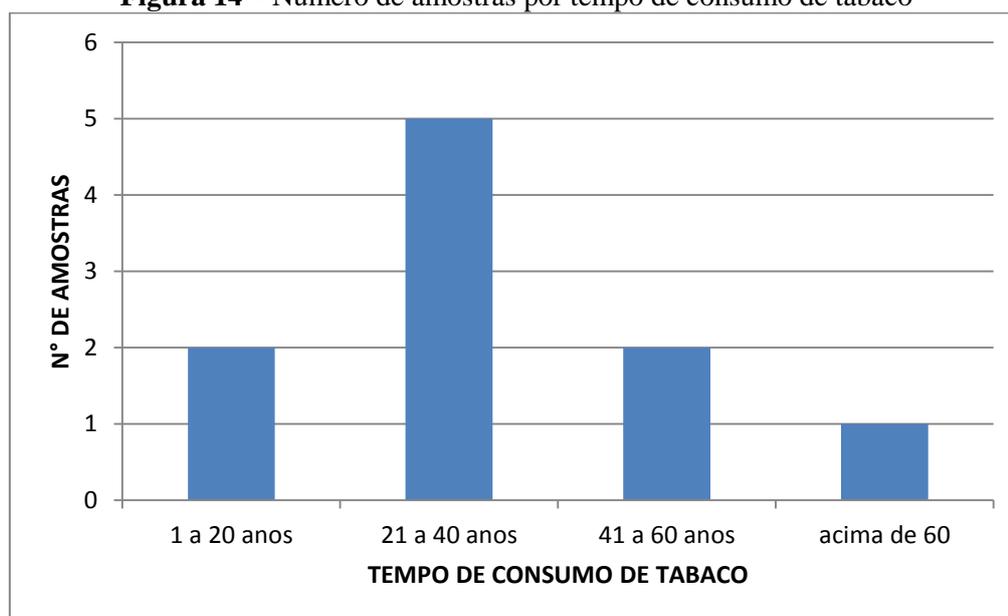


Fonte: Autor

As amostras de não fumantes recebem o código 1 enquanto as amostras fumantes o código 2. Pode ser observado que, após aplicação da análise quimiométrica, as amostras de fumantes e não fumantes estão posicionadas em regiões diferentes do gráfico, havendo assim, uma forte tendência de separação entre as classes. Já foi demonstrado por (CHOJNACKA, GÓRECKA, GÓRECKI, 2006) que o tabaco exerce uma influência significativa na composição química do pêlo capaz de diferir fumantes de não fumantes através de análise elementar do próprio, o que justifica a diferenciação pelo modelo.

A componente principal 1 explica 85% da variabilidade do sistema, onde ao longo de PC1 três amostras da classe fumantes estão posicionadas distante das demais o que pode indicar serem indivíduos que apresentam maior consumo de tabaco por dia e portanto, com maior teor de nicotina entre outras substâncias presentes no cigarro, tendo em vista que, no conjunto de dados, há presença de três amostras com tempo de fumantes acima dos 40 anos, demonstrados na **Figura 14**.

Figura 14 – Número de amostras por tempo de consumo de tabaco



Fonte: Autor

Outras variações ao longo de PC1 podem ser observadas nos dois grupos que podem ser explicadas através da diferença amostral quanto ao sexo, idade e cor do pêlo dos indivíduos, no qual é impossível de identificar precisamente.

A componente principal 2 só carrega 4% das informações do conjunto de dados, no entanto apresenta a diferenciação alvo do estudo. É ao longo de PC2 que as amostras de fumantes e não fumantes são separadas, conseguindo então, o modelo, ter sensibilidade a essa informação na qual apenas com os espectros NIR seria impossível de detectar. Todas as

informações relevantes necessárias para a discriminação dos agrupamentos foram descritas por apenas duas PC's, totalizando 89% da variância explicada dos dados.

4 CONCLUSÃO

O presente trabalho propôs o estudo do potencial de uma nova metodologia que utiliza a espectroscopia NIR e a análise de componentes principais em pêlo humano para diferenciar indivíduos fumantes e não fumantes com o objetivo de aplicar à investigação forense.

Inicialmente foi feito os espectros das 19 amostras de pêlo sendo 9 fumantes e 10 não fumantes muito semelhante e sobrepostos impossível de diferenciar. Em seguida foi feita uma análise exploratória empregando a PCA, onde o gráfico dos scores da PCA revelou que os espectros NIR eram capazes de discriminar dois grupamentos esperados de acordo com fumantes e não fumantes.

Pode-se concluir então que a espectroscopia NIR por si só não é capaz de diferenciar indivíduos fumantes de não fumantes, sendo necessário aplicar o pré-tratamento e posteriormente a PCA para extração e interpretação de informações a nível multivariado e dessa forma diferenciar indivíduos fumante e não fumantes.

Logo, com os resultados apresentados, conclui-se também que a metodologia estudada tem potencial, no tocante a análise de pêlo, para ampliar os horizontes da pesquisa quando aplicada na diferenciação de substâncias metabolizadas pelo organismo humano, contribuindo para o desenvolvimento da pesquisa forense.

4.1 PESPECTIVAS

Os dados mostrados nesse trabalho são válidos somente para as amostras utilizadas nesse estudo preliminar, sendo necessários futuros ensaios com um espaço amostral maior que possa contemplar indivíduos de diferentes localidades, a fim de obter um modelo global.

Com o auxílio de novas tecnologias, como por exemplo, um aparelho NIR portátil fazer a leitura do espectro diretamente da cabeça do indivíduo em tempo real e com isso evitar possíveis interferentes ambientais e de estoque da amostra, obtendo assim um espectro mais próximo da realidade cotidiana.

REFERÊNCIAS

BELL, S. **Forensic Chemistry**. 1.ed. Pearson, New Jersey, 2006

BERNERT, J. T.; ALEXANDER, J. R.; SOSNOFF, C. S.; MCGUFFEY, J. E. Time Course of Nicotine and Cotinine Incorporation into Samples of Nonsmokers' Beard Hair Following a Single Dose of Nicotine Polacrilex. **Journal of Analytical Toxicology**, Inglaterra, v. 35, Jan.-Fev. 2011.

BRICE, M.R.; MATHONA, A. C.; SCHUMMERA, C.; ALKERWIB, A.; LAIR, M. Simultaneous determination of nicotine and PAH metabolites in human hair specimen: A potential methodology to assess tobacco smoke contribution in PAH exposure. **Toxicology Letters**, Alemanha, v. 210 p. 211– 219, Fev. 2012.

BRERETON, R.G. **Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant**. 1ª Ed. Wiley, University of Bristol, UK, 2003.

CHOJNACKA, K.; GÓRECKA, H.; GÓRECKI, H.; The influence of living habits and family relationships on element concentrations in human hair. **Science of the Total Environment**, Polônia, v. 366, p. 612-620, jan. 2006.

CHOJNACKA, K.; GÓRECKA, H.; GÓRECKI, H. The effect of age, sex, smoking habit and hair color on the composition of hair. **Environment Toxicology and Pharmacology**, Polônia, v. 22, p. 52-57, 2002.

de SOUZA, A.M.; COELHO, M.R.; FIGUEIRAS, P.; CUNHA, T.A.F.; DART, R.O.; PARÉS, J.G.; SIMON, P.L.; da CRUZ, B.G.; POPPI, R.J.; SANTOS, M.L.M.; BERBARA, R.L.L. Proposta de tutorial de Quimiometria utilizando técnicas modernas para a análise de solos. SIMPOSIO BRASILEIRO DE EDUCAÇÃO EM SOLOS, 6., Ceará, 22 a 25 de Maio 2012. **Resumos Expandidos...** Fortaleza/CE: Sn, 2012.

ECHEVERRÍA, J.; NIEMEYER, H. M. Nicotine in the hair of mummies from San Pedro de Atacama (Northern Chile). **Journal of Archaeological Science**, Chile, v. 40, p. 3561-3568, 2013.

FARIAS, R.F. DE.; PINTO, K. A Termogravimetria na Identificação Forense: Análise de Pêlos. **Quimica do Brasil**, v. 2, n. 1, p. 7-12, Brasil, jan.- jun. 2008.

FAVRETTO, D.; VOGLIARDI, S.; STOCCHERO, G.; NALESSO, A.; TUCCI, M.; TERRANOVA, C.; FERRARA, S. D. Determination of ketamine and norketamine in hair by micropulverized extraction and liquid chromatography–high resolution mass spectrometry. **Forensic Science International**, Alemanha, v. 226, p. 88–93, jan. 2013.

GOTTARDO, R.; FANIGLIULO, A.; SORIO, D.; LIOTTA, E.; BORTOLOTTI, F.; TAGLIARO, F. **Forensic Science International**, Itália, v. 216, p. 101–107, 2012.

GRONER, J. A.; HUANG, H.; NICHOLSON, L.; KUCK, J.; BOETTNER, B.; BAUER, J. A. Secondhand smoke exposure and hair nicotine in children: Age-Depend differences. **Nicotine & Tobacco Research**, Inglaterra, v. 14, n. 9, p. 1105–1109, Set. 2012.

HATZINIKOLAOU, D.G.; LAGESSON, V.; STAVRIDOU, A.J.; POULI, A.E.; LAGESSON, A. L.; STAVRIDES, J.C. Analysis of the gas phase of cigarette smoke by gas chromatography coupled with UV-diode array detection. **Analytical chemistry**, v. 78 (13), p. 4509-4516, 2006.

JACKSON, F.; MAYNARD, P.; CAVANAGH-STEER, K.; DUSTING, T.; ROUX, C. A survey of glass found on the headwear and head hair of a random population vs. people working with glass. **Forensic Science International**, v. 226, p. 125–131, jan. 2013.

MOREIRA, E.D.T.; PONTES, M.J.C.; GALVAO, R.K.H.; ARAUJO, M.C.U. Near infrared reflectance spectrometry classification of cigarettes using the successive projections algorithm for variable selection. **Talanta**, Brasil, v. 79, p. 1260-1264, Out. 2009.

MOREIRA, E.D.T.; PONTES, M.J.C.; GALVAO, R.K.H.; ARAUJO, M.C.U. Near infrared reflectance spectrometry classification of cigarettes using the successive projections algorithm for variable selection. **Talanta**, Brasil, v. 79, p. 1260-1264, Out. 2009.

NEUBERGER, F. M.; JOPP, E.; GRAW, M.; PÜSCHEL, K.; GRUPE, G. Signs of malnutrition and starvation—Reconstruction of nutritional life histories by serial isotopic analyses of hair. **Forensic Science International**, v. 226, p. 22–32, 2013.

NEVES, A.C.O.; SOARES, G.M.; DE MORAIS, S.C.; da COSTA, F.L.S.; PORTO, D.L.; de LIMA, K.M.G. Dissolution testing of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and ethambutol tablets using near-infrared spectroscopy (NIRS) and multivariate calibration. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Brasil, v. 57, p. 115– 119, 2012.

NI, L.J.; ZHANG, L.G.; XIE, J.; LUO, J.Q. Pattern recognition of Chinese flue-cured tobaccos by an improved and simplified K-nearest neighbors classification algorithm on near infrared spectra. **Analytica Chimica Acta**, China, v. 633, p. 43–50, 2009.

OTTO, M. **Chemometrics**. Weinheim: Wiley, 1999.

POZEBON, D.; DRESSLER, V.; CURTIUS, A.; Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações, **Química nova**, Brasil, v. 22, n. 6, 1999.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 198-219, mar.-abr. 2003

PANAYIOTOU, H.; KOKOT, S. Matching and discrimination of single human-scalp hairs by FT-IR micro-spectroscopy and chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 392, p. 223 – 235, 2009.

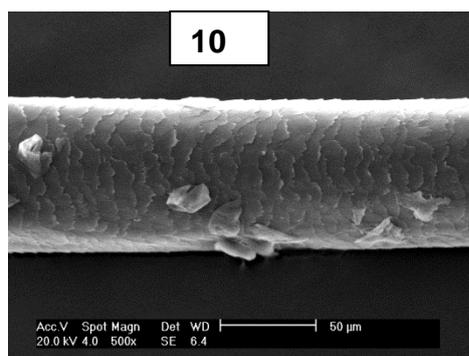
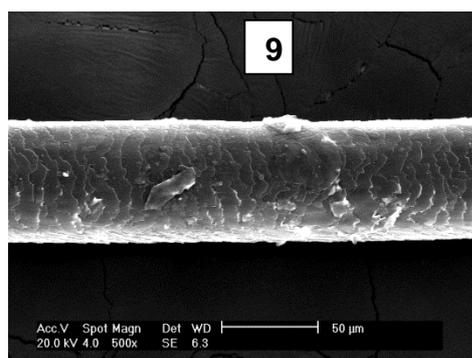
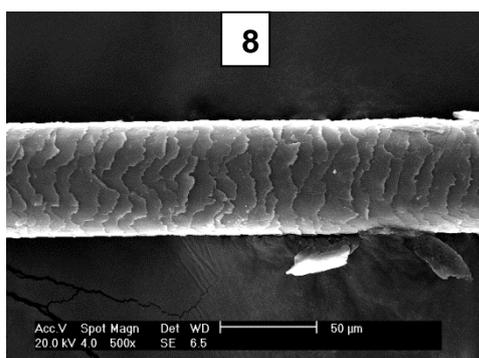
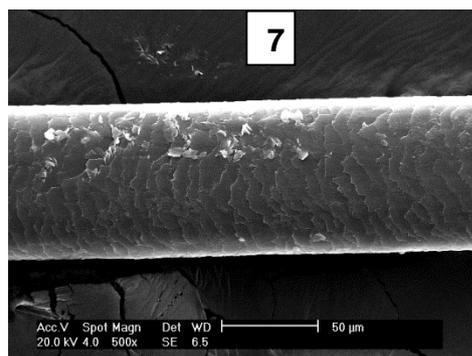
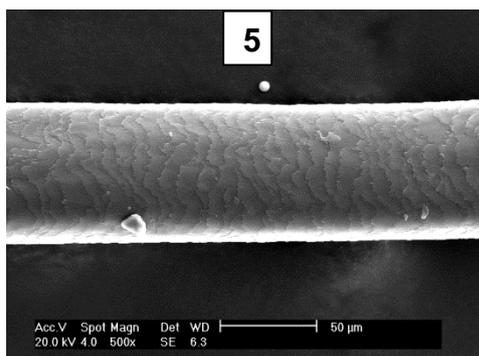
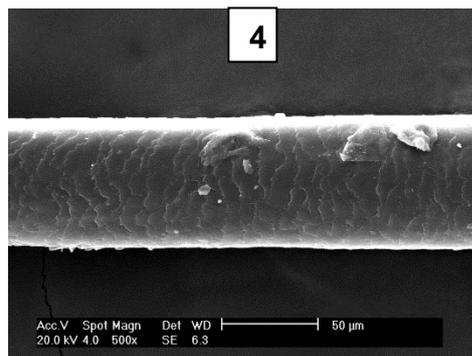
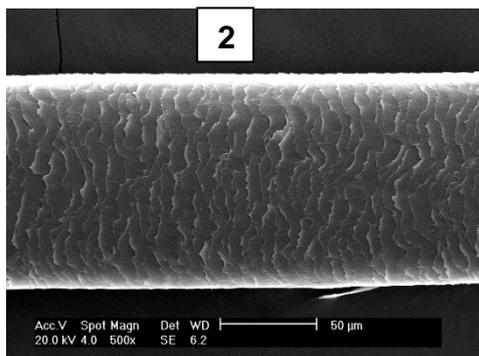
SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª Ed., Bookman, Porto Alegre, 2002.

TANA, C.; WANGA, J.; WUA, T.; QINC, X.; LI, M. Determination of nicotine in tobacco samples by near-infrared spectroscopy and boosting partial least squares. **Vibrational Spectroscopy**, China, v. 54, p. 35–39, Abr. 2010.

ANEXO

IMAGENS OBTIDAS NO MEV

FUMANTES



NÃO FUMANTES

