

# AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO, PRECISÃO E LIMITE DE DETERMINAÇÃO NA ANÁLISE DE CABELOS HUMANOS PELO MÉTODO DE ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Luciana J. de Arauz , Mitiko Saiki , Marina B. A. Vasconcellos e Roberto Fulfaro

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP  
Supervisão de Radioquímica, Caixa Postal 11049  
05422-970, São Paulo, S.P., Brasil

## RESUMO

Apresentam-se neste trabalho os resultados obtidos no estudo da exatidão, precisão e limite de determinação dos elementos Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Na, Sb, Sc, Se, V e Zn na análise de cabelos humanos pelo método instrumental de análise por ativação com nêutrons. A precisão dos resultados examinada pela análise de uma amostra de cabelo apresentou, em geral, desvios padrões relativos variando de 3,9 a 16,2 %. A exatidão dos resultados foi avaliada pela análise dos materiais de referência GBW 09101 Human Hair e NIES nº 5 Human Hair. O limite de determinação foi calculado pelo critério de Currie.

## I. INTRODUÇÃO

Análises de elementos traço em cabelos humanos continuam sendo assunto de grande interesse e popularidade devido as valiosas informações que podem ser obtidas por meio de suas determinações.

As análises de cabelo tem sido realizadas para uso na diagnose e prevenção de doenças, na avaliação do estado nutricional dos indivíduos, no estudo da poluição ambiental e no estudo do comportamento dos indivíduos.

Além disso, as análises de cabelos apresentam inúmeras vantagens quando comparadas com as análises de fluidos biológicos (sangue, urina) ou tecidos da biopsia e tem sido realizadas em diversos laboratórios em escala comercial. Também os elementos traço no cabelo estão presentes em maior quantidade do que nos demais tecidos do corpo humano e portanto facilitam sua detecção<sup>[1]</sup>. Entretanto dados sobre a garantia de qualidade dos resultados da análise de cabelo não tem sido praticamente apresentados.

Conseqüentemente torna-se de grande importância avaliar a exatidão, precisão e limite de determinação do método analítico para demonstrar a validade dos resultados obtidos.

Entre as técnicas comumente utilizadas atualmente, na análise de cabelos, destacam-se a espectrometria de absorção atômica, espectrometria de emissão atômica com plasma, espectrometria de fluorescência com raio-X, espectrometria de emissão de raio-X induzidas por partículas carregadas, espectrometria de massa com fonte de emissão, voltametria e análise por ativação com nêutrons instrumental<sup>[2]</sup>.

No presente trabalho foi utilizado o método instrumental de análise por ativação com nêutrons. Este método tem sido muito utilizado na análise de cabelos devido a sua alta sensibilidade, excelente exatidão e precisão além de possibilitar uma análise simultânea multielementar. Greenberg<sup>[3]</sup> ressalta a importância do uso da técnica de ativação neutrônica na análise de materiais biológicos devido a dificuldade da análise de elementos biologicamente importantes por outras técnicas analíticas.

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos pelo método de análise por ativação foram realizadas análises de uma amostra de cabelo, em replicatas bem como os materiais de referência certificados a saber: GBW 09101 Human Hair<sup>[4]</sup> proveniente da Shanghai Institute of Nuclear Research Academia Sinica e NIES nº 5, Human Hair<sup>[5]</sup> proveniente do National Institute for Environmental Studies, (NIES) Environment Agency, Japan.

## II. PARTE EXPERIMENTAL

**Coleta e Preparação da Amostra de Cabelo.** Para avaliar a precisão dos resultados foi coletada uma amostra de cabelo de um individuo sadio residente na cidade de São Paulo, Brasil. Esta coleta consistiu em cortar os fios do cabelo da região occipital, parte posterior da cabeça. Esta amostra foi codificada como amostra C1. No laboratório os fios desta amostra foram cortados com o auxílio de um par de tesouras de aço inoxidável, em segmentos menores que 1 mm de comprimento. Para remover as contaminações de origem exógena dos cabelos a amostra foi submetida ao seguinte processo de lavagem adequado<sup>[6]</sup>: quatro vezes com solução de Triton X100 2%, uma vez com acetona p.a.

da Merck, três vezes com água destilada e na etapa final mais duas vezes com acetona. Em cada etapa de lavagem a amostra foi agitada com o auxílio de uma bagueta e mantida por cerca de dez minutos mergulhada na solução. A amostra obtida em um papel de filtro foi colocada em uma cabine de fluxo laminar 100, para sua secagem a temperatura ambiente.

Após a lavagem e secagem, a amostra foi guardada em um dessecador, para evitar a contaminação ou eventual absorção da umidade do ar.

**Preparação dos Padrões Sintéticos.** Inicialmente as soluções padrões estoques dos elementos foram preparadas dissolvendo-se os elementos na forma de metais, óxidos ou sais, todos de alta pureza com reagentes adequados. A partir destas soluções foram preparadas as soluções padrões mais diluídas contendo um ou mais elementos. Aliquotas de 50 µl destas soluções foram pipetadas com um pipetador automático Eppendorf, sobre tiras de papel Whatman nº 41, as quais foram secas a temperatura ambiente dentro de um dessecador. No caso do mercúrio, a solução padrão deste elemento foi pipetada junto com a solução de tioacetamida 1%, segundo Noguchi e colaboradores<sup>[7]</sup>, para evitar a perda deste elemento durante a irradiação no reator. Após a secagem, essas tiras foram dobradas com o auxílio de pinças e embaladas em invólucros plásticos limpos para posterior irradiação com a amostra no reator nuclear. As massas dos elementos no padrão variaram de 0,1 a 1006 µg.

**Determinação das Percentagens de Perda na Secagem dos Materiais de Referência.** Para testar a exatidão dos resultados foram analisados os materiais de referência GBW 09101 Human Hair e o NIES nº 5 Human Hair. Para se expressar os resultados analíticos dos elementos na base seca do material foi realizada a determinação da perda de peso na sua secagem. A apresentação dos resultados na base seca permite a comparação dos resultados obtidos por diferentes laboratórios, uma vez que materiais biológicos podem apresentar diferentes graus de umidade dependendo das condições de armazenamento. Aliquotas de 250 mg de cada um dos materiais de referência foram secas em pesa filtros numa estufa. O GBW 09101 Human Hair foi submetido a secagem a uma temperatura de 90°C por um período de 4 horas, enquanto que o NIES nº 5 Human Hair permaneceu a 85°C por 4 horas. Os valores das percentagens de perda de peso obtidos na secagem foram de 9,77% para o GBW 09101 Human Hair e 6,03% para o NIES nº 5 Human Hair.

**Procedimento para a Análise por Ativação Instrumental.** Pesaram-se cerca de 150 mg da amostra em invólucros plásticos previamente limpos em ácido nítrico diluído e água destilada. Tais envelopes foram selados com o auxílio de um ferro elétrico para solda. Os invólucros contendo as amostras de cabelos ou de material de referência, juntamente com os invólucros dos padrões sintéticos foram irradiados no reator nuclear IEA-R1. As irradiações curtas sob fluxo de nêutrons térmicos de

0,425. 10<sup>12</sup> n .cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, por um período de 5 minutos foram realizadas para a determinação dos elementos cujos radioisótopos correspondentes apresentam meias-vidas curtas, como Al, Cl, Cu, K, Mg, Mn, Na e V. A irradiação intermediária de 1 hora sob fluxo de nêutrons térmicos de 10<sup>12</sup> n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> para determinação dos elementos As, Cu, Hg, K, e Na. Na irradiação longa de 16 horas, as amostras e padrões foram envoltos em folha de alumínio, para evitar que ocorra eventual rompimento do envelope do plástico. O fluxo de nêutrons térmicos utilizado neste caso foi de 10<sup>13</sup> n .cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> para análise de As, Br, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, K, Na, Sc, Sb, Se e Zn

Os radioisótopos e as respectivas energias dos raios gama (em keV) utilizados foram: <sup>28</sup>Al (1779,0); <sup>76</sup>As (559,1 e 657,0); <sup>82</sup>Br (776,5); <sup>47</sup>Ca (159,4 e 1297,1); <sup>115</sup>Cd (336,3 e 527,9); <sup>38</sup>Cl (1642,7); <sup>60</sup>Co (1173,2 e 1332,5); <sup>51</sup>Cr (320,1); <sup>64</sup>Cu (1345,8) e <sup>66</sup>Cu (1039,2); <sup>59</sup>Fe (1099,2 e 1291,6); <sup>197</sup>Hg (68,10 e 77,34); <sup>42</sup>K (1524,6); <sup>24</sup>Na (1368,6); <sup>27</sup>Mg (843,8 e 1014,4); <sup>56</sup>Mn (846,8 e 1810,7); <sup>46</sup>Sc (889,4); <sup>122</sup>Sb (564,2); <sup>52</sup>V (1434,4) e <sup>65</sup>Zn (1115,6).

Foram realizadas contagens das amostras e padrões para diferentes tempos de decaimento para a determinação de um número maior de elementos, bem como para eliminar o problema das interferências espectrais.

Para medida das atividades gama foi utilizado um detector de Ge hiperpuro modelo GMX20190 da EG & G Ortec conectado a um módulo ADCAM 918A, ligado a um microcomputador da linha IBM-PC e eletrônica associada. Para aquisição dos dados foi utilizado o programa MAESTRO II da EG & G Ortec. A resolução FWHM do sistema utilizado foi de 0,80 keV para fotopico de 121,97 keV do <sup>57</sup>Co e 1,77 keV para o fotopico de 1332,47 keV do <sup>60</sup>Co. A análise dos espectros gama foi feita usando o programa de computação GEMINI2, o qual fornece os valores das energias dos raios gama dos radioisótopos formados e as taxas de contagens (área sob o pico). Conhecendo os valores das taxas de contagens da amostra e padrão, bem como a massa do elemento no padrão, calculou-se a concentração do elemento na amostra, por meio da relação:

$$C_a = m_p \cdot A_a \cdot e^{0,693 (t_d - t_d_p) / T_{1/2}} / A_p \cdot M_a \quad (1)$$

onde os índices a e p se referem a amostra e padrão, respectivamente.

A = taxa de contagem

M<sub>a</sub> = massa total da amostra

T<sub>1/2</sub> = meia-vida do radioisótopo

m<sub>p</sub> = massa do elemento no padrão

C<sub>a</sub> = concentração do elemento na amostra

t<sub>d</sub> = tempo de decaimento

O termo  $e^{0,693 (t_d - t_d_p) / T_{1/2}}$  da relação (1) permite o cálculo das taxas de contagens da amostra e padrão para o mesmo tempo de decaimento.

### III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão as médias de pelo menos quatro determinações obtidos na análise da amostra de cabelo C1 e em materiais de referência GBW 09101 Human Hair e NIES n° 5 Human Hair, com os respectivos valores dos certificados. Fazendo uma comparação dos resultados obtidos com os valores dos certificados verifica-se que existe uma boa concordância para a maioria dos elementos

analisados. Para os elementos As, Ca, Cd, Co, Fe, Hg, K, Mn, Na, Se e Zn as percentagens de erros relativos foram inferiores a 15%. Os resultados menos satisfatórios foram obtidos para Al, Cr, Cu e Mg. Para o Mg no material de referência NIES n° 5 Human Hair foi obtida uma concentração mais alta que o valor do certificado, devido

TABELA 1. Elementos Traço em Amostra de Cabelo C1 e em Materiais de Referência GBW 09101 Human Hair e NIES n° 5 Humam Hair.  
(Resultados em  $\mu\text{g/g}$  a menos que esteja indicado)

Elemento	Amostra C1	"GBW 09101 Humam Hair"		"NIES n°5 Humam Hair"	
		Este trabalho	Ref. [4]	Este trabalho	Ref. [5]
Al		16,4 ± 2,8	13,3 ± 2,3	295 ± 45	(240)
As( $\mu\text{g/Kg}$ )	81,2 ± 3,2	496 ± 6,6	590 ± 71	88 ± 13	
Br	4,2 ± 0,3	0,664 ± 0,085	(0,602)	102 ± 1	(90)
Ca	109,5 ± 10,5	926 ± 92	1090 ± 72	820 ± 44	728 ± 30
Cd( $\mu\text{g/Kg}$ )	173,0 ± 20,9	90 ± 17	95 ± 12		200 ± 30
Cl	1226,3 ± 95,1	151 ± 19	(152)	251,6 ± 9,5	(250)
Co( $\mu\text{g/Kg}$ )		127 ± 13	135 ± 8	108 ± 2	(100)
Cr	0,82 ± 0,05	4,07 ± 0,45	4,77 ± 0,38	0,92 ± 0,09	1,4 ± 0,2
Cu	18,2 ± 0,9	22,1 ± 3,0	23,0 ± 1,4	13,4 ± 1,9	16,3 ± 1,2
Fe	31,3 ± 1,8	77,0 ± 4,8	71,2 ± 6,6	197 ± 19	225 ± 9
Hg	1,72 ± 0,08	2,02 ± 0,10	2,16 ± 0,21	4,25 ± 0,24	4,4 ± 0,4
K	1,6 ± 0,2	16,7 ± 3,9	(11,8)	30 ± 3	34 ± 3
Mg	37,1 ± 6,0	96,4 ± 10,4	105 ± 6	308 ± 36	208 ± 10
Mn	0,19 ± 0,02	2,68 ± 0,16	2,94 ± 0,20	5,00 ± 0,02	5,2 ± 0,3
Na	3,0 ± 0,2	269 ± 19	266 ± 12	24 ± 4	26 ± 1
Sb( $\mu\text{g/Kg}$ )	50,7 ± 6,7	227 ± 40	(210)	66 ± 3	(70)
Sc( $\mu\text{g/Kg}$ )		2,79 ± 0,15	(2,87)	49,5 ± 0,5	(50)
Se( $\mu\text{g/Kg}$ )	400,5 ± 52,6	574 ± 78	580 ± 50	1470 ± 160	(1400)
V		63,7 ± 7,2	(69)	0,55 ± 0,07	
Zn	122,8 ± 5,0	180 ± 18	189 ± 8	162 ± 5	169 ± 10

Espaços em branco indicam que o elemento não foi detectado ou determinado.  
Números entre parênteses indicam valores informativos.

provavelmente a interferência do Al. O Al na irradiação com nêutrons, por meio da reação nuclear (n,p), forma o  $^{27}\text{Mg}$ , o mesmo radioisótopo utilizado na análise do Mg. Além disso, quando se utiliza o fotopico de 843,8 keV do  $^{27}\text{Mg}$  a sua análise sofre a interferência da alta atividade do fotopico de 846,8 keV do  $^{56}\text{Mn}$ . Também a determinação do Al é dificultada devido a interferência da reação nuclear do fósforo. O  $^{31}\text{P}$  pela reação (n, $\alpha$ ) forma o  $^{28}\text{Al}$ . A discrepância do resultado obtido para o Cr no material NIES n<sup>o</sup>5 Human Hair se deve ao baixo teor deste elemento na amostra.

Os resultados da Tabela 1 indicam uma boa precisão dos resultados com desvios padrões relativos variando de 1 a 15%, para a maioria dos elementos analisados. Também os baixos valores de desvios padrões nos resultados obtidos para a amostra de cabelo C1 indicam que o procedimento adotado para o tratamento de cabelo foi adequado e há homogeneização da amostra.

Na Tabela 2 estão os valores do limite de determinação dos elementos obtidos para análise de uma amostra de cabelo humano. Estes valores foram calculados de acordo com o critério de Currie [8] aplicando-se a relação:

$$L_Q = 50 [ 1 + ( 1 + \mu_B / 12,5 )^{1/2} ] \quad (2)$$

onde

$L_Q$  é o número de contagens correspondentes a quantidade mínima detectável.

$\mu_B$  é o número de contagens de fundo ou "branco" obtido no espectro de raios gama da amostra. Os valores do limite de determinação variaram de 1,7  $\mu\text{g/Kg}$  a 155  $\mu\text{g/g}$  os quais mostram a alta sensibilidade do método de ativação com nêutrons para análise de cabelos.

Os resultados obtidos confirmam a viabilidade do uso do método de ativação com nêutrons a análise de cabelos, devido ao seu caráter multielementar e pela qualidade de resultados que podem ser obtidos.

## AGRADECIMENTOS

A FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

[1] MARLOWE, M., SCHNEIDER, H. G. and BLISS, L. B., *Hair Mineral Analysis in Emotionally Disturbed and Violence Prone Children*, Int. J. Biosoc. Med Res., vol. 13, n. 2, p. 169-179, 1991.

TABELA 2. Valores do Limite de Determinação na Análise de Cabelos Humanos. (Resultados em  $\mu\text{g/g}$  a menos que esteja indicado)

Elemento	Radioisótopo e $E_\gamma$ ( em keV)	Limite de determinação
Al	$^{28}\text{Al}$ (1779,0)	1,6
As, $\mu\text{g/Kg}$	$^{76}\text{As}$ (559,1)	7,3
Br	$^{82}\text{Br}$ (776,5)	0,03
Ca	$^{47}\text{Ca}$ (159,4)	126
Cd	$^{115}\text{Cd}$ (336,3)	0,231
Cl	$^{38}\text{Cl}$ (1642,7)	25,9
Co, $\mu\text{g/Kg}$	$^{60}\text{Co}$ (1173,2)	7,6
Cr	$^{51}\text{Cr}$ (320,1)	0,161
Cu	$^{66}\text{Cu}$ (1039,2)	6,6
Fe	$^{59}\text{Fe}$ (1099,2)	9,1
Hg	$^{197}\text{Hg}$ (77,3)	0,18
K	$^{42}\text{K}$ (1524,6)	9,2
Mn	$^{56}\text{Mn}$ (846,8)	0,13
Mg	$^{27}\text{Mg}$ (1014,4)	155
Na	$^{24}\text{Na}$ (1368,6)	11,4
Sb, $\mu\text{g/Kg}$	$^{122}\text{Sb}$ (564,2)	3,3
Sc, $\mu\text{g/Kg}$	$^{46}\text{Sc}$ (889,4)	1,7
Se	$^{75}\text{Se}$ (264,7)	0,17
V	$^{52}\text{V}$ (1434,4)	0,10
Zn	$^{64}\text{Zn}$ (1115,6)	0,70

[2] KATZ, S. A. and CHATT, A., *Hair analysis : Applications in the biomedical and environmental sciences*, VCH Publishers, Inc., N.Y., p. 85, 1988.

[3] GREENBERG, R. R., *The role of neutron activation analysis in the certification of NBS standard reference materials*, J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 113, n.1, p. 233-247, 1987.

[4] Shanghai Institute of Nuclear Research Academia Sinica, Certificate of Certified Reference Material GBW 09101 Human Hair, China, Abril, 1988.

[5] National Institute for Environmental Studies Japan Environment Agency, NIES Certified Reference Material nº 5 Human Hair, Japan, Março, 1985.

[6] SMITH, B. L., Doctor's Data Laboratory IL, USA, Comunicação pessoal.

[7] NOGUCHI, K., SHIMIZU, M. and SAIRENJI, E., Neutron activation analysis of mercury contents in head hair of dentists in Japan, J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles 90 , n.1, p. 217-223, 1985.

[8] CURRIE, L. A., Limits for qualitative detection and quantitative determination, Anal. Chem., vol. 40, n. 3, p. 586-593, 1968.

#### ABSTRACT

In this work, the accuracy, precision and determination limit were evaluated in the determination of Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Na, Sb, Sc, Se, V and Zn in human head hair by instrumental neutron activation analysis. The precision was examined by analyzing a sample of human hair and the results of relative standard deviations obtained varied from 3.9 to 16.2%. The accuracy of the results was evaluated by using reference materials GBW 09101 Human Hair and NIES nº5 Human Hair. The determination limit was calculated according to Currie criterion.