

# APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO À DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM APARAS DE UNHAS HUMANAS

Amilton Reinaldo Aguiar e Mitiko Saiki

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

## RESUMO

Apresentam-se neste trabalho os resultados da análise por ativação com nêutrons de aparas de unhas do grupo de controle constituído de indivíduos saudáveis e do grupo de pacientes portadores da doença fibrose cística. Por meio de irradiações curtas e longas de aparas de unhas com nêutrons do reator nuclear de pesquisa IEA-R1m, foram analisados os elementos Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se e Zn. Os resultados médios obtidos para a maioria dos elementos do grupo controle estão dentro das faixas de concentrações publicadas para unhas de indivíduos normais. Entretanto, o grupo dos pacientes apresentou concentrações de vários elementos mais altas que as do grupo de indivíduos saudáveis. O controle analítico quanto a precisão e a exatidão dos resultados foi realizado por meio das análises dos materiais biológicos de referência Bovine Liver 1577b e Oyster Tissue 1566a, ambos provenientes do National Institute of Standards & Technology (NIST).

**Palavras-chave:** Elementos traço, análise por ativação com nêutrons, fibrose cística, unhas.

## I. INTRODUÇÃO

As unhas vêm sendo objeto de inúmeras pesquisas para o estudo da correlação entre os níveis de elementos traço nelas presentes com o estado de saúde e nutricional de indivíduos.

Estudos epidemiológicos têm indicado que as concentrações de elementos presentes nas unhas, cabelos, suor, etc. podem ser utilizadas na diagnose de doenças como a fibrose cística, anemia, câncer e na avaliação da suplementação alimentar.

Dentre os diversos trabalhos sobre o estudo da correlação de doenças com os teores dos elementos contidos nos tecidos humanos, destaca-se o de Ali e colaboradores[1], que avaliaram os teores de Ca, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn em cabelos de dois grupos de crianças sob diferentes condições de nutrição. Estes pesquisadores concluíram que, dentre os elementos analisados, apenas os teores de Cu apresentaram uma correlação com as doenças nutricionais. Olguim e colaboradores[2], comparando os níveis de Na e Cl encontrados em unhas e cabelos de crianças portadoras da doença fibrose cística, concluíram que os seus teores nestas amostras, apesar de apresentarem tendências de serem mais altos para o grupo de portadores da doença, não mostraram diferenças significativas.

Além disso, as análises de unhas e cabelos têm sido de grande interesse para a identificação ou para a classificação de grupos de indivíduos segundo sua nacionalidade, área de ocupação, hábitos alimentares e de contaminações ambientais. Kucera e colaboradores[3] determinaram os níveis de V em amostras de aerossóis, unhas e cabelos para avaliar a contaminação ambiental proveniente de uma usina de produção de pentóxido de vanádio.

O objetivo do presente trabalho consistiu em aplicar o método instrumental de ativação com nêutrons na análise de aparas de unhas de indivíduos saudáveis para uma comparação dos seus teores com aqueles obtidos de pacientes portadores da doença fibrose cística (CF), assim como com os valores normais de referência apresentados na literatura.

A CF é uma doença hereditária que se caracteriza por disfunções nas glândulas endócrinas do organismo, atacando os pâncreas e a mucosa pulmonar, vindo a promover insuficiência pulmonar, doença pulmonar crônica e aumento dos níveis de eletrólitos no suor. A diagnose da CF é feita baseando-se nos resultados da análise dos níveis de cloretos presentes no suor. Contudo, análises de tecidos humanos como as unhas também têm sido uma ferramenta muito útil na diagnose desta doença.

## II. PARTE EXPERIMENTAL

Coleta das amostras de unhas. Esta coleta foi realizada com o auxílio de um par de tesouras de aço inoxidável ou cortadores e as amostras foram acondicionadas em invólucros plásticos. Foram coletadas amostras de unhas das mãos do grupo controle constituído de indivíduos saudáveis de diferentes idades e de ambos os sexos da cidade de São Paulo. As amostras de unhas das mãos e dos pés do grupo portador de CF foram coletadas de crianças no Instituto da Criança da Faculdade de Medicina da USP.

Tratamento das amostras. O tratamento exigiu a remoção prévia da contaminação de origem exógena, por meio das lavagens das unhas sob agitação mecânica por 30 min, com a solução de Triton-X100 2%, seguidas de lavagens com água destilada e acetona p.a. da Merck. As unhas foram separadas da solução e a sua secagem foi feita à temperatura ambiente sobre papéis de filtro.

Para a análise, cerca de 60 a 100 mg de amostra foram pesados em invólucros de plástico e selados usando ferro elétrico para solda.

Preparação dos padrões de elementos. Os padrões dos elementos a serem analisados foram preparados pipetando-se alíquotas de 50 µL das soluções padrões contendo um ou mais elementos sobre tiras de papel de filtro Whatman nº 42, as quais foram deixadas num dessecador a temperatura ambiente para a sua secagem. Estas soluções padrão foram previamente preparadas dissolvendo sais, óxidos ou elementos na forma metálica, todos de grau p.a., com reagentes convenientes.

As tiras de papel de filtro foram dobradas e colocadas em invólucros de plástico, os quais também foram selados usando ferro elétrico de solda.

Análise dos materiais biológicos de referência. Para avaliar a precisão e a exatidão dos resultados foram analisados os materiais de referência Bovine Liver 1577b e Oyster Tissue 1566a, fornecidos pelo National Institute of Standards and Technology (NIST). Para análise, foram utilizados cerca de 150 a 200 mg do material e as demais condições experimentais foram as mesmas da análise de unhas. Para expressar os resultados destas análises na base seca do material, foram feitas as determinações das percentagens de perda a 85° C até a obtenção de peso constante nesta secagem. Os valores de perda de peso obtidos foram 7,18% para Bovine Liver e 5,97 % para Oyster Tissue.

Metodologia. Utilizando-se a técnica de análise por ativação comparativa, amostras e padrões foram irradiados juntos em dispositivos apropriados, sob fluxo de nêutrons térmicos do reator de pesquisa IEA-R1m, do IPEN-CNEN, São Paulo.

Foram realizadas duas séries de irradiações. As irradiações curtas de 5 min foram feitas sob um fluxo de

nêutrons térmicos de  $4,2 \cdot 10^{11} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , para a determinação dos elementos Al, Cl, Cu, K, Mg, Mn e Na. As irradiações longas de 16 h, a um fluxo de  $10^{13} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , foram feitas para a determinação dos elementos As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, K, Na, Se e Zn.

As medidas de atividade gama induzida nas amostras e padrões foram realizadas utilizando-se um detector de Ge hiperpuro modelo GEM 20190 da EG & G Ortec conectado a uma placa ACE8K, a um microcomputador da linha IBM-PC e eletrônica associada. Para aquisição dos dados foi utilizado o programa MAESTRO II e para a análise dos espectros foi utilizado o programa VISPECT2.

Os radioisótopos utilizados no presente trabalho foram:  $^{28}\text{Al}$ ,  $^{76}\text{As}$ ,  $^{82}\text{Br}$ ,  $^{47}\text{Ca}$ ,  $^{115}\text{Cd}$ ,  $^{38}\text{Cl}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Cu}$ ,  $^{59}\text{Fe}$ ,  $^{42}\text{K}$ ,  $^{27}\text{Mg}$ ,  $^{56}\text{Mn}$ ,  $^{24}\text{Na}$ ,  $^{75}\text{Se}$  e  $^{65}\text{Zn}$ . As concentrações dos elementos foram calculadas pelo método comparativo de análise por ativação.

Cálculos. No método comparativo de análise por ativação, considera-se que a atividade gama induzida a um radioisótopo é proporcional à massa do elemento correspondente. Conhecendo-se as taxas de contagem  $A_a$  (da amostra) e  $A_p$  (do padrão), além da massa  $m_p$  do elemento no padrão, pode-se calcular a concentração  $C_a$  do elemento na amostra, por meio da relação (1):

$$C_a = \frac{A_a \cdot m_p}{A_p \cdot M_a} \cdot e^{\left( \frac{0,693 \cdot (t_A - t_P)}{T_{1/2}} \right)} \quad (1)$$

onde:

- $A_a$  - taxa de contagens da amostra
- $A_p$  - taxa de contagens do padrão
- $m_p$  - massa do elemento no padrão
- $M_a$  - massa total da amostra
- $t_A$  - tempo de decaimento da amostra
- $t_P$  - tempo de decaimento do padrão
- $T_{1/2}$  - meia-vida do radioisótopo medido

## III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os resultados obtidos nas análises de unhas foram calculadas as médias aritméticas e geométricas, tendo-se em vista que em estudos populacionais que utilizam tecidos biológicos, o conjunto de dados experimentais obedecem à distribuição de Poisson (ou de log-normal), afastando-se da distribuição normal de Gauss.

Na TABELA 1 são apresentados os resultados obtidos nas análises das unhas de indivíduos do grupo controle, os quais indicam que os elementos Al, Br, Ca, Cl, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn estão presentes em teores mais altos, da ordem de ppm e os elementos As, Cd, Co, Cr e Se na ordem de ppb. Na TABELA 1 estão também as faixas de concentrações de elementos em unhas do grupo de população normal apresentados por Cesareo[4].

TABELA 1. Concentrações de elementos traço em unhas das mãos de indivíduos do grupo controle

Elemento	Número de Amostras	Média Aritimética	Intervalo de Concentração	Média Geométrica	Mediana	Valores da literatura[4]
Al (ppm)	21	68±48	7,6 - 207	52,1×÷2,2	52,2	130 - 930
As (ppb)	18	94±96	36 - 403	73,2×÷1,9	66,3	200 - 3000
Br(ppm)	23	13±20	0,73 - 78,2	4,4×÷4,4	2,3	9
Ca (ppm)	23	755±416	257 - 2120	677,9×÷1,6	686,0	370 - 3400
Cd (ppb)	20	291±213	41 - 995	229,2×÷2,1	230,0	80 - 3400
Cl (ppm)	23	634±347	121 - 1424	536,3×÷1,9	578,0	1000 - 3600
Co (ppb)	21	52±37	11 - 132	41,3×÷2,0	33,4	55
Cr (ppb)	13	466±229	167 - 962	417,3×÷1,6	465,0	5500
Cu (ppm)	17	7,4±4,6	1,7 - 15	5,8×÷2,1	6,7	18
Fe (ppm)	20	23±11	10- 47	20,1×÷1,7	18,4	27 - 350
K (ppm)	16	122±83	20 - 278	94,6×÷2,5	94,1	360 - 2800
Mg (ppm)	23	110±98	40 - 517	90,6×÷1,8	79,0	16 - 120
Mn (ppm)	23	0,61±0,62	0,15 - 3,17	0,47×÷2,0	0,4	0,04 - 2,1
Na (ppm)	23	461±341	36 - 1424	340,9×÷2,4	436,8	330 - 3000
Se (ppb)	23	703±107	473 - 927	694,6×÷1,2	704,0	750 - 8000
Zn (ppm)	23	121±26	82 - 193	118,5×÷1,2	122,7	70 - 300

A comparação dos resultados da TABELA 1 com os valores normais revela que os resultados médios obtidos para os elementos Cr e K são mais baixos que os valores normais apresentados por Cesareo. Para os demais

elementos, os dados obtidos estão dentro das faixas de concentrações apresentadas para os indivíduos normais.

TABELA 2. Concentrações de elementos traço em unhas das mãos de indivíduos portadores de CF

Elemento	Número de amostras	Média Aritimética	Intervalo de Concentração	Média Geométrica	Mediana
Al (ppm)	22	223±208	48 - 735	154,61×÷2,4	127,5
As (ppb)	18	103±65	36 - 250	87,3×÷1,8	75,4
Br(ppm)	22	5,5±3,2	3,5 - 13,7	4,7×÷1,8	4,5
Ca (ppm)	22	1306±767	608 - 3858	1168,1×÷1,6	939,5
Cd (ppb)	18	1361±1366	27 - 4566	693,8×÷4,1	902,0
Cl (ppm)	22	1566±602	699 - 2608	1450,0×÷1,5	1540,5
Co (ppb)	21	136±130	9,9 - 524	93,8×÷2,5	88,7
Cr (ppb)	22	1509±1270	211 - 5015	1141,8×÷2,2	1241,5
Cu (ppm)	18	42±66	9,1 - 260	13,7×÷4,8	9,6
Fe (ppm)	22	199±214	102 - 1015	134,6×÷2,4	123,9
K (ppm)	22	162±114	24 - 351	118,8×÷2,4	146,1
Mg (ppm)	21	140±135	0,18 - 460	50,9×÷8,5	109,0
Mn (ppm)	22	1,7±1,8	0,75 - 6,3	1,1×÷2,5	0,98
Na (ppm)	22	307,6±2,6	30 - 1078	307,6×÷2,6	410,5
Se (ppb)	22	577±143	348 - 1024	561,9×÷1,3	688,5
Zn (ppm)	22	141±42	55 - 221	134,3×÷1,4	136,1

TABELA 3. Concentrações de elementos traço em unhas dos pés de indivíduos portadores de CF

Elemento	Número de amostras	Média Aritimética	Intervalo de Concentração	Média Geométrica	Mediana
Al (ppm)	22	399±456	5,1 - 1696	208,2×±3,8	236,0
As (ppb)	22	176±175	38 - 756	128,7×±2,1	130,6
Br(ppm)	22	3,3±2,5	0,9 - 6,9	3,0×±1,6	3,0
Ca (ppm)	22	1493±975	609 - 5212	1311,0×±1,6	1273,5
Cd (ppb)	16	1051±684	210 - 1953	786,7×±2,4	1050,0
Cl (ppm)	21	2216±3095	511 - 10147	1229,3×±2,5	1003,0
Co (ppb)	22	135±152	14 - 695	86,3×±2,6	86,7
Cr (ppb)	22	971±607	165 - 2276	773,8×±2,1	784,0
Cu (ppm)	11	8,0±9,8	0,45 - 31	3,8×±3,8	4,7
Fe (ppm)	22	185±198	13 - 664	101,5×±3,3	127,3
K (ppm)	20	260±203	27 - 996	201,8×±2,2	197,0
Mg (ppm)	20	222±204	4 - 791	134,4×±3,5	159,5
Mn (ppm)	21	2,3±2,0	0,12 - 8,6	1,9×±2,1	1,6
Na (ppm)	20	490±218	214 - 885	442,4×±1,6	438,4
Se (ppb)	22	505±120	300 - 810	489,1×±1,3	510,5
Zn (ppm)	21	155±99	75 - 495	136,1×±1,7	118,5

Os resultados das unhas das mãos e dos pés de indivíduos portadores de CF apresentados respectivamente nas TABELAS 2 e 3 indicam que os teores encontrados para as unhas das mãos são da mesma ordem de grandeza dos encontrados para os pés. Porém, a comparação entre os valores médios obtidos para as unhas das mãos do grupo controle (TABELA 1) com os do grupo de pacientes

(TABELA 2) indicou que os portadores de CF apresentaram teores mais elevados para os elementos Al, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe e Mn.

Na TABELA 4 são apresentadas as médias de três a seis determinações de cada um dos elementos obtidos na análise de materiais de referência Bovine Liver e Oyster Tissue, juntamente com os valores dos certificados.

TABELA 4. Concentrações de elementos traço em materiais de referência Bovine Liver 1577b e Oyster Tissue 1566a

Elementos	Bovine Liver		Oyster Tissue	
	Este Trabalho	Ref.[5]	Este Trabalho	Ref.[6]
Al (ppm)	N.D. <sup>a</sup>	(3) <sup>b</sup>	230±20	205±12,5
As (ppb)	N.D.	(0,05)	13923±2616	14000±1200
Br(ppm)	10,6±0,4	(9,7)	61,6±7,3	-----
Ca (ppm)	N.D.	116±4	2118±164	1960±190
Cd (ppb)	521±62	500±30	3919±79	4150±380
Cl (ppm)	2792±90	2780±60	8224±140	8290±40
Co (ppb)	187,2±5,3	(250)	418±11	570±110
Cr (ppb)	318±106	-----	1591±103	1430±460
Cu (ppm)	159±22	160±8	73,7±8,0	66,3±4,3
Fe (ppm)	199,4±7,8	184±15	571±20	539±15
K (ppm)	10215±335	9940±20	8088±786	7900±470
Mg (ppm)	626±51	621±28	1176±131	1180±170
Mn (ppm)	10,4±0,7	10,5±1,7	12,2±0,9	12,3±1,5

Na (ppm)	2502±121	2420±60	4185±114	4170±130
Se (ppb)	762±39	730±60	2364±135	2210± 240
Zn (ppm)	138,6±7,5	127±16	947±35	830±57

a. Indica elemento não detectado ou não determinado.

b. Números entre parênteses são valores informativos.

A comparação dos resultados obtidos com os valores certificados apresentou, em geral, uma boa concordância, com erros percentuais inferiores a 12,0 %, excetuando-se o resultado obtido para Co em Oyster Tissue, que foi de 27%. A precisão dos resultados obtidos foi satisfatória para a maioria dos elementos analisados, com desvios padrões relativos variando de 0,1 a 19,0%. Os resultados menos precisos e exatos foram obtidos para elementos presentes em teores menores que 1 ppm.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam a viabilidade da aplicação do método de análise por ativação na análise de unhas, para o estudo da doença fibrose cística.

#### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPESP pelo apoio financeiro. Ao Instituto da Criança da FMUSP pela coleta das amostras.

#### REFERÊNCIAS

[1] Ali, M., Khan, A.H., Wahiduzzaman, A.K.M. and Malek, M.A., **Trace Element Concentration in Hair of Bangladesh Children Under Normal and Malnutrition Conditions**, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, vol. 19 n.1, p. 81-87, 1997.

[2] Olguim, M.T., Jimenez-Reyes, M., Pena-Aguilar, M.T. and Sanchez-Aguirre, F.J., **Sodium and Chlorine Levels in Hair and Nails of Healthy and Cystic Fibrosis Children**, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles, vol. 181 n.1, p. 33-41, 1994.

[3] Kucera, J., Lener, J., Soukal, L. and Horáková, J., **Air Pollution and Biological Monitoring of Environmental Exposure to Vanadium Using Short-Time Neutron Activation Analysis**, Journal of Trace and Microprobe Techniques, vol. 14 n.1, p. 191-201, 1996.

[4] Cesareo, R., **Nuclear Analytical Techniques in Medicine**, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, vol. 8, p. 10, 1988.

[5] **National Institute of Standards & Technology**, Certificate of Analysis, Standard Reference Material 1577b Bovine Liver, 1991.

[6] **National Institute of Standards & Technology**, Certificate of Analysis, Standard Reference Material 1566a Oyster Tissue, 1989.

#### ABSTRACT

This work presents results obtained in nail clipping samples analyses. These nail samples were collected from healthy group of individuals and from patients with cystic fibrosis disease. Irradiation of nail clippings was carried out with a thermal neutron flux from  $10^{11}$  to  $10^{13}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> at the IEA-R1m nuclear research reactor and the elements Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se and Zn were determined. The results obtained for healthy group were within the range of concentrations published, for normal population. However for several elements, the group of patients presented higher concentrations than those presented for healthy individuals. The precision and the accuracy of the results were evaluated by analyzing reference materials NIST 1577b Bovine Liver and 1566a Oyster Tissue.