

ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA DE TEORES DE METAIS EM *Camponotus rufipes*

**Thompson Lima dos Santos¹; Aline de Souza Oliveira²; Astréa F. de Souza Silva³;
Maria Santina de Castro Morini⁴; André Fernando de Oliveira⁵**

Estudante do Curso de Química; e-mail: thompson.santos@uol.com.br¹

Estudante do Curso de Biologia; e-mail: aline.oliver@hotmail.com²

Professora da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail astrea@umc.br³

Professora da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail morini@umc.br⁴

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail ferqa@umc.br⁵

Área do Conhecimento: Análise de Traços e Química Ambiental

Palavras-chaves: Quimiometria; Perfil de metais; *Camponotus rufipes*

INTRODUÇÃO

Atualmente é sabido que a contaminação dos ambientes por inseticidas, metais potencialmente tóxicos e demais substâncias relacionadas têm crescido e acarretado diversos problemas, tais como a presença de rejeitos tóxicos nos lençóis freáticos e a morte de animais em diferentes níveis da cadeia trófica. A contaminação ambiental por metais não prejudica diretamente os consumidores primários de uma cadeia alimentar, mas organismos ocupantes de níveis tróficos mais superiores. Entretanto, alguns organismos respondem à poluição ambiental usando as substâncias oriundas da atividade antrópica em seu metabolismo, ou simplesmente as acumulam ou ainda as excretam (Rabitsch, 1997).

O nosso grupo de pesquisa tem verificado a diferença no perfil de distribuição de metais em *Camponotus rufipes* (Formicidae: Formicinae) de acordo com o nível de antropização do ambiente (Silva *et al.*, 2006). Silva *et al.* (2009) observaram que as formigas de um mesmo ninho podem ser divididas em dois ou três grupos de acordo com a atividade antrópica. Assim, com o volume de dados já existente, faz-se necessário uma avaliação estatística multivariada mais ampla, considerando diferentes métodos e pré-processamento de dados, com o intuito de obter maiores informações dos dados coletados, assim como aumentar a qualidade das hipóteses geradas, com ênfase na distinção das castas observadas dentro de cada ninho.

Dentre o conjunto de técnicas estatísticas multivariadas aplicadas a dados químicos (Quimiometria), aquelas chamadas análise não-supervisionadas visam agrupar a informação existente em grandes conjuntos de dados em novas variáveis facilitando a compreensão do sistema químico. Entretanto, a aplicação de modelos multivariados a dados experimentais exige uma avaliação similar àquela realizada para modelos univariados, ou seja, a avaliação da qualidade do ajuste, que não é usualmente realizada. A análise de resíduos é um procedimento bastante poderoso na avaliação de modelos univariados (regressão linear), entretanto têm sido pouco utilizado em problemas analíticos.

Neste trabalho um procedimento será aplicado à análise de componentes principais, visando avaliar a qualidade do modelo obtido, assim como identificar possíveis *outliers*.

OBJETIVOS

Realizar a análise de componentes principais (PCA) de diferentes conjuntos de dados visando relacionar a distribuição de metais em castas de *C. rufipes* e atividade antrópica próxima aos ninhos utilizando a avaliação dos modelos de PCA com auxílio da análise de resíduos.

METODOLOGIA

O procedimento estatístico foi aplicado em conjuntos de teores de metais obtidos de operárias agrupadas em classes de tamanhos de cápsula cefálica. Os teores de metais foram calculados para operárias coletadas em dois ninhos, durante a estação chuvosa. Um ninho são provenientes do Parque Natural Municipal Francisco Affonso de Mello (Mogi das Cruzes, SP) e o outro do Parque do Ecológico do Tietê (São Paulo, SP). As formigas foram separadas pelo tamanho de cápsula cefálica em classes de cerca 0,1 mm, com auxílio de uma ocular micrométrica acoplada a um microscópio estereoscópio MZ-12. Para a determinação dos metais por espectrofotometria de absorção atômica (Perkin Elmer 3110 e Varian AFS240), em cada classe de tamanho de operária foi realizado um pré-tratamento das amostras. As amostras de formigas foram limpas em solução de Extran® (Merck) 5% sob sonicação em banho de ultra-som (Silva *et al.*, 2009), e a decomposição da matéria orgânica foi realizada em forno microondas Ethos Plus (Milestone) em sistema fechado equipado com bandeja rotatória contendo 10 vasos fechados de PTFE com capacidade para 100 mL, na presença de ácido nítrico concentrado (purificado com destilação *subboiling*) e peróxido de hidrogênio.

O tratamento estatístico dos dados foi feito com auxílio dos softwares: Microsoft Excel 2003 para organização dos dados e cálculo de matriz inversa, média e desvio padrão; Microcal Origin 6.0 para construção dos gráficos e o Statistica 8.0 para o tratamento multivariado de Análise de Componentes Principais e Análise de *Clusters*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de componentes principais os *scores* (matriz **C**) e *loadings* (matriz **T**) foram obtidos pela decomposição de uma matriz de dados pré-processados **X**,

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{C} + \mathbf{e}$$

onde a matriz '**e**' se refere aos resíduos do ajuste do produto da matriz TC, em relação ao conjunto de dados pré-processados. Os valores de *scores* (PC1 e PC2) são as **m** linhas relacionadas às amostras e os *loadings* (PC1 e PC2) são as **n** colunas em relação as variáveis. Assim, a partir dos valores de *scores* e *loadings*, é possível restituir uma matriz $\hat{\mathbf{X}}$ (matriz de valores estimados pelo modelo), que pode ser obtida considerando-se apenas PC1 ou também PC2.

$$\hat{\mathbf{X}} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{C}$$

A matriz de resíduos, então, pode ser obtida pela subtração da matriz original daquela de valores estimados.

$$\hat{\mathbf{e}} = \mathbf{x} - \hat{\mathbf{x}}$$

A análise dos resíduos obtidos para cada variável estudada pode ser interpretada de maneira similar àquela realizada para modelos lineares, e assim apontar quais variáveis ou amostras causam o desvio da normalidade, ou seja, pontos isolados que estão "fora" da distribuição obtida (*outlier*).

O pré-processamento realizado para os conjuntos dos dados foi o autoescalamento, ou seja,

$$x_i = \frac{y_i - \bar{y}}{s_y}$$

onde y_i são os teores de cada metal em cada classe i , e s_y , o desvio padrão desse conjunto.

Para cada conjunto de dados de um ninho foram realizados os seguintes procedimentos:

Autoescalonamento,

Seleção do número de componentes principais;

Obtenção dos *scores* e *loadings* através do software Statistica 8.0;

Cálculo dos resíduos para cada metal (com auxílio do Microsoft Excel);

Análise dos resíduos obtidos e avaliação de *outliers*

A análise é realizada pela avaliação de variáveis (metais) ou amostras com elevado número de candidatos de *outliers*. Havendo essa condição, a variável ou amostra é removida do conjunto e todo o tratamento é novamente realizado. Se a análise de resíduos melhorou significativamente, os novos parâmetros são aceitos. São construídos gráficos dos *scores* em função dos tamanhos médios de cada classe, onde pode-se observar a existência de padrões no comportamento dos componentes principais. Para a avaliação do número de componentes foi utilizado a análise dos autovalores (*eigenvalues*) com o gráfico de Scree e o critério de Kaiser (componentes principais que apresentem autovalores maiores que 1,0).

A análise conjunta de ambos os ninhos de uma mesma localidade (análise interninhos), envolveu inicialmente oito variáveis: Al, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn e 24 amostras de tamanho de cápsula cefálica de *C. rufipes*, variando de 1,52 a 4,12 mm, com seus valores correspondentes de concentração. Após a análise dos resíduos, o conjunto final foi composto por 6 variáveis (Al, Cd, Cu, Fe, Mn e Zn) (Figura 1 A) e 15 amostras, pois foi desconsiderado a classe de 1,74 mm. Os dois primeiros componentes principais explicaram 76,6% dos dados, com 43,5% para PC1 e 33,1% para PC2.

O primeiro componente principal extraído apresenta um comportamento bastante singular em relação às classes de tamanho de cápsula cefálica, pois foi bem definido para o ninho do Parque Natural Municipal Francisco Affonso de Mello, que é formado por um número maior de classes. É importante observar que o número de classes analisadas depende da massa mínima (0,4g) de formiga existente em cada tamanho, ou seja, a menor massa utilizada para a análise de metais.

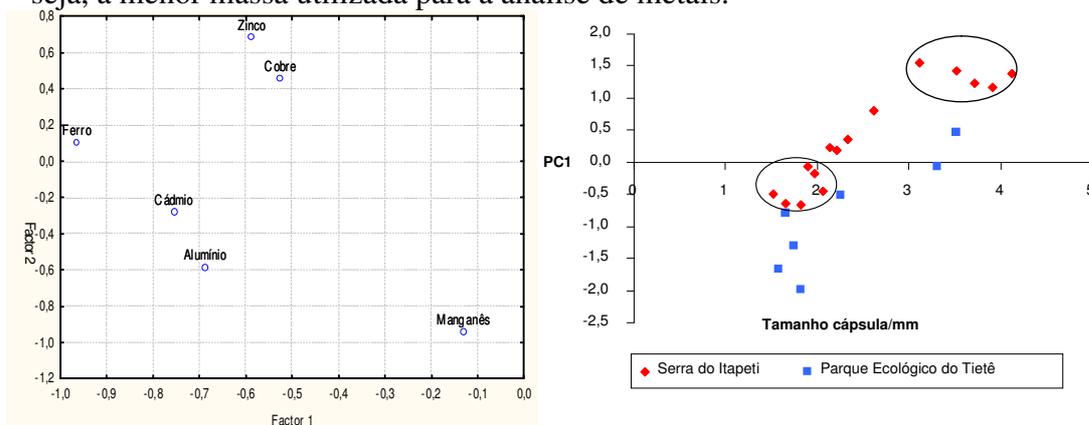


Figura 1 – Principais resultados da PCA para teores de metais nas diferentes classes de tamanho de cápsula cefálica de operárias coletadas no Parque Natural Municipal Francisco Affonso de Mello (Serra do Itapeti) e do Parque Ecológico do Tietê. (A) *Loadings* dos componentes principais; (B) *Scores* do 1º componente principal em função do tamanho de cápsula cefálica de cada classe.

Valores negativos estão associados às classes de pequeno tamanho de cápsula cefálica (menores que 2 mm) enquanto que valores positivos elevados (maiores que 1,0 mm) estão associados às classes com elevado tamanho de cápsula cefálica (maiores que 3,0 mm). Os *loadings* obtidos sugerem a importância dos teores dos metais usados no modelo e que podem ser divididos em quatro grupos: apenas manganês, apenas ferro; cobre e zinco e por fim, alumínio e cádmio. Desses metais, apenas o zinco tem uma função bem definida de fortalecimento do exoesqueleto da formiga. O cobre e o ferro têm usualmente funções fisiológicas, enquanto que alumínio e cádmio são metais tóxicos (Allen, 2002).

Esses intervalos têm sido associados a duas diferentes castas, baseado na distribuição de frequência dos tamanhos de cápsula cefálica, conforme observado por Diniz *et al.* (1994). Os valores intermediários podem estar associados a uma terceira casta, conforme sugerido por Silva *et al.* (2006; 2009), ainda que não seja observado no gráfico de distribuição de frequência de tamanho das cápsulas cefálicas. O aumento do número de ninhos analisados por esse procedimento poderá favorecer o estabelecimento dessa terceira casta.

CONCLUSÕES

O uso do procedimento de análise de resíduos foi bastante promissor, auxiliando na avaliação de *outliers* e na qualidade do modelo de PCA utilizado. A aplicação dos tratamentos estatísticos permitiu associar o primeiro componente a separação de duas diferentes castas de formigas (pequenas e grandes), relacionadas ao tamanho da cápsula cefálica. Além disso, possibilitou a comprovação da existência de uma terceira casta, agora relacionada aos teores de metais; esse resultado corrobora os trabalhos do grupo de pesquisa efetuados sem a medida da cápsula cefálica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, H.E. (ed.), 2002 *Bioavailability of Metals in Terrestrial Ecosystems*, SETAC, Pensacola; Larcher.

DINIZ-FILHO, J. A. F., VON ZUBEN, C. J., FOWLER, H. G.; SCHLINDWEIN, M. N.; BUENO, O. C., 1994, *Insects Sociaux*, 41, 153.

RABITSCH, W.B. (1995) *Environmental Pollution* 90: 239 – 247.

SILVA, A.F.S.; ALVES, C.P.; MORINI, M.S.C.; OLIVEIRA, A.F; 2009, *Sociobiology* 53, 829.

SILVA, A.F.S.; MEIRELES, B.; OLIVEIRA, M.W.; ROSA, J.S. MORINI, M.S.C.; OLIVEIRA, A.F; 2006, *Sociobiology* 47, 1.

AGRADECIMENTOS

FAPESP; CNPq; FAEP/UMC