

## Determinação de metais em amostras de cabelo utilizando um espectrômetro de massa de alta resolução acoplado a uma fonte de plasma induzida por gás de argônio

Patrícia Miranda de Faria<sup>1\*</sup>, Jorge E. S. Sarkis<sup>2</sup>, Rosemary Custódio Pedroso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. <sup>2</sup>Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEM

*A técnica de espectrometria de massas de alta resolução com fonte de plasma induzida por gás de argônio (HR-ICP-MS) tem sido reconhecida pela sua sensibilidade, especificidade e capacidade para análise concomitante de múltiplos elementos metálicos. Por estas características, a sua aplicação em análise de amostras de cabelo começa a ser investigada em Toxicologia Analítica. Este trabalho descreve um método para a identificação e quantificação de cromo, cobalto, níquel, cádmio e chumbo em amostras de cabelo, utilizando espectrômetro de massas de alta resolução "Element" da Finnigan MAT®. A precisão do método mostrou coeficientes de variação de 7,79 a 17,08% (precisão externa) e 0,56 a 5,84% (precisão interna). A exatidão da análise de amostra de material de referência certificado foi de 95,97% para cádmio e 99,30% para chumbo. Limites de detecção na ordem de ng/L foram obtidos para todos os elementos. Os resultados mostraram boa linearidade, com coeficientes de determinação entre 0,9995 a 0,9999. O método foi considerado adequado para a determinação de metais em amostras de cabelo.*

### Unitermos:

- Cabelo
- HR-ICP-MS
- Pb
- Cd
- Cr
- Co
- Ni

### \* Correspondência:

P. M. Faria  
Depto. de Análises Clínicas e  
Toxicológicas  
FCF-USP  
Av. Prof. Lineu Prestes, 580  
Caixa Postal 66083  
05389-970 - Cid. Universitária  
São Paulo - Brasil  
E-mail: patyfaria@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

No passado, os efeitos tóxicos de metais estiveram associados aos eventos a curto prazo, quando tais efeitos eram agudos e bem evidenciados. Nos dias atuais, no entanto, observam-se ocorrências por exposição a médio e a longo prazo, não obstante as relações *causa-efeito* serem pouco evidentes e os efeitos quase sempre subclínicos (Alessio, Apostoli, Della Rosa, 1991; Goyer, 1996; Salgado, 1996).

Avaliar a exposição humana a traços de elementos metálicos tem se tornado um dos objetivos de algumas áreas da Toxicologia, em razão do constante crescimento

industrial e a conseqüente urbanização em todo o mundo (Raghupathy *et al.*, 1989). Alguns elementos como o chumbo, o cádmio e o mercúrio são considerados bons indicadores ambientais de poluição (Raghupathy *et al.*, 1989; Rickert, Kaiserman, 1994).

Em razão de tais fatos, a análise de metais em amostras de cabelo tem-se mostrado ser extremamente útil, já que esta matriz pode ser utilizada como indicador de exposição ambiental ou como monitor ambiental para grande número de elementos metálicos, surgindo como proposta para avaliar o estado nutricional e exposição toxicológica de cada indivíduo (Foo *et al.*, 1993; Okamoto *et al.*, 1985; Raghupathy *et al.*, 1989; Wasiak, Ciszewska,

Ciszewski, 1996; Wolfsperger *et al.*, 1994). A presença de, pelo menos, quarenta elementos metálicos no cabelo humano já foi descrita na literatura (Koons, Peters, 1994).

A determinação analítica de traços de elementos metálicos é freqüentemente realizada usando-se técnicas instrumentais com capacidade multielementar. Entre as técnicas mais utilizadas estão a espectrometria de absorção atômica (AAS), a análise por ativação de neutrons, a espectrometria de emissão atômica acoplada a uma fonte de plasma induzido por argônio (ICP-AES) e a espectrometria de massas acopladas a uma fonte de plasma induzido por argônio (ICP-MS) (Wasiak, Ciszewska, Ciszewski, 1996). A maioria delas é cara e não oferece sensibilidade suficiente para a determinação de elementos metálicos em nível de concentração extremamente baixa, como usualmente são encontrados em amostras biológicas e ambientais (Koons, Peters, 1994; Wasiak, Ciszewska, Ciszewski, 1996).

A espectrometria de massas de alta resolução acoplada a uma fonte de plasma induzido por argônio (HR-ICP-MS) é técnica nova que permite a determinação de traços de elementos metálicos em fluidos biológicos, virtualmente livre da maioria das interferências espectrais, além de fornecer alta eficiência na transmissão de íons (Barnes, 1993; Giebmann, Greb, 1994; Jarvis, Gray, Houk, 1992). É considerada técnica multielementar e de alta sensibilidade, cuja aplicação em análises toxicológicas começa a ser investigada.

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de padronizar a análise dos metais propostos em amostras de cabelo através da técnica de HR-ICP-MS.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

#### *Soluções-padrão*

Foram utilizadas soluções-padrão mono-elementares a 1000 mg/L de cádmio, chumbo, cobalto, níquel e índio em HNO<sub>3</sub> 5%, grau ICP (Merck) e solução padrão mono-elementar a 1000 mg/L de cromo em HCl 5%, grau ICP (Merck). A partir destas foram preparadas soluções de trabalho na faixa de concentração de 0,5 a 20 µg/L. Foram também utilizadas soluções-padrão mono-elementares a 1000 mg/L de escândio em HNO<sub>3</sub> 2% e ferro em HNO<sub>3</sub> 5%, grau ICP (SPEX), em concentração de trabalho de 10 µg/L e 20 µg/L, respectivamente.

As soluções foram preparadas em capela de fluxo laminar para evitar contaminações externas, com solução diluente de HNO<sub>3</sub> 2%, preparada a partir do HNO<sub>3</sub> concentrado Suprapur® (Merck) e água desionizada e purificada com sistema Milli-Q Plus (Millipore).

### *Amostras de cabelo*

As amostras analisadas compreenderam cabelos liofilizados (material de referência certificado BCR 397, Human Hair, Bruxelas) (BCR-CRM 397, 1991) e amostras de cabelo de voluntários escolhidos aleatoriamente, estes coletadas da região proximal-occipital (nuca), a 1 cm da base, com tesoura de aço inoxidável, na quantidade aproximada de um grama, equivalente a aproximadamente 100 fios de cabelo. As amostras dos voluntários foram descontaminadas por lavagens sucessivas de 10 minutos em béquer com acetona P.A. (Merck) e em béquer com água Milli-Q, ambos no banho de ultra-som.

### *Equipamentos*

Espectrômetro de massas de alta resolução com fonte de plasma induzido por argônio, "Element" (FINNIGAN MAT®, Bremen, Alemanha), equipado com analisador Nier-Johnson com sistema automático de introdução de amostras líquidas, Gilson 222 (GILSON®, Villiers Le Bel, França) com cinco bandejas com 36 tubos de 12 mL e Bomba Peristáltica de quatro estágios, Perimax 1274 (PETEC GM BH® Erding, Alemanha). Digestor de microondas CEM MDS 2000 (CEM Corporation®, EUA). Balança analítica Mettler H54AR (METTLER, Alemanha).

## Método

### *Condições operacionais do equipamento*

As condições operacionais do equipamento encontram-se descritas na Tabela I.

**TABELA I** - Condições operacionais otimizadas

CONDIÇÕES OPERACIONAIS	
Fluxo de gás transportador de aerosol (L/min)	0,5-1,2
Fluxo de gás intermediário (L/min)	0,90
Fluxo do gás do plasma (L/min)	18
Distância do amostrador (mm)	4
Promoção do plasma (Kw)	1,0-1,6
Cone de amostra	platina
"Skimmer"	platina
Câmara de expansão	Tipo "Scott"
Nebulizador	"Meinhard"
Modo de aquisição	Escan
Nº de "scans"	20
Tempo de aquisição de pontos (s)	0,01
Nº de aquisição de pontos por segmentos	200
Deteção	Analógico ou contador
Velocidade do "scan"	0,6 s/faixa de massa

### Linearidade

Foi avaliada a linearidade instrumental na faixa de concentração de interesse, verificando-se a resposta da curva "intensidade x concentração dos elementos metálicos", de soluções-padrão nas seguintes concentrações: 0,5 - 1,0 - 5,0 - 10,0 - 20,0 - 50,0 µg/L. O estudo foi realizado com os seguintes elementos metálicos: cádmio (Cd), cromo (Cr), cobalto (Co), chumbo (Pb) e níquel (Ni).

### Especificidade

A solução de trabalho contendo os elementos a 10 µg/L foi utilizada para verificar a coincidência entre os espectros de massas obtidos e os esperados para cada isótopo, considerando, ainda, a proporção de abundância entre os isótopos.

### Digestão das Amostras

Amostras de cabelo (0,2 g) foram pesadas em balança analítica, transferidas para frasco de teflon e adicionadas de 3 mL de ácido nítrico concentrado Suprapur® (Merck). As amostras foram digeridas em microondas CEM, por meio de método desenvolvido para cabelo (Puchyr, s.d.). Após completo esfriamento diluiu-se a 50 mL com solução de HNO<sub>3</sub> 2%. Foram feitos brancos de amostra seguindo as mesmas etapas. Todo o procedimento foi realizado dentro de capela de fluxo laminar.

### Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), foram estabelecidos por meio de dez determinações do branco de reagentes - HNO<sub>3</sub> 2% e dez determinações do branco de procedimento, isto é, do reagente utilizado para dissolução das amostras - HNO<sub>3</sub> 65%, que foi transferido para frasco de teflon, submetido ao procedimento de digestão em microondas e diluído conforme as amostras, nas condições otimizadas. Calculou-se o limite de detecção como sendo três vezes o desvio padrão ( $\sigma$ ) das leituras feitas, dividido pela inclinação da reta e o limite de quantificação, dez vezes o valor de  $\sigma$  para um nível de erro relativo ideal de 10 % (Jarvis, Gray, Houk, 1992).

### Curvas de calibração

As curvas de calibração utilizadas para a quantificação dos elementos estudados foram preparadas a cada análise, usando as seguintes concentrações dos elementos 0,5 - 1,0 - 5,0 - 10,0 e 20,0 µg/L de HNO<sub>3</sub> 2%. As curvas foram construídas por regressão linear entre valores de concentração e intensidade do sinal medido e os coeficientes de determinação para todos os elementos foram calculados a cada nova curva.

### Avaliação da precisão e exatidão do método

A precisão do método foi avaliada por meio do cálculo do desvio padrão relativo (coeficiente de variação), (i) em estudo com nove alíquotas de amostra de material de referência certificado (BCR - CRM 397, 1991) e (ii) em estudo com uma única alíquota de amostra do mesmo material, medida oito vezes. Em ambos os ensaios as amostras foram preparadas conforme procedimento descrito em digestão de amostras.

A exatidão do método foi testada com o uso do material de referência certificado acima mencionado, cujo valor indicado é  $0,521 \pm 0,024$  µg/g (CEC, 1991) de cádmio e  $33,0 \pm 1,2$  µg/g (CEC, 1991) de chumbo, utilizando o procedimento para dissolução e preparação da amostra descrito em digestão de amostras. O estudo foi realizado em triplicata e cada amostra foi quantificada dez vezes.

Além do uso de material de referência certificado, a exatidão deste método foi também verificada, por meio da porcentagem de erro sistemático de amostras adicionadas de padrões de Co, Cd, Cr, Pb e Ni. As amostras foram pesadas em balança analítica e transferidas para frascos de teflon próprio para microondas. A estas amostras foi pipetada quantidade fixa e conhecida (2 µg/L) de cada padrão. Seguiu-se o procedimento recomendado de digestão e preparação das amostras para leitura no equipamento.

A exatidão foi expressa em % de erro sistemático e o cálculo foi feito de acordo com a equação abaixo:

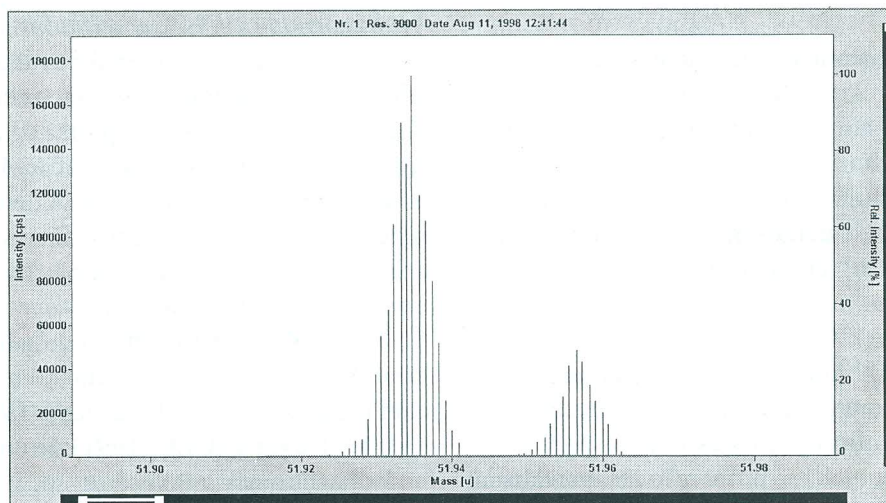
$$E = 1 - \frac{(\text{valor obtido} - \text{valor real})}{(\text{valor real})} \times 100$$

## RESULTADOS

Houve relação linear entre o sinal gerado pelo equipamento e as concentrações dos metais, na faixa de concentração de 0,5 a 50 µg/L. Os coeficientes de determinação encontrados neste estudo foram de:

$$\begin{aligned} &0,9999 \text{ (} y = 10068x + 537,27 \text{) para cádmio;} \\ &0,9996 \text{ (} y = 17660x + 57644 \text{) para cromo;} \\ &0,9999 \text{ (} y = 19660x + 702,86 \text{) para cobalto;} \\ &0,9999 \text{ (} y = 5257,5x + 9799,6 \text{) para níquel e} \\ &0,9995 \text{ (} y = 47187x + 82022 \text{) para chumbo.} \end{aligned}$$

Os procedimentos de dissolução e diluição para identificação e quantificação dos elementos metálicos mostraram-se adequados nos estudos de especificidade. Atenção especial foi dada ao cromo, o qual, em baixa resolução, quando a matriz cabelo foi analisada, sofreu pequena interferência devido a formação do íon carbeto de argônio (ArC<sup>+</sup>) (Gupta, Barnes, 1998). Como mostrado na Figura 1, esta interferência pode ser facilmente resolvida com o emprego da média resolução. Assim, houve neces-



**FIGURA 1** - Espectro do cromo em média resolução ( $51,94051 m/z$ ) e  $ArC^+$  ( $51,96238 m/z$ ), demonstrando a especificidade da técnica de HR-ICP-MS, nas condições analíticas otimizadas.

idade de testar esta especificidade diariamente ou a cada grupo de amostras analisadas.

Os limites de detecção e de quantificação calculados estão apresentados na Tabela II.

A intensidade de sinal dos isótopos dos elementos metálicos corrigida pela intensidade de sinal do padrão interno demonstrou boa correlação entre as concentrações do metal (0,5 a 20  $\mu\text{g/L}$ ) e o sinal gerado, de acordo com as equações da reta apresentadas na Tabela III.

A precisão do método variou de 7,79 a 17,08% no estudo de precisão externa e 0,56 a 7,27% no estudo de precisão interna, como pode ser verificado na Tabela IV.

A exatidão da análise das amostras de material de referência certificado foi de 95,97% para cádmio e 99,30% para chumbo e os resultados da exatidão de análise das amostras adicionadas de solução padrão dos elementos em estudo estão apresentados na Tabela V.

**TABELA II** - Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) dos elementos metálicos em  $HNO_3$  2% (diluente) e em reagente submetido ao procedimento de digestão das amostras (branco de procedimento)

Elemento	$HNO_3$ 2% Diluente		branco de procedimento	
	$\mu\text{g/L}$		$\mu\text{g/L}$	
	LD	LQ	LD	LQ
Cr	0,0652	0,2174	0,2825	0,9418
Co	0,0162	0,0540	0,0280	0,0936
Ni	0,2878	0,9594	0,2414	0,8047
Cd	0,0048	0,0160	0,0584	0,1947
Pb	0,0495	0,1649	0,5844	1,9481

(\* n=10, \*\* n=10)

**TABELA III** - Regressão linear e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das relações entre concentração e sinal gerado, na análise das soluções-padrão dos elementos em estudo

Elemento	Equação da reta	$R^2$
Cr	$y = 17040x + 60695$	0,9991
Co	$y = 19421x + 1880,9$	0,9999
Ni	$y = 5246,4x + 9854,1$	0,9999
Cd	$y = 9967,1x + 1034,4$	0,9999
Pb	$y = 48147x + 77289$	0,9973

**TABELA IV** - Resultados obtidos a partir do estudo de precisão externa e interna

Elem.	Precisão externa		Precisão interna	
	Média $\pm$ dp $\mu\text{g/g}$	CV %	média $\pm$ dp $\mu\text{g/g}$	CV %
Cr	$30,60 \pm 2,38$	7,79	$27,41 \pm 1,60$	5,84
Co	$0,25 \pm 0,02$	9,62	$0,22 \pm 0,006$	2,70
Ni	$8,95 \pm 1,53$	17,08	$8,37 \pm 0,61$	7,27
Cd	$0,54 \pm 0,05$	9,77	$0,53 \pm 0,003$	0,56
Pb	$30,59 \pm 2,56$	8,36	$28,92 \pm 0,49$	1,69

(Elem. = elemento metálico; dp = desvio padrão;  
CV = coeficiente de variação)

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Na técnica de espectrometria de massas de alta resolução acoplada a uma fonte de plasma induzida por gás de argônio, a resposta do sinal *versus* concentração é

**TABELA V** - Resultados obtidos pelo estudo de exatidão com amostras adicionadas antes do procedimento de digestão com 2 µg/L dos elementos metálicos

Elemento metálico	Média ± dp valor após a adição µg/g	CV %	média ± dp valor antes a adição µg/g	CV %	diferença entre os valores antes e após a adição µg/g	E %
<b>Cromo</b>	7,256 ± 0,278	3,83	5,263 ± 0,152	2,89	1,993	99,65
<b>Cobalto</b>	2,50 ± 0,059	2,36	0,18 ± 0,006	3,34	2,320	86,20
<b>Níquel</b>	9,354 ± 0,301	3,22	6,494 ± 0,200	3,08	2,860	70,02
<b>Cádmio</b>	3,240 ± 0,046	1,42	0,939 ± 0,013	1,38	2,301	86,92
<b>Chumbo</b>	5,504 ± 0,167	3,03	3,435 ± 0,108	3,14	2,069	98,67

(dp = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; E = exatidão)

**TABELA VI** - Comparação do limite de detecção entre diversas técnicas utilizadas na determinação de elementos metálicos <sup>2</sup>

E	AA chama <sup>1</sup> µg/L	AA forno <sup>2</sup> µg/L	ICP-AES <sup>3</sup> µg/L	ICP-MS <sup>4</sup> µg/L
Cd	0,8	0,008	1,0	0,003
Co	9,0	0,150	1,0	0,009
Cr	3,0	0,030	2,0	0,020
Ni	6,0	0,300	5,0	0,005
Pb	15,0	0,060	10,0	0,001

E = elemento metálico, <sup>1</sup> Espectrometria de absorção atômica por chama, <sup>2</sup> Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, <sup>3</sup> Espectrometria de emissão atômica acoplada a uma fonte de plasma induzida, <sup>4</sup> Espectrometria de massas acoplada a uma fonte de plasma induzida.

tipicamente linear entre 6 a 8 ordens de magnitude (0,001 µg/mL a 100 µg/mL) (Jarvis, Gray, Houk, 1992). dependendo do modo de operação do instrumento. Neste trabalho foi confirmada a linearidade dentro de uma faixa de interesse, ou seja, entre 0,5 µg/L a 50 µg/L.

A técnica de ICP-MS é caracterizada por ser altamente sensível, apresentando limites de detecção na ordem de ng/L. Na Tabela VI são apresentados os limites de detecção de diferentes técnicas em laboratórios de excelente padrão de qualidade.

Os limites de detecção obtidos neste trabalho (Tabela II) em HNO<sub>3</sub> 2% foram menores que os esperados, quando comparados com a Tabela VI, porém estão de acordo com a faixa de concentração em ng/L, geralmente obtidas em técnicas de ICP-MS.

O método demonstrou-se bastante preciso conforme pode ser observado por meio da Tabela IV. A precisão interna apresentou coeficientes de variação inferiores aos

da precisão externa, como seria esperado. Na precisão externa são avaliadas todas as etapas do processo, desde a pesagem das amostras até as medidas propriamente ditas, ocorrendo, assim, somatória de possíveis erros de pesagem, pipetagem, aferição de volume em balão volumétrico, enquanto que a precisão interna demonstra apenas o desvio entre as medidas de uma mesma amostra. O estudo de exatidão realizado com material de referência certificado alcançou valores próximos a 100% de exatidão. No entanto, como o material utilizado é somente certificado para cádmio e chumbo, foi realizado estudo de exatidão com adição de padrões em concentração conhecida, o qual apresentou valores que variam de 70 a 99 % de exatidão, como pode ser verificado na Tabela V.

Todos os tipos de interferências espectrais que surgiram durante a execução deste trabalho puderam ser resolvidos através da otimização do instrumento, utilizando-se um RF igual ou aproximado de 1300, controlando-se os fluxos do gás, inclusive o usado para a introdução das amostras e utilizando-se do setor analisador de dupla focalização (setor magnético e campo eletrostático) com geometria reversa "Nier-Johnson", que confere alto poder de resolução. A baixa e média resoluções compreendem uma posição de fenda de 300 e 3000. Neste trabalho foi utilizada a média resolução, a fim de resolver a interferência do carbeto de argônio (ArC<sup>+</sup>) no pico do cromo.

Os problemas ambientais são, atualmente, de fundamental importância, uma vez que estão diretamente relacionados com a vida das pessoas e, por esta razão, o desenvolvimento da toxicologia analítica, na área ambiental, em especial no campo de poluição de metais, aumentou muito (Perkin Elmer's, 1997), o que colaborou sobremaneira para demonstrar a importância deste trabalho.

A metodologia padronizada foi considerada um dos meios adequados para a determinação de baixas concentrações dos metais estudados em amostras de cabelo.

## ABSTRACT

### High-resolution argon-induced coupled plasma mass spectrometry in metal determination of hair samples

The high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry has been recognized to be a sensitive, specific and multi-elemental technique. According to these characteristics, its application in analysis of hair samples is beginning to be investigated in Analytical Toxicology. This paper describes a method to identify and quantify some metals, as chromium, cobalt, nickel, cadmium and lead in human hair samples, using a HR-ICP-MS "Element", Finnigan MAT. The precision showed a coefficient of variation from 7.79 to 17.08% (external precision) and 0.56 to 5.84% (internal precision). The recovery was 95.97% for cadmium and 99.30% for lead. Limits of detection were obtained at  $\text{ng L}^{-1}$  levels for all elements. Results are in a good agreement with  $R^2$ , between 0.9995 to 0.9999. Present data indicate that HR-ICP-MS is applicable to the rapid and accurate multi-element determination, virtually free from spectral interference.

UNITERMS: Hair. HR-ICP-MS. Pb. Cd. Cr. Co. Ni.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALESSIO, L., APOSTOLI, P., DELLA ROSA, H. V. Toxicology of Metals. *Rev. Bras. Toxicol.*, São Paulo, v.4, n.1/2, p.1-5, 1991.

AN OVERVIEW of atomic spectroscopy: AA, GFAA, ICP, ICP-MS. In: PERKIN ELMER'S. *The guide to techniques and applications of atomic spectroscopy*. Section 1. São Paulo: Perkin-Elmer's, 1997, p.1-8. [catálogo]

BARNES, R.M. Advances in inductively coupled plasma mass spectrometry: human nutrition and toxicology. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, v.283, p.115-130, 1993.

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Community bureau of reference. Certified reference material: certificate of analysis. Brussels: BCR, 1991. [Trace elements in human hair, CRM 397]

FOO, S.C., KHOO, N.Y., HENG, A., CHUA, S.E., ONG, C.N., NGIM, C.H., JEYARATNAM, J. Metals in hair as biological indices for exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. Berlin, v.65, p.S83-S86, 1993.

GIEBMANN, U., GREB, U. High resolution ICP-MS: A new concept for elemental mass spectrometry. *Fresenius' J. Anal. Chem.*, Berlin, v.350, p.186-193, 1994.

GOYER, R.A. *Toxic effects of metals*. In: CASARETT AND DOULL'S TOXICOLOGY: The basic science of poisons. 5.ed. New York: McGraw Hill, 1996. cap.23, p.691-736.

GUPTA, R.K., BARNES, R.M. Resolving polyatomic interferences in the determination of chromium in biological samples. In: WINTER CONFERENCE ON PLASMA SPECTROCHEMISTRY, Scottsdale, 1998. *Proceedings*. Scottsdale, University of Scottsdale, 1988. TP23 [poster].

JARVIS, K.E., GRAY, A.L., HOUK, R.S. *Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry*. New York: Chapman Hall, 1992.

KOONS, R.D., PETERS, C.A. Axial distribution of arsenic in individual human hairs by solid sampling graphite furnace AAS. *J. Anal. Toxicol.*, London, v.18, p.36-40, 1994.

OKAMOTO, K., MORITA, M., QUAN, H., UEHIRO, T., FUWA, K. Preparation and certification of human hair powder reference material. *Clin. Chem.*, Washington, v.31, n.10, p.1592-1597, 1985.

PUCHYR, R.F., BASS, D.A., GAJEWSKI, R., CALVIN, M., MARQUARDT, W., UREK, K. Preparation of hair and blood for measurement of elements by ICP-MS. In: WINTER CONFERENCE ON PLASMA SPECTRO-CHEMISTRY, Scottsdale, 1998. *Proceedings*. Scottsdale, University of Scottsdale, 1988. ThP40.

RAGHUPATHY, L., HARADA, M., OHNO, H., NAGANUMA, A., IMURA, N., DOI, R. Methods of removing external metal contamination from hair samples for environmental monitoring. *Sci. Total Environ.*, Amsterdam, v.77, p.141-151, 1989.

RICKERT, W.S., KAISERMAN, M.J. Levels of lead, cadmium, and mercury in canadian cigarette tobacco as indicators of environmental change: results from a 21-year study (1968-1988). *Environ. Sci. Technol.*, Washington, v.28, n.5, p.924-927, 1994.

SALGADO, P.E.T. Toxicologia dos metais. In: OGA, S., ed. *Fundamentos de toxicologia*. São Paulo: Atheneu, 1996, cap.3.2, p.153-172.

WASIAK, W., CISZEWSKA, W., CISZEWSKI, A. Hair analysis. Part 1: differential pulse anodic stripping voltammetric of lead, cadmium, zinc and copper in human hair samples of persons in permanent contact with a polluted workplace environment. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, v.335, p.201-207, 1996.

WOLFSPERGER, M., HAUSER, G., GÖBLER, W., SCHLAGENHAUFEN, C. Heavy metals in human hair samples from austria and italy: influence of sex and smoking habits. *Sci. Total Environ.*, Amsterdam, v.156, p.235-242, 1994.

Recebido para publicação em 12/01/99.