



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

**ESTUDO DA CORRELAÇÃO MERCÚRIO-SELÊNIO EM
AMOSTRAS DE CABELOS DE ÍNDIOS WARI**

MÔNICA SOARES DE CAMPOS

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais.**

**Orientador:
Prof. Dr. Jorge Eduardo de Souza Sarkis**

**São Paulo
2001**



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

***ESTUDO DA CORRELAÇÃO MERCÚRIO-SELÊNIO EM AMOSTRAS
DE CABELOS DE ÍNDIOS WARI***

Mônica Soares de Campos



Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências na área de Tecnologia Nuclear Materiais

Orientador:

Prof. Dr. Jorge Eduardo de Souza Sarkis

São Paulo
2001

**“Aos meus pais e
irmão pelo incentivo e apoio
incondicional”**

Agradecimentos

Ao Dr. Jorge Eduardo de Souza Sarkis pela orientação e confiança na elaboração da dissertação.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) pela viabilização deste trabalho.

À equipe do Instituto Evandro Chagas pelas amostras concedidas.

Ao Maurício Kakazu, cuja paciência e dedicação são exemplos para qualquer pessoa.

Aos amigos Elisa, Marcos Antônio, Donana, Miho, João, Irene, Estevam, Andéa, Ivan e Jorge Vaz pelo apoio moral, companheirismo e conversas estimulantes.

À Dona Tereza por tornar a nossa rotina um pouco mais agradável.

Ao Eduardo pelo apoio moral, técnico e os sábios conselhos.

À Prof^a Anna Maria Passos Felicíssimo (IQ-USP), que me iniciou no mundo da pesquisa científica.

Aos amigos do IQ-USP Adriana, Neide, Ana Cecília, Silvana, Kali, Prof^a Sílvia, Vítor, Lorenzo, Ruth, Zé Maria, Ernani, entre outros, pelos bons momentos dentro e fora do Instituto.

Ao Paulo pelo carinho, incentivo e compreensão em todos os momentos juntos.

À Sueli e à Júlia, que trouxe um brilho novo e especial à família.

E àqueles que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho...

...meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

ESTUDO DA CORRELAÇÃO MERCÚRIO-SELÊNIO EM AMOSTRAS DE CABELOS DE ÍNDIOS WARI

Mônica Soares de Campos

A determinação dos níveis de mercúrio no meio ambiente é importante devido à alta toxicidade apresentada, não somente pelo elemento, como por seus compostos. O mercúrio pode ser metilado, originando sua forma mais tóxica, o metilmercúrio, o qual sofre uma efetiva biomagnificação na biota.

A presença do mercúrio na Região Amazônica é normalmente atribuída às atividades garimpeiras. Entretanto, recentes trabalhos realizados na Região reportaram níveis de mercúrio considerados altos em áreas distantes da influência dos garimpos.

Estudos têm indicado que o selênio, um elemento essencial, pode exercer um efeito protetor contra os efeitos nocivos da contaminação por mercúrio.

O principal objetivo deste trabalho é investigar a correlação entre mercúrio e selênio em amostras de cabelo de comunidades indígenas não relacionadas às atividades garimpeiras.

Neste sentido, foram determinadas as concentrações de mercúrio e selênio em 22 amostras de índios Wari (Pacás Novos), residentes nas localidades de Doutor Tanajura e Deolinda, município de Guajará Mirim, estado de Rondônia.

As análises foram realizadas por meio das técnicas de espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio e geração de hidretos com sistema de injeção em fluxo (FIA-CV-AAS e FIA-HG-AAS).

A validação do procedimento analítico foi realizada utilizando-se o material certificado CRM 397 (Trace Elements in Human Hair), da Community Bureau of Reference (BCR), estudos de recuperação de analito adicionado, assim como avaliação das incertezas.

As concentrações de mercúrio variaram entre 1,41 e 11,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ (mediana de 5,43 $\mu\text{g g}^{-1}$). Estes valores encontram-se na mesma ordem de grandeza de estudos realizados com outras comunidades indígenas na Região, mas abaixo do valor de 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ associado pela Organização Mundial de Saúde (WHO) ao risco de 5% de dano neurológico em indivíduos adultos.

As concentrações de selênio variaram entre 1,76 e 3,83 $\mu\text{g g}^{-1}$ (mediana de 2,77 $\mu\text{g g}^{-1}$) e os valores não apresentaram grandes variações, como ocorreu com o mercúrio. Apesar de considerados normais, os valores obtidos são mais altos do que os encontrados em outras regiões.

Foi observada uma correlação positiva entre a razão Hg/Se e concentração de Hg. Os valores da razão molar aproximam-se de 1 para baixas concentrações de mercúrio, fato que pode estar relacionado à formação do complexo $\{(\text{Hg-Se})_n\}_m$ -Seleprotein P, o qual poderia diminuir a biodisponibilidade do mercúrio no organismo.

ABSTRACT

CORRELATION BETWEEN MERCURY AND SELENIUM CONCENTRATIONS IN HAIR SAMPLES FROM WARI INDIAN

Mônica Soares de Campos

The determination of levels of mercury compound levels in the environment is very important because of its high toxicity to humans and other animals. It is widely known that, when in nature, this metal can be methylated in aquatic systems, producing its more toxic form, the methylmercury, and this organo-metallic compound presents an effective biomagnification in aquatic biota.

The presence of mercury in the Amazon region is normally attributed to the gold mining activities. However, recent works have reported high levels of mercury in biological and environmental samples even in areas considered mercury free.

On the other hand, it is well known that selenium is an essential nutrient and may impart some protective effect against mercury and the toxicity of its compounds.

The main objective of this work is to investigate the correlation between mercury and selenium concentrations in hair samples from an Indian community which is not directly involved with gold mining activities.

For this purpose, the concentrations of total mercury and selenium were determined in 23 samples from Wari (Pacaás Novos) Indians living in Doutor Tanajura and Deolinda villages, Gujará-Mirim city, Rondônia State.

The analyses were carried out by cold vapor and hydride generation atomic absorption spectrometry with a flow injection system (FIA-CV-AAS and FIA-HG-AAS).

The validation of analytical procedure mercury was achieved by using the certificated material CRM 397 (Trace Elements in Human Hair), from Community Bureau of Reference (BCR) and recovery studies as well as the evaluation of the uncertainties.

The mercury concentration in the hair samples from Wari Indians ranged from 1.41 to 11.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ (median 5.43 $\mu\text{g g}^{-1}$). These values are in the same order of magnitude in comparison with the ones obtained with other Indian Communities, but lower than the value of 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ associated by World Health Organization (WHO), with a 5% risk of neurological damage to adults.

The selenium concentration ranged from 1.76 to 3.83 $\mu\text{g g}^{-1}$ (median 2.77 $\mu\text{g g}^{-1}$) and the values do not present a significant variation, as observed with mercury. Despite being considered normal for this element, the values can be considered high in comparison with other regions.

There is a positive correlation between Hg/Se ratios and Hg concentration. The values of molar ratio getting close to 1 to low Hg concentrations are related to the equimolar complex formed by $\{(\text{Hg-Se})_n\}_m$ -Seleprotein P, which can decrease the bioavailable mercury in the organism.

ÍNDICE GERAL

1	Introdução.....	01
2	Objetivos do Trabalho.....	07
3	Relevância do Trabalho.....	08
4	Área de Estudo.....	09
5	O Mercúrio.....	11
5.1	Propriedades Físico-Químicas, Fontes e Principais Utilizações.....	11
5.2	O Mercúrio no Meio Ambiente.....	12
5.3	O Mercúrio e a Saúde Humana.....	15
5.4	Métodos Para Determinação de Mercúrio Total.....	16
6	O Selênio.....	19
6.1	Propriedades Físico-Químicas, Fontes e Principais Utilizações.....	19
6.2	A Importância do Selênio e Suas Principais Funções no Organismo.....	20
6.3	Métodos Para Determinação de Selênio Total.....	21
7	Correlação Mercúrio-Selênio no Organismo.....	24
8	Os Elementos Cálcio, Zinco, Ferro e Magnésio – Principais Funções no Organismo.....	26
9	Instrumentação Analítica.....	28
9.1	Aspectos Teóricos da Absorção de Luz.....	28
9.2	O Espectrômetro de Absorção Atômica.....	30
9.3	Geração de Vapor Frio e Geração de Hídretos.....	31
9.4	Sistema de Injeção em Fluxo (FIA).....	33
10	Materiais e Métodos.....	34
10.1	Reagentes.....	34
10.2	Materiais.....	35
10.3	Equipamentos.....	36

10.4 Descontaminação de Materiais.....	36
10.5 Coleta das Amostras.....	37
10.6 Preparo das Amostra.....	38
10.7 Procedimento de Digestão das Amostras.....	39
10.8 Soluções Padrão Para Curvas Analíticas.....	41
10.9 Análise Instrumental das Amostras.....	42
10.9.1 Espectrômetro de Absorção Atômica.....	42
10.9.2 Análise de Selênio e Mercúrio - Geração de Hidretos e Geração de Vapor Frio em Sistema de Injeção em Fluxo.....	43
10.9.3 Análise de Ferro, Zinco, Magnésio e Cálcio – Atomização Por Chama.....	47
11 Resultados e Discussões.....	48
11.1 Curvas Analíticas.....	48
11.2 Limites de Detecção.....	49
11.3 Validação da Metodologia Desenvolvida Para Análise dos Elementos.....	49
11.3.1 Análise do Material Certificado CRM 397 (Trace Elements in Human Hair).....	50
11.3.2 Porcentagem de Recuperação de Analito Adicionado.....	53
11.4 Análise das Incertezas.....	56
11.4.1 Diagrama de Blocos Para Análise de Mercúrio.....	57
11.4.2 Identificação e Análise das Fontes de Incertezas Associadas Ao Procedimento.....	59
11.4.3 Quantificação das Incertezas.....	61
11.4.4 Incertezas Associadas à Concentração de Mercúrio (C_0).....	62
11.4.5 Incertezas Associadas à Massa da Amostra (m_a).....	65
11.4.6 Incertezas Associadas à Primeira Diluição (m_1).....	67
11.4.7 Incertezas Associadas à Segunda Diluição (m_2).....	69
11.4.8 Incertezas Associadas à Taxa de Recuperação do Analito (R_i).....	69
11.4.9 Incerteza Padrão Combinada do Método.....	70
11.4.10 Incerteza Expandida.....	72

Índice Geral

11.5	Análise de Mercúrio nas Amostras de Cabelo de Índios Wari.....	73
11.6	Análise de Selênio nas Amostras de Cabelo de Índios Wari.....	76
11.7	Análise de Cálcio, Magnésio, Ferro e Zinco nas Amostras de Cabelo de Índios Wari.....	79
11.8	Correlação Entre as Concentrações de Mercúrio e Selênio.....	81
12	Conclusões.....	83
13	Trabalhos Futuros.....	86
14	Produção Acadêmica.....	87
15	Referências Bibliográficas.....	90

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de mercúrio em amostras de cabelo provenientes de diferentes grupos indígenas da Região Amazônica.....	05
Tabela 2. Limites de detecção para análises de mercúrio total.....	18
Tabela 3. Limites de detecção para análise de selênio total.....	23
Tabela 4. Características das balanças utilizadas.....	36
Tabela 5. Condições utilizadas nas análises de mercúrio e selênio.....	45
Tabela 6. Condições utilizadas nas análises de cálcio, ferro, magnésio e zinco.....	47
Tabela 7. Valores de limites de detecção obtidos para os elementos estudados.....	49
Tabela 8. Resultados obtidos nas análises de material certificado CRM 397.....	50
Tabela 9. Resultados obtidos no testes de porcentagem de recuperação de analito para adição de mercúrio.....	54
Tabela 10. Resultados obtidos no testes de porcentagem de recuperação de analito para adição de selênio.....	54
Tabela 11. Resultados obtidos no testes de porcentagem de recuperação de analito para adição de cálcio, magnésio, zinco e ferro.....	55
Tabela 12. Resultados das soluções de calibração.....	62
Tabela 13. Valores das variáveis, incertezas padrão e incertezas padrão relativas.....	71
Tabela 14. Resultados obtidos nas análises de mercúrio nas amostras provenientes das localidades de Doutor Tanajura e Deolinda com as respectivas incertezas expandidas.....	74

Tabela 15. Valor do intervalo, média dos valores obtidos nas análises de mercúrio e alguns valores da literatura.....	75
Tabela 16. Resultados obtidos nas análises de selênio nas amostras provenientes das localidades de Doutor Tanajura e Deolinda com as respectivas incertezas expandidas.....	77
Tabela 17. Comparação entre os valores encontrados para selênio nas amostras analisadas e alguns valores da literatura.....	78
Tabela 18. Comparação entre os valores de cálcio, magnésio, ferro e zinco encontrados nas amostras analisadas e algumas faixas consideradas normais.....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa do estado de Rondônia com destaque para o rio Pacaás Novos.....	09
Figura 2. Esquema da biomagnificação de mercúrio na biota.....	14
Figura 3. Esquema de um espectrômetro de absorção atômica com sistema de geração de hidretos.....	31
Figura 4. Procedimento de lavagem das amostras.....	38
Figura 5. Esquema de digestão das amostras.....	40
Figura 6. Espectrômetro de absorção atômica AA220-FS da Varian.....	42
Figura 7. Esquema do sistema de injeção em fluxo utilizado.....	43
Figura 8. Montagem do sistema utilizado para geração de hidretos e vapor frio com destaque para o separador de fases.....	44
Figura 9. Célula de medida de quartzo.....	45
Figura 10: Exemplo de sinal analítico obtido.....	46
Figura 11: Exemplos de curvas analíticas para mercúrio e selênio.....	48
Figura 12. Gráfico de controle para análise de mercúrio no material certificado CRM 397.....	51
Figura 13. Gráfico de controle para análise de selênio no material certificado CRM 397.....	52
Figura 14. Gráfico de controle para análise de zinco no material certificado CRM 397.....	53
Figura 15. Diagrama de blocos para análise de mercúrio.....	58

Índice de Figuras

Figura 16. Diagrama de causa e efeito para o procedimentos de análise de mercúrio utilizado.....	60
Figura 17. Gráfico de comparação dos parâmetros que influenciam a incerteza global do método.....	72
Figura 18. Gráficos das concentrações de mercúrio e selênio nas amostras analisadas.....	81
Figura 19. Gráfico de razão Hg/Se por concentração de mercúrio nas amostras analisadas.....	82

1 INTRODUÇÃO

A preocupação mundial com as questões ambientais tem aumentado rapidamente nos dias atuais. A relevância deste complexo tema encontra-se fundamentada não somente na proteção do meio ambiente, mas também nas conseqüências resultantes na saúde das populações envolvidas.

Neste sentido, a poluição ambiental causada pelo mercúrio utilizado em áreas de garimpo na região amazônica tem tido grande enfoque. Além do comprometimento de um ecossistema extremamente complexo e equilibrado, a utilização abusiva deste metal pesado causa sérios riscos a saúde da população local.

Os principais riscos na utilização dos compostos de mercúrio não estão somente relacionados com a contaminação direta dos indivíduos expostos, visto que a liberação inadequada de rejeitos no meio ambiente pode também acarretar conseqüências danosas à saúde humana. Deste modo, a determinação dos níveis de mercúrio no meio ambiente é importante devido à alta toxicidade apresentada, não só pelo elemento, como também pelos seus compostos, principalmente o metilmercúrio.

As intoxicações por mercúrio ocorridas no Japão e no Iraque ilustram as proporções drásticas a que podem chegar as conseqüências da utilização indiscriminada e do descarte inadequado do mercúrio no meio ambiente.

Na cidade de Minamata no Japão, o acidente foi causado pela indústria Chisso Co, que utilizava sulfato de mercúrio como catalisador na produção de ácido

acético e seus derivados, e cloreto de mercúrio para a catálise do cloreto de vinila. Durante o procedimento de metilação do acetileno, parte do mercúrio proveniente do catalisador também era metilado e os rejeitos contendo metilmercúrio foram lançados na Baía de Minamata.

Em abril de 1956 foi identificado o primeiro caso de disfunção nervosa devido ao metilmercúrio. Posteriormente, até o ano de 1997 foram registradas 2209 pessoas afetadas e 887 mortes. Somente cerca de 40 anos após os primeiros casos, a Baía de Minamata foi considerada livre de contaminação (Lacerda, 1997).

No Iraque, na década de 1970 sementes tratadas com fungicidas organomercuriais e destinadas ao plantio foram consumidas pela população, sendo registrados 6530 casos de intoxicação e 49 mortes (Limaverde, 1996).

No Brasil, a presença mais relevante e estudada de contaminação por mercúrio no meio ambiente está relacionada à Região Amazônica.

Inicialmente, a presença de mercúrio na Região Amazônica foi atribuída somente às atividades garimpeiras. De fato, grandes quantidades de mercúrio proveniente do processo de amalgamação do ouro são descartadas no meio ambiente sem qualquer controle, constituindo um risco potencial à saúde humana e ao meio ambiente (Akagi et al, 1995; Malm et al, 1995; Malm, 1998).

Estima-se que aproximadamente 2000 toneladas de mercúrio foram descartadas nos sistemas fluviais e na atmosfera da Região desde o início das atividades de extração na década de 70 (Malm, 1998).

Apesar deste fato, estudos realizados em diferentes locais da Região Amazônica (Vanconcellos et al, 2000; Jardim e Fadini, 1999), demonstraram a presença de

níveis de mercúrio considerados altos em amostras ambientais e biológicas provenientes de áreas não relacionadas às atividades garimpeiras.

Atualmente, duas teorias procuram esclarecer a presença de mercúrio em regiões distantes de fontes de emissão relacionadas ao garimpo (Wasserman et al, 2001).

A primeira destas teorias está relacionada à ocorrência natural de mercúrio no solo da região, o qual é disponibilizado por meio de desflorestamento e assoreamento dos rios para os sistemas aquáticos, onde ocorre o processo de metilação.

Outra explicação para este fenômeno baseia-se na distribuição do metal, proveniente de fontes antrópicas, por meio de transporte atmosférico.

A Região Amazônica é caracterizada por um número ilimitado de rios e o consumo de peixes é uma das principais fontes de proteína animal tanto para os grupos indígenas, como também para populações ribeirinhas. Por esta razão, o alto consumo de pescados nesta região é considerado a principal via de contaminação por mercúrio na forma metilada para os habitantes desta área (Barbosa et al, 1995; Dorea et al, 1998).

Três tipos de amostras biológicas humanas são mais comumente utilizadas quando o objetivo é a análise das taxas de mercúrio total: urina, sangue e cabelo.

Amostras de urina são utilizadas para determinação de mercúrio em indivíduos que convivam direta ou indiretamente com a forma metálica, como trabalhadores das casas de queima e garimpeiros, pois parte do Hg^0 inalado pode ser oxidado a Hg^{2+} dentro das hemáceas dando origem a diversos compostos solúveis no meio que são acumulados nos rins, sendo eliminados através da urina. (Malm et al, 1997).

A análise de sangue fornece informações quanto ao acúmulo de mercúrio no organismo, pois todos os compostos que são absorvidos pelo organismo passam através da

corrente sanguínea. Porém a obtenção, conservação e manuseio das amostras de sangue apresenta algumas dificuldades, como a utilização de agentes anti-coagulantes e, principalmente quanto à necessidade da presença de profissionais especializados para coleta das amostras.

A utilização de amostras de cabelo confere várias vantagens, entre as quais, facilidades na obtenção e manuseio das amostras e principalmente o fato de se tratar de uma técnica não intrusiva.

O elemento é incorporado ao cabelo através do bulbo do folículo capilar e sua concentração depende da quantidade do elemento nos fluidos corporais (sangue, linfa) (Bencze, 1990). Assim a concentração de mercúrio no cabelo reflete sua concentração no sangue no momento em que o fio está sendo formado.

Segundo Malm e colaboradores (Malm et al, 1995, 1997) o cabelo humano pode ser considerado o melhor indicador para contaminação de mercúrio em populações expostas à forma metilada.

Vários artigos têm sido publicados relatando resultados de concentrações de mercúrio em amostras de cabelo provenientes de grupos indígenas da Região Amazônica. Alguns destes resultados são apresentados na TAB 1.

Tabela 1 : Concentrações de mercúrio em amostras de cabelo provenientes de diferentes grupos indígenas da Região Amazônica.

Área	Ano da Publicação	Concentração de Hg / $\mu\text{g g}^{-1}$
Índios Yanomani (Castro et al, 1991)	1991	1,40 – 8,14
Parque Xingu (Vasconcellos et al, 1994)	1994	6,9 – 34
Reserva Kayapó (Barbosa et al, 1998)	1998	Crianças: 2,0 – 20,40 Mulheres: 0,8 – 13,70
Parque Xingu (Vasconcellos et al, 2000)	2000	1,2 – 41,8

Apesar do alto consumo de pescados, quando comparado com outras regiões, os valores relatados encontram-se abaixo do nível de $50 \mu\text{g g}^{-1}$ associado a um baixo risco (5%) de dano neurológico em indivíduos adultos (WHO, 1990).

Uma das prováveis causas deste fato parece estar relacionada com a alta concentração de selênio presente em alguns alimentos consumidos na região, como peixes e castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*), que são colhidas na floresta nativa. Esta castanha apresenta uma concentração muito alta de selênio em sua composição (Ip and Lisk, 1994; Chang et al, 1995).

Ao contrário do mercúrio, o selênio é um elemento essencial ao funcionamento adequado do organismo humano. A ação de compostos deste elemento, como a Selenoproteína-P (Sel-P), pode estar relacionada com uma função protetora contra os efeitos nocivos do mercúrio (Barregard et al, 1990; Bjökman et al, 1995; Yoneda e Suzuki, 1997; Osman et al, 1998).

Devido a esta potencial ação protetora do selênio em relação à contaminação por compostos de mercúrio, diversos estudos tem sido realizados objetivando estabelecer uma correlação entre as concentrações de ambos elementos em diferentes materiais biológicos como cabelo, sangue total, plasma e urina humanos (Vanconcellos et al, 2000; Chai et al, 1998; Osman et al, 1998; Barregard et al, 1990), e ambientais, como peixes e outros alimentos de origem marinha (Capon e Smith, 1992; Dorea et al, 1998).

Um estudo mais detalhado das publicações referentes às correlações entre mercúrio e selênio será discorrido no capítulo 7 desta dissertação.

Além do selênio diversos outros elementos desempenham funções essenciais no organismo humano, agindo como construtores ou reguladores de funções vitais. Estes elementos, como por exemplo o ferro, o magnésio, o cálcio e o zinco, podem estar presentes na estrutura de enzimas ou outras moléculas importantes para o metabolismo humano.

2 OBJETIVOS DO TRABALHO

Os principais objetivos deste trabalho são avaliar as concentrações de mercúrio e selênio e realizar um estudo das interações destes dois elementos utilizando amostras provenientes de um grupo indígena da região Amazônica não exposto às influências do garimpo.

Foi realizada a determinação de alguns elementos relacionados ao estado nutricional dos indivíduos (cálcio, ferro, zinco, magnésio e selênio) com a finalidade de iniciar um estudo mais detalhado neste sentido.

Finalmente, outro objetivo deste trabalho é a implantação das técnicas de espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e geração de vapor frio em sistema de injeção em fluxo (FIA-HG-AAS e FIA-CV-AAS) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

3 RELEVÂNCIA DO TRABALHO

Este trabalho faz parte de um projeto em colaboração com a Universidade Federal do Pará (UFPA) e o Instituto Evandro Chagas (IEC), que visa estudar a contaminação de mercúrio na Região Amazônica.

Os aspectos mais relevantes deste trabalho consistem na avaliação da contaminação de mercúrio em uma população não exposta diretamente às influências das atividades garimpeiras, assim como trazer uma contribuição para os estudos da correlação mercúrio-selênio em amostras biológicas.

Outro aspecto importante é a avaliação de alguns elementos relacionados ao estado nutricional, visando o início de um estudo mais completo neste sentido, envolvendo as comunidades indígenas da Região Amazônica.

4 ÁREA DE ESTUDO

As localidades indígenas de Deolinda e Doutor Tanajura localizam-se no município de Guajará Mirim, estado de Rondônia. Os habitantes destas localidades pertencem à nação indígena Wari, também conhecida como Pacaás Novos.

A comunidade de Deolinda possui aproximadamente 30 habitantes e situa-se na margem direita do rio Mamoré. Na localidade de Doutor Tanajura residem cerca de 260 habitantes e esta situa-se na margem esquerda do rio Pacaás Novos (FIG. 1).

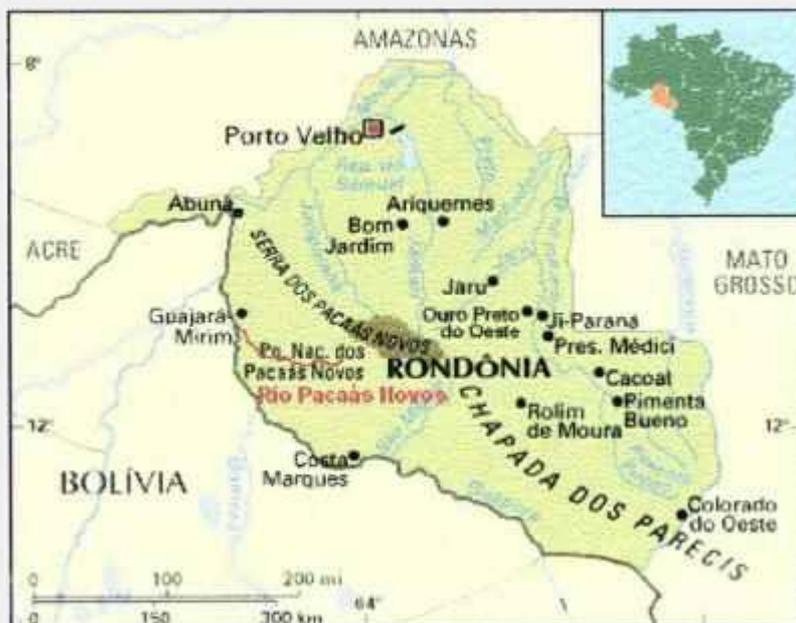


Figura 1: Mapa do estado de Rondônia com destaque para o rio Pacaás Novos.

O rio Pacas Novos é um tributário do rio Mamoré, que nasce nos Andes e, por sua vez, é tributário do rio Madeira, o mais importante do estado de Rondônia.

Não existem atividades garimpeiras conhecidas próximas a localidades estudadas (Sampaio e Silva, 1998).

Estas comunidades estão localizadas em áreas de difícil acesso e a nação indígena dos Wari foi uma das últimas a serem contatadas na região. Por este motivo os indivíduos conservam ainda hábitos sociais, religiosos e alimentares tradicionais de sua etnia, ao contrário de muitas comunidades indígenas que sofreram influências diretas de diversos povos.

O comércio é realizado por meio de trocas, sendo os principais produtos envolvidos, a farinha de mandioca produzida pelos indígenas e o óleo de soja proveniente de comerciantes de Guajará Mirim. Assim, os indivíduos consomem basicamente alimentos produzidos e coletados pelas próprias comunidades.

As principais atividades agrícolas resumem-se a plantações de subsistência: mandioca, milho e feijão. Os moradores também colhem frutos naturais da floresta, como, por exemplo, bananas e castanhas do Pará (*Bertholletia excelsa*).

Apesar de manterem algumas pequenas criações como galinhas, patos e porcos, a pesca é muito praticada e constitui a principal fonte de proteína animal para as comunidades.

5 O MERCÚRIO



5.1 Propriedades Físico-Químicas, Fontes e Principais Utilizações

O mercúrio é um metal de transição que pertence ao grupo 12 da tabela periódica. Possui número atômico 60 e massa atômica média de 200,59.

Apresenta-se como um metal prateado e no estado líquido em temperatura ambiente. Apresenta baixo ponto de ebulição (aproximadamente 356 °C ao nível do mar), em se tratando de um metal, sendo um bom condutor de eletricidade. Outra importante característica é a formação de amálgamas com outros metais como ouro, prata e outros.

O mercúrio apresenta em seus compostos número de oxidação +1 ou +2, no entanto o íon monovalente Hg^+ praticamente não existe, pois tendem a se dimerizar, formando o íon $[\text{Hg-Hg}]^{2+}$. Estes íons dão origem a um grande número de compostos orgânicos e inorgânicos.

É um elemento considerado raro na natureza, ocupando a 66ª posição na ordem de abundância relativa da crosta terrestre. Seu principal depósito natural é constituído por minério cinábrico (sulfeto de mercúrio - HgS), substância comumente encontrada em associação com outros minerais. A palavra cinábrio é originária da Índia, onde era usada para designar resina vermelha (Vieira, 1994).

Os maiores depósitos de minério de mercúrio estão na Espanha e na Itália, sendo responsáveis por 50% da produção mundial do metal. Existem ainda depósitos importantes nos Estados Unidos, Rússia, China, México e Canadá.

As poucas ocorrências de cinábrio no Brasil restringem-se ao estado de Minas Gerais, na região das cidades de Três Cruzes e Dom Bosco, não sendo conhecidas reservas economicamente expressivas no Brasil.

O mercúrio e seus compostos são utilizados, entre outras finalidades, em células eletrolíticas, destinadas à produção de NaOH e Cl₂ (indústrias de Cloro-Soda), em indústrias de síntese e na extração de ouro nas regiões de garimpo. Devido às suas propriedades fungicidas, alguns compostos organomercuriais foram utilizados no tratamento de sementes.

No Brasil, a grande parte do mercúrio metálico utilizado encontra-se relacionado às atividades garimpeiras desenvolvidas principalmente na Região Amazônica.

5.2 *O Mercúrio no Meio Ambiente*

Como já foi relatado anteriormente, a utilização e descarte inadequado de mercúrio no meio ambiente pode ser provocado por diversas fontes, visto que este é utilizado em diferentes atividades industriais e de extração.

Nos próximos capítulos enfocaremos as atividades garimpeiras, no entanto, a partir da liberação do elemento para o meio, os processos naturais ocorridos são praticamente os mesmos, independente da fonte de emissão.

O baixo ponto de ebulição do mercúrio e a propriedade de formar amálgamas constituem as características fundamentais para a utilização deste metal na extração, concentração e purificação de ouro nas regiões de garimpo.

Durante o processo de extração, o mercúrio é utilizado para aglutinar as pequenas partículas de ouro. Este amálgama é queimado nas “Casas de Queima” com a finalidade de separar as duas substâncias, liberando o mercúrio metálico na forma de vapor no meio ambiente. A forma metálica acumulada na atmosfera pode sofrer um processo de oxidação, catalisado por ozônio, originando íon Hg^{2+} que retorna ao ambiente aquático ou terrestre solubilizado nas águas da chuva.

Ao Hg^{2+} proveniente das precipitações, soma-se àquele oriundo de descartes nos sistemas fluviais. Após atingir o meio aquático, a distribuição e disponibilidade do metal são influenciadas pelas propriedades físico-químicas e biológicas do ambiente. As principais reações do íon em meio aquático são: redução à mercúrio elementar com posterior volatilização, deposição em sedimentos anaeróbicos, conversão a organomercuriais (principalmente o metilmercúrio) e adsorção a material particulado.

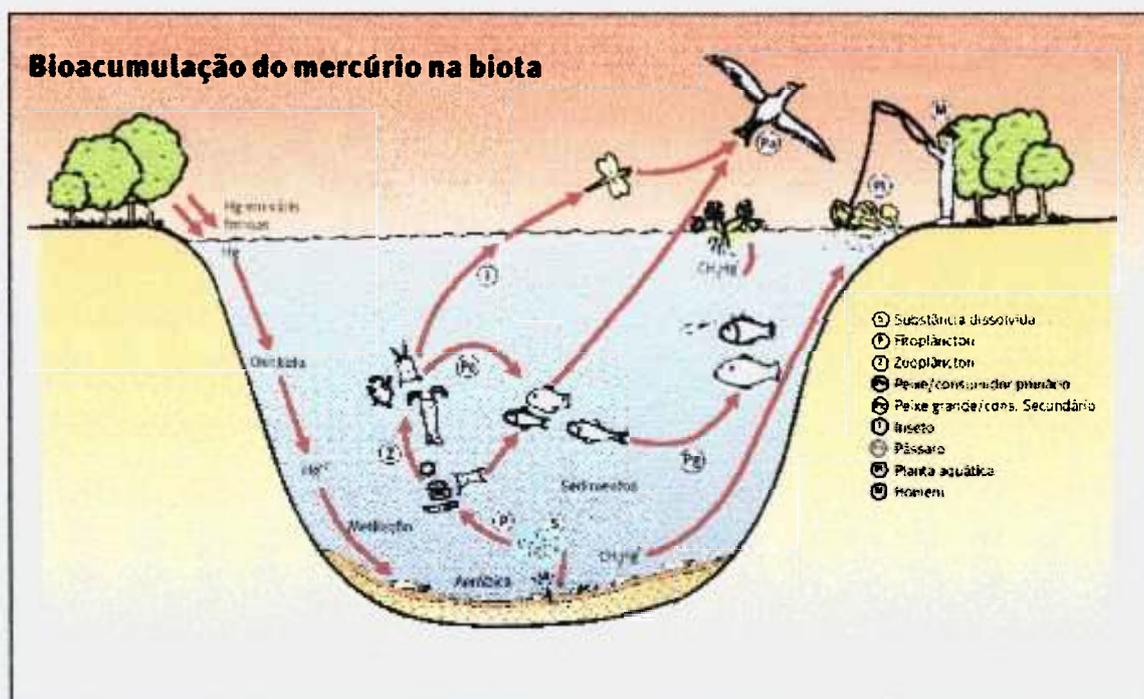
A baixa solubilidade em água apresentada pelo mercúrio metálico e a facilidade com que mercúrio iônico interage com material particulado favorece a retenção de consideráveis quantidades de mercúrio adsorvida a materiais particulados nos sedimentos dos rios.

O metilmercúrio é a forma mais tóxica apresentada pelo metal. A metilação biológica dos íons Hg^{2+} formando CH_3Hg^+ é realizada através de ação microbiana com a utilização da metilcobalamina $\text{CH}_3[\text{Co}]$, um derivado da vitamina B_{12} .

A concentração de metilmercúrio aumenta ao longo da cadeia alimentar pois a sua absorção é intensa e sua eliminação, lenta. A concentração do composto em um peixe depende da sua posição na cadeia alimentar sendo maior em espécies localizadas no topo

da cadeia alimentar, em particular em peixes carnívoros. (Santos et al, 2000; Barbosa *et al*, 1995).

Um esquema da bioacumulação de mercúrio na biota está representado na FIG. 2.



Fonte: <http://www.uol.com.br/cienciahoje/chmais/pass/ch152/emdia.pdf>

Figura 2: esquema da biomagnificação de mercúrio na biota.

O consumo de peixes contaminados é a rota mais importante de ingestão da forma metilada pela população humana, pois 90 % do mercúrio presente nos peixes encontra-se sob a forma metilada e sua absorção é muito grande (acima de 95%) (Malm et al, 1997).

5.3 O Mercúrio e a Saúde Humana

O primeiro grupo crítico exposto ao mercúrio são os trabalhadores das “Casas de Queima”. O mercúrio metálico é inalado durante a queima da amálgama, sendo quase totalmente absorvido pelos alvéolos pulmonares e apresentando um percentual de retenção de mais de 85% no organismo.

Após a absorção o mercúrio atravessa facilmente a membrana de células, atingindo vários tecidos, principalmente certas áreas do sistema nervoso central. Uma parte do mercúrio é oxidada na corrente sanguínea e acumula-se nos rins, sendo excretada através da urina, a qual é considerada o melhor indicador para exposição ao mercúrio metálico (Santa Rosa, 2000, WHO, 1991).

A intoxicação aguda por vapores de mercúrio metálico pode levar à severas lesões pulmonares e renais, irritabilidade e perda da libido além de reação psicótica (WHO, 1990).

No entanto o maior risco associado à contaminação por mercúrio está relacionado à sua forma metilada. O metilmercúrio apresenta uma grande afinidade por células nervosas, em especial pelas regiões corticais do cérebro. Praticamente 95% da dose ingerida é absorvida pela corrente sanguínea, atravessando facilmente barreiras do cérebro, placenta e feto.

A facilidade no transporte através de membranas biológicas está relacionada com a afinidade do metilmercúrio por grupos tiol (SH) presentes em diversas proteínas, em particular a cisteína. O complexo metilmercúrio-cisteína apresenta uma estrutura similar à metionina, um aminoácido neutro, sendo transportado facilmente para dentro das células.

O intenso transporte de aminoácidos em tecidos nervosos em formação e desenvolvimento, como no cérebro do feto, e a alta permeabilidade a afinidade da placenta

por metilmercúrio torna o feto muito mais vulnerável à contaminação do que organismos adultos. A concentração do composto pode ser até 30% superior no feto à observada na gestante (Lacerda, 1997).

A caracterização dos sintomas referentes a intoxicação humana por metilmercúrio foi baseada em estudos realizados nas populações expostas em Minamata e no Iraque (WHO, 1990). De um modo geral, o quadro clínico caracteriza-se por disfunções no sistema nervoso, provocando descontrole dos membros, perda de equilíbrio, redução dos sentidos e distúrbios mentais.

Devido aos efeitos extremamente danosos e muitas vezes irreversíveis da intoxicação por compostos mercuriais, diversos estudos tem sido realizados com a finalidade de tentar reverter ou controlar suas conseqüências.

Neste sentido, um dos enfoques mais abordados atualmente procura relacionar a ação de compostos de selênio como agentes desintoxicantes, com a capacidade de diminuir os efeitos nocivos do mercúrio no organismo (Barregard et al, 1990; Bjökman et al, 1995; Yoneda e Suzuki, 1997; Osman et al, 1998).

5.4 Métodos Para Determinação de Mercúrio Total

Devido a alta toxicidade apresentada pelo mercúrio, diversas técnicas tem sido desenvolvidas para a identificação e quantificação do elemento e seus compostos. Neste capítulo pretende-se descrever os métodos mais comumente utilizados em laboratórios de rotina e pesquisa.

Os métodos colorimétricos utilizando principalmente a ditizona apresentam diversas vantagens como facilidade de execução, rapidez, simplicidade e baixo custo (Goltzl e Riepe, 2001; Wiryawan, 2000). No entanto, esta técnica é susceptível a interferências provenientes de outros metais.

A análise por ativação de nêutrons combina sensibilidade, exatidão, especificidade, baixo limite de detecção e a vantagem de ser uma técnica não destrutiva (Vasconcellos et al, 2001; Wasserman et al, 2001). No entanto, a necessidade de utilização de um reator nuclear apresenta-se como a principal restrição à técnica.

A espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio apresenta-se como umas das técnicas mais difundidas para a quantificação de mercúrio. A técnica apresenta sensibilidade, exatidão e baixos limites de detecção (Kehrig et al, 2001; Capelo et al, 2000; Ubillus et al, 2000). Estes limites podem ainda diminuir com a utilização de um aparato de amalgamação.

A geração de vapor frio pode ainda ser utilizada em combinação com a espectrometria de massas (Rocha et al, 2001; Chiou et al, 2001), a emissão atômica e a fluorescência atômica (Hladikova et al, 2001; Pfeil e Bruce, 2001), aumentando a sensibilidade destas técnicas para a análise de mercúrio.

Métodos polarográficos tem sido utilizados com sucesso para determinação de mercúrio em soluções aquosas diluídas. Não é considerado um método simples e rápido como a colorimetria com ditizona e espectrofotometria de absorção atômica pois requer separação prévia do analito presente na amostra (Barek et al, 2001; Barcelo-Quintal, 2001).

Na TAB 2 são mostrados os limites de detecção para mercúrio por meio de diversas técnicas.

6 O SELÊNIO



6.1 Propriedades Físico-Químicas, Fontes e Principais Utilizações

O selênio é um não metal que pertence ao grupo 16 da tabela periódica. Possui número atômico 34 e peso atômico médio de 78,96.

O selênio apresenta duas formas alotrópicas principais, o selênio monocíclico, de cor vermelha, e o selênio hexagonal, de coloração cinza metálica, sua forma mais estável. Apresenta propriedades químicas semelhantes às do enxofre e assim como o mercúrio, forma diversos compostos orgânicos e inorgânicos.

Este elemento ocorre em quantidades traço na pirita (FeS_2) e outros sulfetos de metais pesados. É considerado raro, ocupando a 68ª posição na ordem de abundância relativa da crosta terrestre. O selênio é obtido comercialmente como resíduo do processo de refino eletrolítico do cobre e no processo de fabricação do ácido sulfúrico.

Devido às suas características fotovoltaicas e condutoras, o selênio é utilizado na montagem de fotocélulas e células solares. É componente de equipamentos eletrônicos, pois apresenta propriedades semicondutoras e de fotocopiadoras do tipo xerox.

Porém a principal função deste elemento está relacionada com a manutenção e regulação de diversas funções metabólicas no organismo.

6.2 A Importância do Selênio e Suas Principais Funções no Organismo

O selênio é um elemento essencial ao organismo, em pequenas quantidades (micronutriente), sendo componente de diversas enzimas importantes.

O selênio é incorporado pelas plantas através das raízes, sendo que esta absorção é influenciada por diversos fatores com pH, umidade e concentração de outros minerais (Coutinho, 1999).

A concentração deste elemento nos alimentos é muito variável, sendo diretamente relacionado com o conteúdo protéico. Assim, alimentos como frutas cítricas e vegetais folhosos que possuem baixa concentração de proteínas, apresentam uma concentração de selênio relativamente menor a outros, como por exemplo os cereais.

Em cereais, as concentrações de selênio variam de 0,1 a 0,66 $\mu\text{g g}^{-1}$, enquanto que alimentos de origem animal, outra fonte importante do elemento, apresentam concentrações que variam entre 0,2 a 0,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Coutinho, 1999).

A castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*) é considerada um dos alimentos com maior concentrações de selênio. Ip e Lisk valores encontraram que variaram entre 16 e 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Ip e Lisk, 1994), enquanto que Chang e colaboradores estudando castanhas do

Pará recolhidas em áreas no Acre, Rondônia, Manaus e Belém relataram valores que variaram de 0,03 até 512,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Chang et al, 1995).

O selênio está presente no organismo humano principalmente na forma de selenocisteína e selenometionina, incorporadas a várias proteínas. O maior benefício do selênio está relacionado à enzimas antioxidativas como a selenoproteína P e as isoenzimas do grupo da glutadiona peroxidase.

A glutadiona peroxidase existente no plasma e nas células é um dos agentes mais importantes na proteção do organismo contra a ação de radicais livres, reduzindo o peróxido de hidrogênio e uma grande variedade de peróxidos orgânicos.

A selenoproteína P é uma das mais abundantes selenoproteínas do plasma. Experimentos realizados tem demonstrado que esta proteína pode desempenhar uma função protetora contra os efeitos nocivos do mercúrio e seus compostos (Barregard et al, 1990; Bjökman et al, 1995; Yoneda e Suzuki, 1997; Osman et al, 1998).

6.3 Métodos Para Determinação de Selênio Total

Na grande maioria das amostras ambientais e biológicas a concentração de selênio apresenta-se na ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$ ou menos, excetuando-se alguns exemplos como águas, sedimentos, plantas e materiais biológicos provenientes de áreas contaminadas com este elemento.

Deste modo, para a determinação de selênio na grande maioria das amostras são necessários métodos que envolvem grande sensibilidade ao elemento (Tamari, 1998).

A análises fluorimétrica (FA) utilizando diferentes compostos de diaminas aromáticas como o 3-3' diaminobenzidina (DAB) e o 2,3 diaminonaftaleno (DAN) tem sido utilizadas por muitos anos (Kvicala et al, 1999). O DAN é o reagente mais sensível entre as compostos diaminas aromáticas sendo amplamente utilizado para a determinação de selênio em diversos tipos de matrizes diferentes.

O método utilizando DAN foi desenvolvido por Parker e Harvey em 1962 e posteriormente utilizado por Watkinson em 1966 para análise de materiais biológicos.

A análise por ativação de nêutrons (NAA) é um método baseado na medida da intensidade da radiação γ emitida pelo ^{75}Se ou $^{77\text{m}}\text{Se}$. A grande vantagem deste método, além da alta sensibilidade e especificidade, é o fato de dispensar a digestão da amostra, ou seja, trata-se de um método não destrutivo (Vasconcellos et al, 2001; Capote et al, 2001; Yanardag e Orak, 2001).

As desvantagens são o alto custo e especificidade do aparato necessário (reator nuclear), assim como para a análise de mercúrio.

A espectrometria de massas com plasma induzido por argônio (ICP-MS), alia a alta sensibilidade com a vantagem de análise simultânea de elementos, além de oferecer a vantagem de quantificar os diferentes isótopos (Mostafa e Ghazy, 2001; Telisman et al, 2001; Wallschlager e Roehl, 2001). No entanto, o custo da aparelhagem é alto e a técnica requer pessoal treinado.

A espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF-AAS) tem sido cada vez mais utilizada para análise de selênio, principalmente quando combinado com correção de Zeeman. A técnica oferece sensibilidade e requer um pequeno volume de amostra (aproximadamente 20 μL) (Tsalev et al, 2001; Vinas et al, 2001). No entanto, geralmente a análise requer a utilização de modificadores de matriz, como por exemplo níquel, paládio, ródio e outros.

A espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG-AAS), tem se mostrado como uma opção bastante interessante para a determinação de selênio em amostras ambientais e biológicas, trata-se de uma técnica rápida e eficiente (Chatterjee et al, 2001; Denkhaus et al, 2001; Galignani et al, 2000).

A técnica de geração de hidretos evita as interferências da matriz na análise de selênio, podendo também ser utilizada em conjunto com a espectrometria de emissão atômica (HG-ICP-AES) (Stripeikis et al, 2001; Tao e Sturgeon, 1999) e espectrometria de massas com fonte de plasma induzido por argônio (HG-ICP-MS) (Martinez-Bravo et al, 2001; Chatterjee et al, 2001), no intuito de melhorar a sensibilidade e diminuir o limite de detecção.

Na TAB. 3 são mostrados alguns valores de limites de detecção para as diversas técnicas de medida.

Tabela 3: limites de detecção para análise de selênio

Técnica Analítica	Limite de Detecção*
FA	0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$
HG-AAS	0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$
GF-AAS	1-25 $\mu\text{g L}^{-1}$
ICP-MS	0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$
NAA	20 $\mu\text{g L}^{-1}$
HG-ICP-MS	1-30 $\mu\text{g L}^{-1}$

* Referência Tamari Y, 1998.

7 CORRELAÇÃO MERCÚRIO-SELÊNIO NO ORGANISMO

A provável ação protetora do selênio contra a toxicidade de metais pesados foi primeiramente proposta em 1967. Neste ano, estudos realizados por Parisek e Ostáladová (Cintra, 1990) demonstraram a ação protetora do selênio na intoxicação por mercúrio utilizando injeções de cloreto de mercúrio e selenito de sódio. Em 1972 Ganther e colaboradores, verificaram que animais submetidos a uma dieta deficiente em selênio apresentavam uma sensibilidade maior à toxicidade de compostos organomercuriais.

Barregård e colaboradores (1990) analisaram os níveis dos dois elementos em amostras de sangue e urina de trabalhadores de uma indústria de cloro-soda, expostos ao vapor de mercúrio. O estudo indicou a presença de uma correlação negativa entre as concentrações de selênio na urina e mercúrio no plasma dos indivíduos.

Analisando amostras de tecido cerebral (área occipital e hipotálamo) de macacos expostos ao metilmercúrio, Björkman e colaboradores (1995) encontraram uma associação significativa entre as concentrações dos dois elementos, indicando que o selênio desempenha uma importante função na retenção de mercúrio no cérebro.

Os estudos realizados por Yoneda e Suzuki (1997) esclareceram o mecanismo de detoxicação caracterizando a Selenoproteína P como a proteína específica responsável por esta função. A presença da selenoproteína, do selênio e do mercúrio pode viabilizar a formação o complexo $\{(Hg-Se)_n\}_m$ -Selenoproteína P, o qual diminui a biodisponibilidade do elemento tóxico no organismo.

Osman e colaboradores (1998) analisaram diversos elementos, em amostras de sangue e plasma de crianças, com o objetivo de determinar a influência dos elementos essenciais nas concentrações de chumbo e outros elementos tóxicos. Uma associação entre as concentrações de mercúrio e selênio foi determinada nas amostras de sangue, no entanto o mesmo não se repetiu no plasma.

Os níveis de mercúrio e selênio em amostras de cabelo de mães e recém nascidos residentes em uma área com altos níveis de mercúrio foram estudados por Chai e colaboradores (1998). Os resultados mostraram que os níveis de mercúrio em mãe e filho são bastante próximas, enquanto que as concentrações de selênio são muito mais altas nas crianças. A razão molar Se/Hg mostrou-se 40% mais alto nas crianças do que nas respectivas mães. Estes fatos sugerem que o organismo da criança absorve selênio do corpo da mãe para uma eventual proteção contra a intoxicação por mercúrio.

Falnoga e colaboradores (2000) determinaram as concentrações de mercúrio e selênio em amostras de autópsias de trabalhadores de uma mina de mercúrio. Foram analisadas amostras de glândulas endócrinas (pituitária, tireóide e glândula pineal), rins e tecidos cerebrais. O estudo confirmou a coacumulação de selênio e mercúrio nos indivíduos expostos à contaminação, sendo que uma coacumulação de selênio com razão molar próximo ou maior que 1 foi obtida nas amostras de tecidos com concentração de mercúrio maior do que $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Análises de mercúrio e selênio em amostras de cabelo de índios moradores do Parque do Xingu (Região Amazônica) foram realizadas pelo grupo de Vasconcellos e colaboradores (2000). Foi observada uma correlação entre os dois elementos, onde o razão molar Hg/Se aproxima-se do valor de 1 para valores mais baixos de mercúrio, aumentando linearmente com a sua concentração.

8 OS ELEMENTOS CÁLCIO, ZINCO, FERRO E MAGNÉSIO – PRINCIPAIS FUNÇÕES NO ORGANISMO (O’Dell e Sund, 1997; Olin et al, 1994)

A principal função do ferro no organismo está relacionada à formação de hemoglobina dos eritrócitos. O átomo de ferro é um dos componentes do complexo que forma a hemoglobina, a qual é responsável pelo transporte do oxigênio e gás carbônico no sistema circulatório.

O magnésio desempenha importantes funções no organismo, incluindo todas as reações que dependem de síntese ou hidrólise de ATP, estabilidade de macromoléculas como DNA e ribossomos e ativação e regulação da maioria das enzimas. Além destas, o magnésio em conjunto com o cálcio regula a permeabilidade das membranas celulares, atuando na manutenção do sistema hídrico e eletrolítico.

O cálcio é um dos principais componentes dos tecidos duros do organismo, como os ossos e dentes, sendo também responsável pela ativação da tromboplastina, a qual desencadeia o mecanismo de coagulação sanguínea. Possui ainda importantes funções na contração e relaxamento muscular, na transmissão de impulsos nervosos e na ativação de determinadas enzimas.

O zinco participa da regulação de aproximadamente 300 enzimas no organismo. Desempenha funções biológicas essenciais vinculadas à proliferação e

Capítulo 8: Os Elementos Cálcio, Zinco, Ferro e Magnésio - Principais Funções no Organismo

diferenciação celular, além de agir no crescimento e maturação sexual do organismo, entre outras.

9 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA

9.1 Aspectos Teóricos da Absorção de Luz

Primeiramente consideramos um átomo de um elemento químico qualquer no estado fundamental, onde E_0 representa seu nível mais baixo de energia e E_1 um nível mais elevado ou excitado. Ao absorver um quantum de energia radiante, o átomo é promovido do estado E_0 para E_1 e esta “quantidade “de energia, pode ser determinada pela seguinte equação de Bohr:

$$\Delta E = E_1 - E_0 = h\nu = hc / \lambda \quad (1)$$

onde:

ΔE = variação de energia do átomo do estado fundamental para um estado mais energético

c = velocidade da luz no vácuo

h = constante de Planck

ν = frequência

λ = comprimento de onda da radiação absorvida

Após a absorção da radiação, o átomo sofre relaxamento e o elétron volta ao nível de energia mais estável, liberando a energia adquirida nas formas de luz ou calor.

Observando a relação acima pode-se verificar que, quanto maior a diferença de energia entre os dois níveis considerados, menor será o valor do comprimento de onda, já que a constante de Planck e a velocidade da luz no vácuo possuem valores constantes.

A relação entre os átomos no estado fundamental e no estado excitado pode ser obtida através da equação de Boltzmann:

$$N_1 / N_0 = (g_1 / g_0) e^{-\Delta E/kT} \quad (2)$$

onde:

N_1 = número de átomos no estado excitado

N_0 = número de átomos no estado fundamental

g_1/g_0 = razão dos pesos estatísticos dos estados fundamental e excitado

k = constante de Boltzmann

T = temperatura em graus Kelvin

Considerando que, nas condições normais de trabalho de um espectrômetro de absorção atômica (temperaturas inferiores a 3000 °C e comprimento de onda abaixo de 600 nm), a população de átomos no estado excitado é desprezível frente à população no estado fundamental, praticamente todos os átomos apresentam-se aptos a absorver energia.

A combinação das leis de Beer e Lambert permitem a relação entre a concentração de átomos no estado fundamental e a absorção de radiação. Assim, de uma forma resumida temos:

$$A = \log I_0/I_t = a \cdot l \cdot c \quad (3)$$

onde:

A = absorvância

I_0 = intensidade da radiação incidente emitida pela fonte de luz

I_t = intensidade da radiação transmitida (não absorvida)

a = coeficiente de absorvidade molar do meio

l = espessura da célula de absorção

c = concentração de átomos no estado fundamental

9.2 O Espectrômetro de Absorção Atômica

O espectrômetro de absorção atômica é um equipamento que permite a análise quantitativa de diversos elementos. Os componentes básicos do equipamento incluem:

- Uma fonte de energia radiante para gerar luz no comprimento de onda característico ao elemento a ser analisado. A lâmpada de catodo oco é a mais freqüentemente usada, a qual é uma fonte de energia estreita e intensa (outras fontes são as lâmpadas de descarga eletrônica , EDLs, ou lâmpadas de catodo oco estimuladas por descargas, chamadas por superlâmpadas).
- Um atomizador para criar uma população de átomos metálicos do elemento de interesse no estado gasoso. Podem consistir de atomizadores de chama, gerador de hidretos, geração de vapor frio e eletrotérmico.
- Um monocromador para isolar a raia de ressonância de todas as outras raias emitidas pela fonte de radiação e o ambiente que não serão absorvidas.
- Um detetor sensível a luz (usualmente um tubo fotomultiplicador).
- Conveniente aparelhagem eletrônica a qual medirá a resposta do detetor e transformar esta resposta nas medidas analíticas úteis. O instrumento de leitura pode ser de vários modelos. Instrumentos antigos utilizam aparelhagem separada de medidores de leitura. Estes tem sido substituídos por instrumentações modernas usando interface direta de computadores.

Um esquema simplificado deste instrumento com sistema de geração de hidretos na FIG.3 :

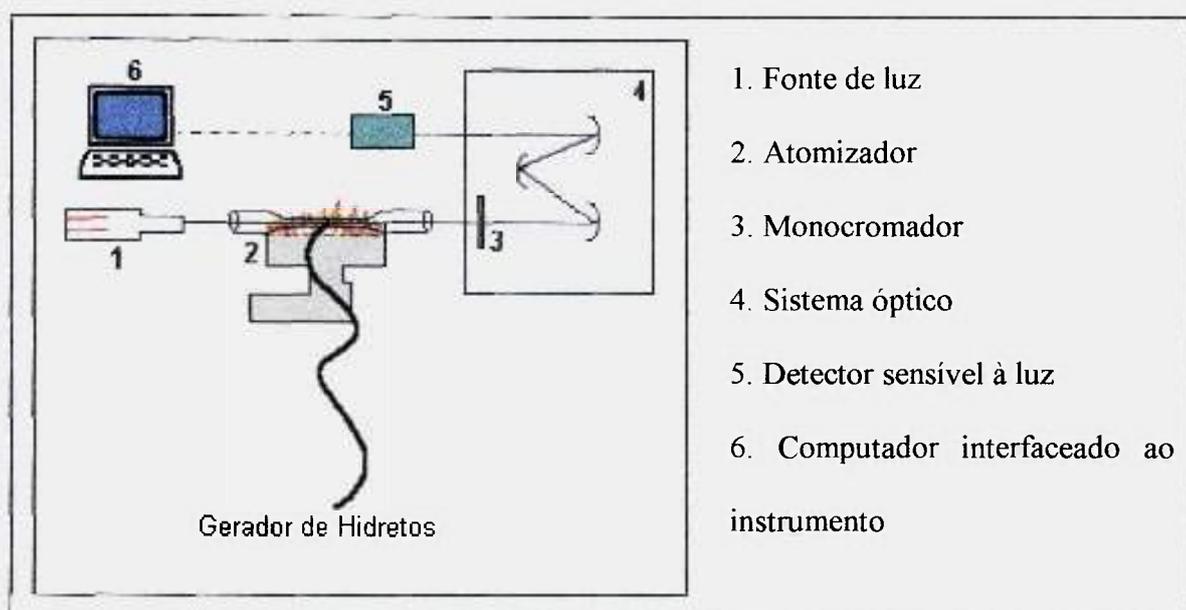
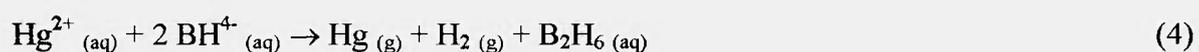


Figura 3 : Esquema de um espectrômetro de absorção atômica sistema de geração de hidretos.

9.3 Geração de Vapor Frio e Geração de Hidretos

A técnica de geração de vapor frio para a análise de mercúrio consiste na geração deste elemento no estado atômico, por meio da ação de um redutor, como o borohidreto de sódio ou cloreto estanoso. A reação para formação do mercúrio elementar com a utilização de borohidreto de sódio está representada na reação 1:

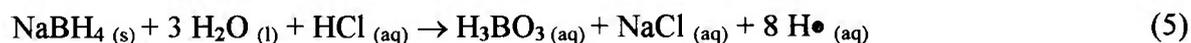


O mercúrio em seu estado elementar apresenta uma apreciável pressão de vapor mesmo à temperatura ambiente, o que viabiliza seu transporte por meio de um gás inerte para o sistema de detecção.

Os princípios básicos desta técnica foram inicialmente propostos por Poluektov e colaboradores em 1963. No entanto, o método mais conhecido é creditado aos estudos de Hatch e Ott (Shrader, 1983), publicados em 1968, no qual, pela primeira vez é relatado o acoplamento da técnica de vapor frio a espectrometria de absorção atômica.

A técnica de geração de hidretos é utilizada para a determinação de elementos que formam hidretos voláteis, tais como As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn e Te.

Para tal, uma solução de borohidreto de sódio é utilizada para formação do hidreto volátil, que posteriormente é dissociado liberando o elemento em seu estado elementar. A dissociação do hidreto é comumente efetuada através do aquecimento do composto provocado pela ação de uma chama. Na seguir estão esquematizadas as reações ocorridas na geração do hidreto de selênio:



Após a separação das fases líquida e gasosa, que ocorre no separador de fases, o hidreto ou vapor de mercúrio, é conduzido até o sistema de detecção por meio da ação de um gás inerte (Ar, Ni) ou até mesmo ar. No caso da espectrometria de absorção atômica, os elementos voláteis são levados para a célula de absorção de quartzo, que se localiza acima do queimador.

As principais vantagens na introdução dos métodos de geração de hidretos e vapor de mercúrio na espectrometria de absorção atômica são a diminuição das interferências e de efeito memória.

9.4 Sistema de Injeção em Fluxo (FIA)

O procedimento para a análise por injeção em fluxo consiste basicamente na injeção de um volume determinado e reprodutível de amostra dentro de um fluxo contínuo de reagentes (Pedrotti, 1993).

Deste modo, o volume injetado, correspondente à capacidade da alça de amostragem da válvula injetora, forma uma zona de dispersão dentro do tubo transportador. Neste tubo a solução carregadora, impulsionada pela ação de bomba (mais frequentemente a peristáltica), carrega a zona de amostra até um detector.

No caso da geração de hidretos ou vapor frio, a amostra é conduzida pelo tubo até uma confluência onde ocorre a entrada da solução de borohidreto de sódio ou cloreto estano e, em seguida, para o separador de fases.

O sinal analítico resultante corresponde a um “pico” para cada injeção de amostra. A altura e a área deste sinal são proporcionais à concentração da espécie de interesse, se mantidas as condições experimentais constantes.

A principal vantagem da utilização de sistema FIA é a introdução de um volume muito pequeno de amostra no sistema. Este fato permite o trabalho com pequenas quantidades de matriz, além de diminuir o efeito memória no sistema.

10 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises foram realizadas por meio das técnicas de espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio em sistema de injeção em fluxo (FIA-CV-AAS), para mercúrio e espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos em sistema de injeção em fluxo (FIA-HG-AAS) para selênio.

Os elementos zinco, cálcio, ferro e magnésio foram analisados através de espectrometria de absorção atômica com atomização por chama (F-AAS).

10.1 Reagentes

Reagentes utilizados nos procedimentos de preparação de padrões, abertura e análise das amostras:

- * Borohidreto de Sódio (NaBH_4) - PA, Merck SA
- * Óxido de Mercúrio (HgO) - PA, Johnson-Matthey Chemicals
- * Óxido de Selênio (SeO_2) - PA, Johnson-Matthey Chemicals
- * Solução Padrão de Cálcio – $1000 \mu\text{g g}^{-1}$, Merck SA
- * Solução Padrão de Zinco – $1000 \mu\text{g g}^{-1}$, Merck SA
- * Solução Padrão de Ferro – $1000 \mu\text{g g}^{-1}$, Merck SA

- * Solução Padrão de Magnésio – 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$, Merck SA
- * Ácido Nítrico (HNO_3) - 65 %, PA, máximo 0,0000005% de Hg, Fluka Chemie AG
- * Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) - 95-97%, PA, máximo 0,0000005% de Hg Fluka Chemie AG
- * Ácido Perclórico (HClO_4) - 70%, PA, máximo 0,0000005% de Hg, Merck SA
- * Ácido Clorídrico (HCl) - fumegante, 70%, PA, máximo 0,0000005% de Hg, Merck SA
- * Ácido Sulfâmico ($\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$) - PA, Carlo Erba
- * Água purificada pelo sistema MILLI-Q (18,3 M Ω)

Reagentes utilizados nos procedimentos de limpeza e descontaminação de materiais:

- * Permanganato de Potássio (KMnO_4) - PA, Merck SA
- * Ácido Nítrico (HNO_3) - 65%, PA, Merck SA
- * Extran Neutro - Merck SA
- * Água purificada pelo sistema MILLI-Q (18,3 M Ω)

10.2 Materiais

Materiais mais frequentemente utilizados:

- * Balões volumétricos com capacidade de 100 mL
- * Frascos de polietileno com tampa e capacidade de 100 mL
- * Tubos para centrífuga de polipropileno com tampa e capacidade de 10 mL
- * Béqueres, provetas e balões volumétricos com capacidades variadas

10.3 Equipamentos

Equipamentos utilizados no preparo e digestão das amostras:

- * Micropipeta com volume variável modelo Finnpipette (Labsystems)
- * Chapa aquecedora modelo Q-313TI (Quimis Aparelhos Científicos Ltda)
- * Balanças analíticas modelos H54AR (Mettler Instrumente AG) e BG 400 (Indústria e Comércio Gehaka Ltda)

As principais características das balanças utilizadas podem ser observadas na TAB 4:

Tabela 4: características das balanças utilizadas

Modelo	Carga Máxima	Capacidade de Carga	Precisão da Escala Óptica	Reprodutibilidade
BG 400	400 g	-	$\pm 0,001$ g	$\pm 0,002$ g
H54AR	170 g	160 g	$\pm 0,01$ mg	$\pm 0,01$ mg

10.4 Descontaminação de Materiais

Todo o material utilizado nas análises, foram lavados com uma solução de EXTRAN neutro 2% (V/V), enxaguados duas vezes com água desmineralizada e submersos em solução de HNO₃ 10% (V/V) durante 24 horas.

Em seguida foram lavados com solução de KMnO_4 2% (m/V), enxaguados 3 vezes com água desmineralizada, 2 vezes com água purificada (18,3 M Ω) e secos em estufa à aproximadamente 70 °C.

O material descartável (ponteiras de micropipeta, tubos de polipropileno e frascos de polietileno), foi previamente descontaminado por meio do mesmo procedimento. No entanto, não foi necessário a etapa de lavagem com solução de KMnO_4 , visto que os riscos de contaminação por mercúrio neste materiais pode ser descartada.

Todo o material plástico utilizado foi descartado após a sua utilização, após lavagem prévia com água desmineralizada.

10.5 Coleta das Amostras

As amostras de cabelo foram cortadas da região da nuca, próximo ao escalpo utilizando-se uma tesoura de aço inoxidável. Somente os segmentos localizados entre 0 e 5 mm do escalpo foram utilizados para análises.

Em seguida foram acondicionadas em envelopes plásticos identificados com os dados do indivíduo.

O procedimento de amostragem foi realizado pela equipe do Instituto Evandro Chagas no ano de 1998.

10.6 Preparo das Amostras

As amostras foram lavadas de acordo com o método recomendado pela IAEA (Borella et al, 1996), e mantidas em dessecador durante , pelo menos, 24 horas antes da pesagem. Este procedimento está esquematizado na FIG 4.

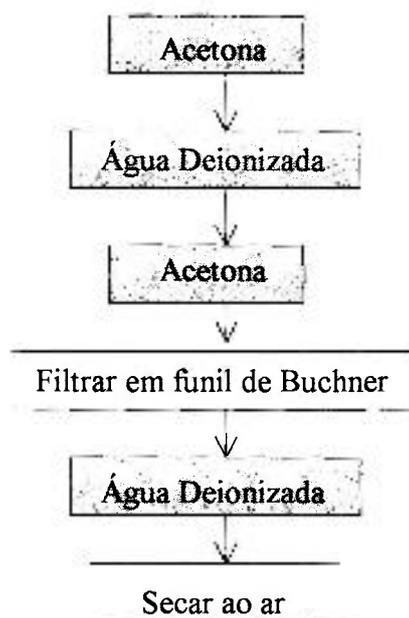


Figura 4: Procedimento de lavagem das amostras

Após a secagem, o cabelo foi cortado finamente com tesoura de aço inoxidável para homogeneizar a amostra e facilitar o procedimento de digestão.

10.7 Procedimento de Digestão das Amostras

O procedimento de digestão das amostras foi realizado em chapa de aquecimento com a utilização de balões volumétricos e uma mistura de HNO₃, HClO₄ e H₂SO₄. O método foi adaptado do trabalho desenvolvido por Akagi (Akagi et al, 1995) para análise de mercúrio total.

O procedimento utilizado para digestão das amostras está esquematizado no fluxograma apresentado na FIG 5.

Para a determinação de selênio foi necessária mais uma etapa, com a introdução de HCl e aquecimento, visto que o íon deve estar presente no seu estado mais baixo de oxidação (Se⁴⁺) para a formação do hidreto (Ferrer et al, 1999).

A utilização do ácido sulfâmico foi necessária para minimizar as interferências dos gases nitrosos presentes após a decomposição das amostras. Estes gases, provenientes da decomposição do HNO₃ causam uma distorção do sinal analítico, podendo levar as análise de selênio por HG-AAS a interpretações errôneas. (Silva et al, 2000).

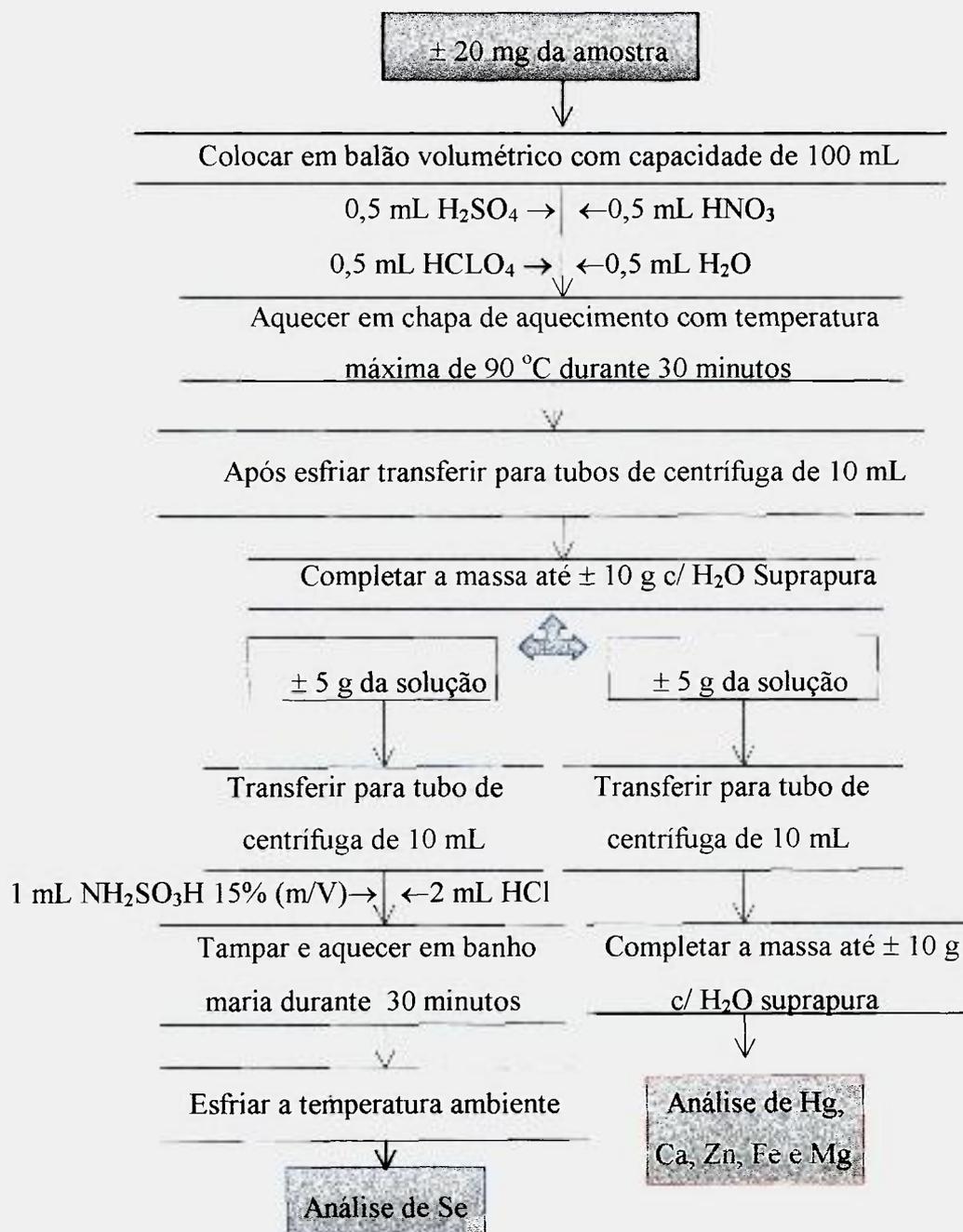


Figura 5: Esquema de digestão de amostras

10.8 Soluções Padrão Para Curvas Analíticas

As análises foram realizadas por meio do método de calibração externa, o qual requer a medição de um conjunto de soluções padrão com concentrações conhecidas dos analitos de interesse.

Para tal foram utilizados dois tipos de material padrão: óxidos de grau espectrográfico (Johnson Matthey) e soluções padrão elementares (Merck).

As soluções iniciais para análise de mercúrio e selênio foram obtidas a partir da dissolução dos óxidos (Johnson Matthey) em HNO_3 e HCl respectivamente. As soluções para curva analítica para os elementos zinco, magnésio, ferro e cálcio foram obtidas a partir da diluição de uma solução padrão de concentração inicial de $1000 \mu\text{g g}^{-1}$ (Merck).

O conjunto das soluções utilizadas para calibração apresentava uma composição semelhante às soluções obtidas após o procedimento de digestão das amostras, excetuando-se a presença da matriz (cabelo).

Todas as curvas analíticas foram construídas considerando-se 7 soluções de concentrações diferentes, com as seguintes concentrações:

* Hg : 0,0; 2,0; 5,0; 10, 15, 20 e $25 \mu\text{g Kg}^{-1}$

* Se: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0, 5,0 e $7,0 \mu\text{g Kg}^{-1}$

* Zn, Fe, Mg e Ca: 0,0; 0,2; 0,5; 1,0; 1,5, 5,0 e $7,0 \mu\text{g g}^{-1}$.

10.9 Análise Instrumental das Amostras

10.9.1 Espectrômetro de Absorção Atômica

As análises das amostras foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica modelo AA220-FS fabricado pela Varian . O aparelho apresenta quatro posições de lâmpadas, sendo a seleção realizada através de um sistema de motores que direciona espelhos, capacitando assim, uma rápida e automática mudança nos comprimentos de onda. Para garantir a estabilidade, o equipamento permite o pré aquecimento da próxima lâmpada a ser utilizada.

O equipamento que pode ser observado na FIG 6:



Figura 6:
Espectrômetro de
absorção atômica
AA220-FS da
Varian

10.9.2 Análise de Selênio e Mercúrio - Geração de Hidretos e Geração de Vapor Frio em Sistema de Injeção em Fluxo

Para a análise de mercúrio selênio foram desenvolvidos os sistemas de geração de vapor frio e geração de hidretos com injeção em fluxo (FIA-CV-AAS e FIA-HG-AAS), baseado no trabalho de Fostier e colaboradores (1995).

Na FIG 7 é apresentado um esquema do sistema utilizado.

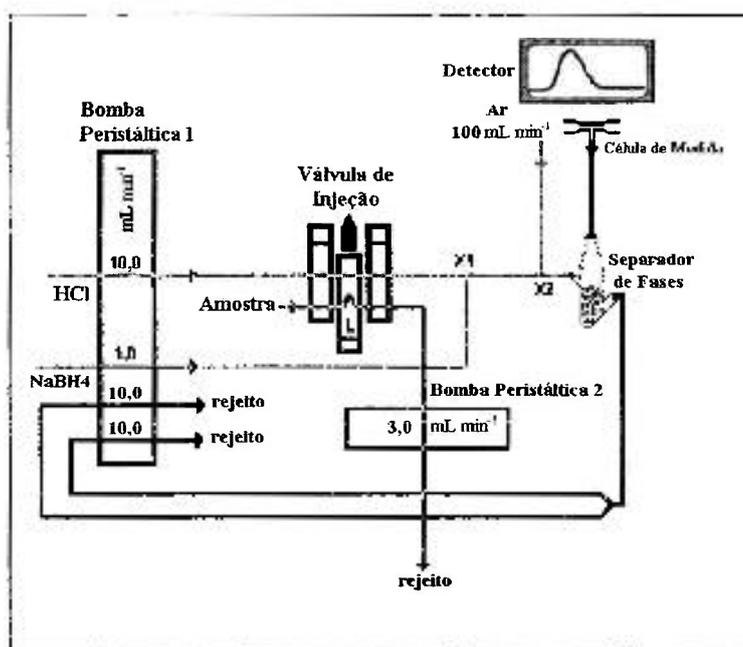


Figura 7: Esquema do sistema utilizado

As condições utilizadas neste sistema encontram-se resumidas a seguir:

* Solução Redutora: NaBH_4 0,5% (m/V), NaOH 0,25% (m/V)

Fluxo: 1 mL min^{-1}

* Solução Carregadora: HCl 15% (V/V)

Fluxo: 10 mL min^{-1}

* Dreno

Fluxo: 20 mL min⁻¹

* Gás de Arraste: Argônio

Fluxo: 100 mL min⁻¹

* Alça de Amostragem: 500 µL

A montagem do sistema pode ser observada na fotografia a seguir (FIG 8):

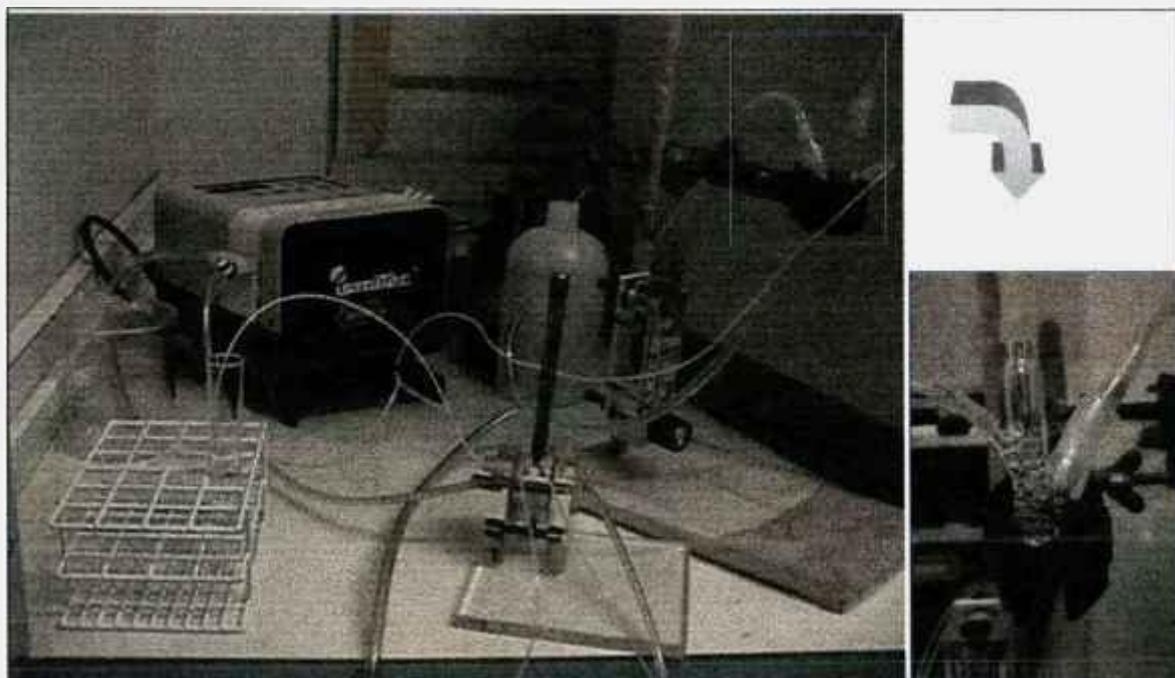


Figura 8: Montagem do sistema utilizado para geração de hidretos e vapor frio com destaque para o separador de fases.

No componente em destaque na FIG 8, ocorre a separação dos compostos da mistura. Os componentes líquidos são retirados através do dreno e os gases (hidretos voláteis, vapor de mercúrio, argônio, hidrogênio e vapor de água) são conduzidos até a célula de quartzo do espectrômetro de absorção atômica (FIG 9).



Figura 9: Célula de medida de quartzo

As condições utilizadas no equipamento para análise de mercúrio e selênio são apresentadas na TAB 5.

Tabela 5: Condições utilizadas nas análises de mercúrio e selênio

Elemento	Comprimento de onda / nm	Fenda / nm	Corrente da Lâmpada / mA
Hg	196,0	1,0	10,0
Se	253,7	0,5	4,0

O cálculo das concentrações foi realizado por meio de integração da área do sinal analítico, pois este método apresentou resultados mais coerentes quando comparados à altura do mesmo sinal.

Um exemplo do sinal analítico obtido pode ser observado na FIG 10 :

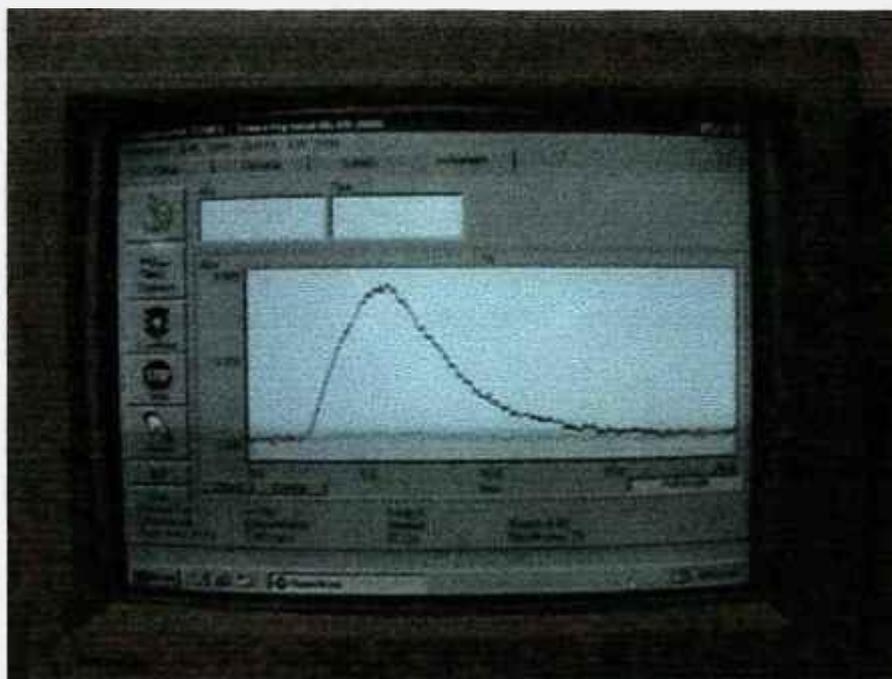


Figura 10:
Exemplo de
sinal analítico
obtido

A principal diferença entre os dois sistemas de análise é a utilização de chama de ar/acetileno para aquecer a célula de quartzo e decompor o hidreto de selênio, liberando o elemento para a análise. Este procedimento não é necessário para a análise de mercúrio pois o próprio elemento, sob a forma gasosa, é liberado após a reação de redução.

10.9.3 Análise de Ferro, Zinco, Magnésio e Cálcio – Atomização Por Chama

As análises dos elementos ferro, zinco, magnésio e cálcio foram realizadas por meio de espectrometria de absorção atômica com atomização em chama. Na TAB 6 são apresentadas as condições utilizadas para cada elemento:

Tabela 6: Condições utilizadas nas análises de cálcio, ferro, magnésio e zinco.

Elemento	Comprimento de onda / nm	Fenda / nm	Corrente da Lâmpada / mA	Chama
Ca	422,7	0,5	7,0	Oxido Nitroso / Acetileno
Fe	248,3	0,2	10,0	Ar / Acetileno
Mg	285,2	0,5	7,0	Ar / Acetileno
Zn	213,9	1,0	4,0	Ar / Acetileno

O fluxo de entrada no nebulizador foi de aproximadamente 5 mL min^{-1} e foram utilizados queimadores específicos para cada mistura de gases.

A concentração dos elementos foi obtida através de um método desenvolvido pelo fabricante do equipamento (Varian) e denominado PROMPT. Neste, durante o tempo estipulado de leitura (10 segundos no caso deste trabalho), foram realizadas medidas sucessivas de absorbância no comprimento de ondas específico para cada elemento. O método assume como correto um certo valor quando este se repete 5 vezes, com uma variação de até 1% durante o tempo de leitura.

11 RESULTADOS E DISCUSSÕES

11.1 Curvas Analíticas

As curvas analíticas, obtidas com o conjunto de soluções padrão para cada analito de interesse apresentaram valores do coeficiente de regressão linear próximos de 1, o que demonstra uma boa linearidade. Dois exemplos de curvas analíticas obtidas, para análise de mercúrio e selênio, podem ser observadas no FIG 11.

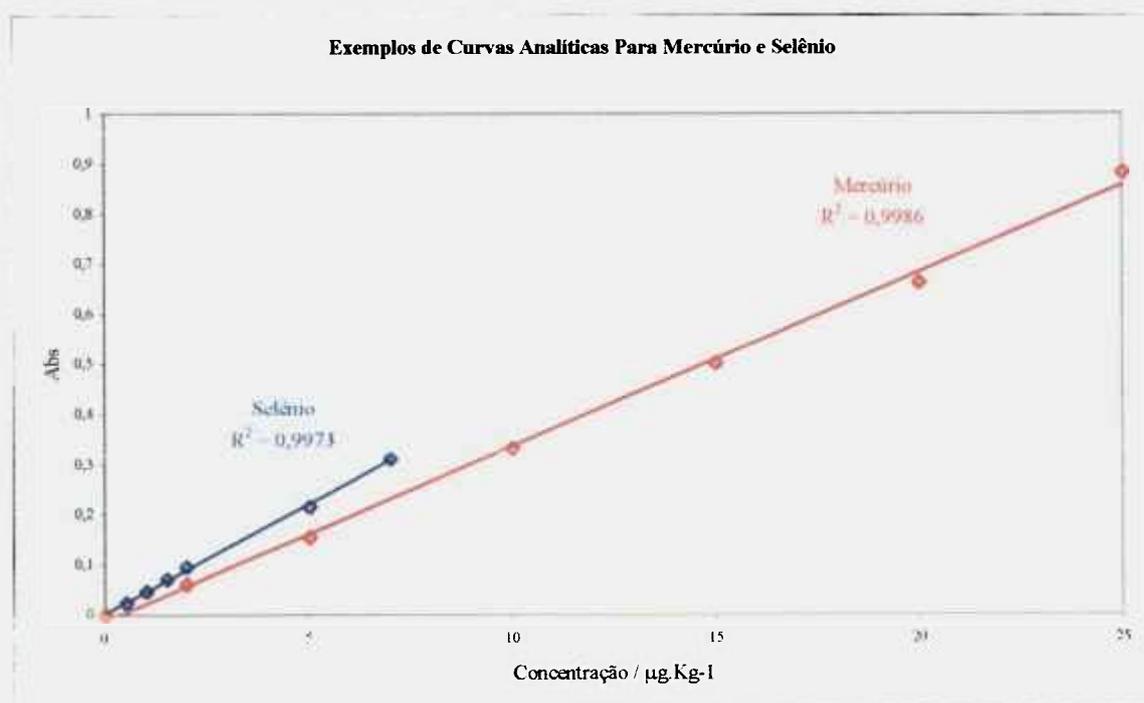


Figura 11: Exemplo de curvas analíticas para mercúrio e selênio.

11.2 Limites de Detecção

Na TAB 7 são apresentados os valores de limites de detecção obtidos para os elementos estudados. O limite de detecção é definido como $3 s/m$, onde s é o desvio padrão de 10 leituras consecutivas do branco e m é a declividade da curva analítica obtida pela calibração externa.

Tabela 7: Valores de limite de detecção obtidos para os elementos estudados.

Elemento	Limite de Detecção
Hg	0,251 $\mu\text{g Kg}^{-1}$
Se	0,380 $\mu\text{g Kg}^{-1}$
Ca	0,010 $\mu\text{g g}^{-1}$
Zn	0,006 $\mu\text{g g}^{-1}$
Fe	0,002 $\mu\text{g g}^{-1}$
Mg	0,008 $\mu\text{g g}^{-1}$

11.3 Validação da Metodologia Desenvolvida Para Análise dos Elementos

À ISO 8402 define validação como sendo a "confirmação por exame e provisão de evidência objetiva em que as exigências particulares para uma utilização intencional específica são cumpridas". O procedimento de validação tem como objetivo atestar a representabilidade, reprodutibilidade e repetibilidade das metodologias utilizadas.

Neste trabalho, o processo de validação do método foi realizado por meio do estudo de porcentagem de recuperação de analito adicionado e análise do material certificado CRM 397 (Trace Elements in Human Hair). Este material, comercializado pela Community Bureau of Reference (BCR), apresenta valores certificados para mercúrio, selênio e zinco.

11.3.1 *Análise do Material Certificado CRM 397 (Trace Elements in Human Hair)*

Os resultados finais obtidos na análise do material certificado CRM 397 com as respectivas incertezas expandidas e os valores de exatidão podem ser observados na TAB 8.

Tabela 8: Resultados obtidos na análise de material certificado CRM 397 (Trace Elements in Human Hair).

Elemento	Valor / $\mu\text{g g}^{-1}$		Precisão %	Exatidão %
	Certificado	Obtido		
Hg	$12,3 \pm 0,5$	$12,1 \pm 0,2$	1	2
Se	$2,00 \pm 0,08^{-1}$	$2,09 \pm 0,03$	2	4
Zn	199 ± 5	200 ± 2	1	1

Durante o andamento das análises foram realizados testes periódicos com o material certificado para avaliar o comportamento do sistema. Com estes resultados foram construídos gráficos de controle para os elementos certificados.

Exemplos destes gráficos podem ser observados a seguir (FIG. 12, 13 e 14).

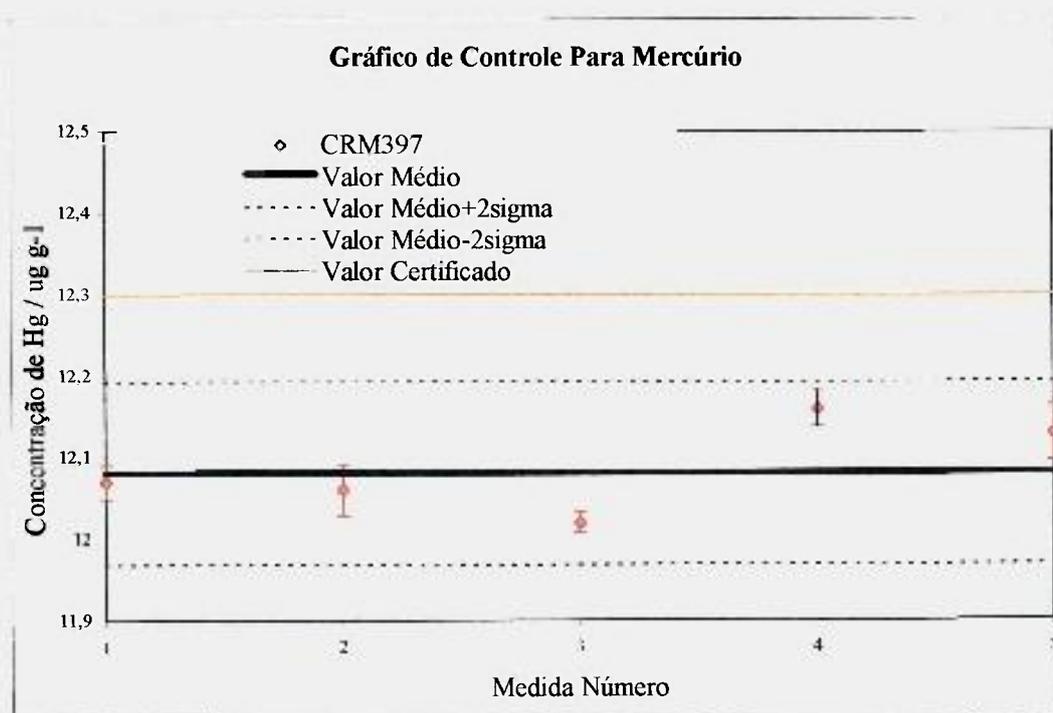


Figura 12: Gráfico de controle para análise de mercúrio no material certificado CRM 397.

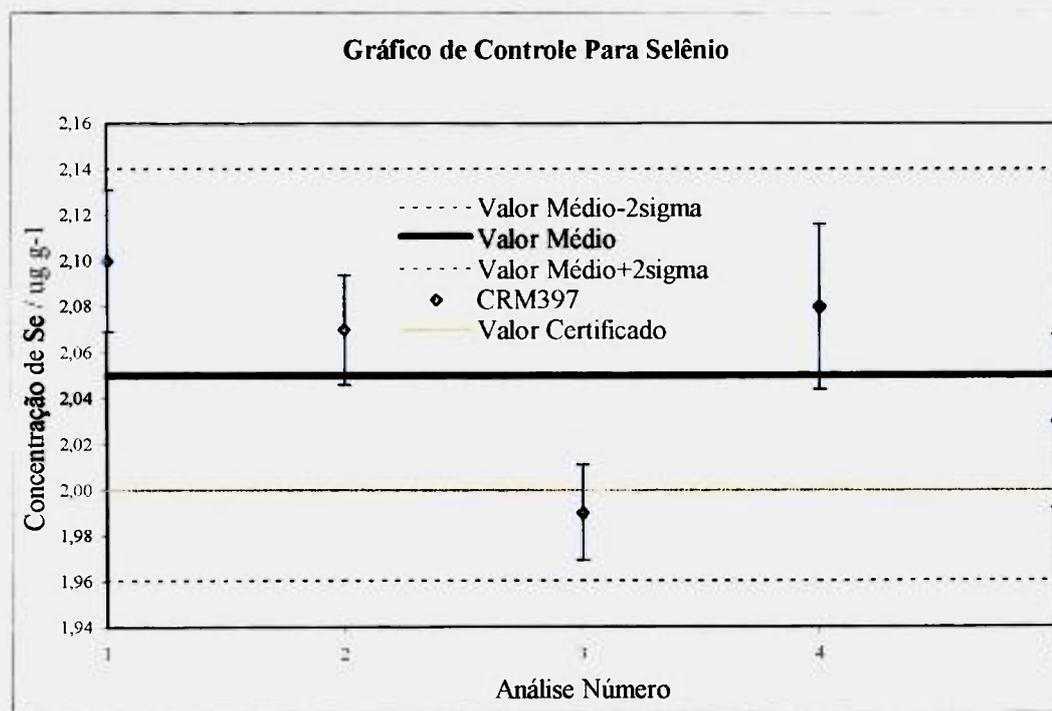


Figura 13: Gráfico de controle para análise de selênio no material certificado CRM 397.

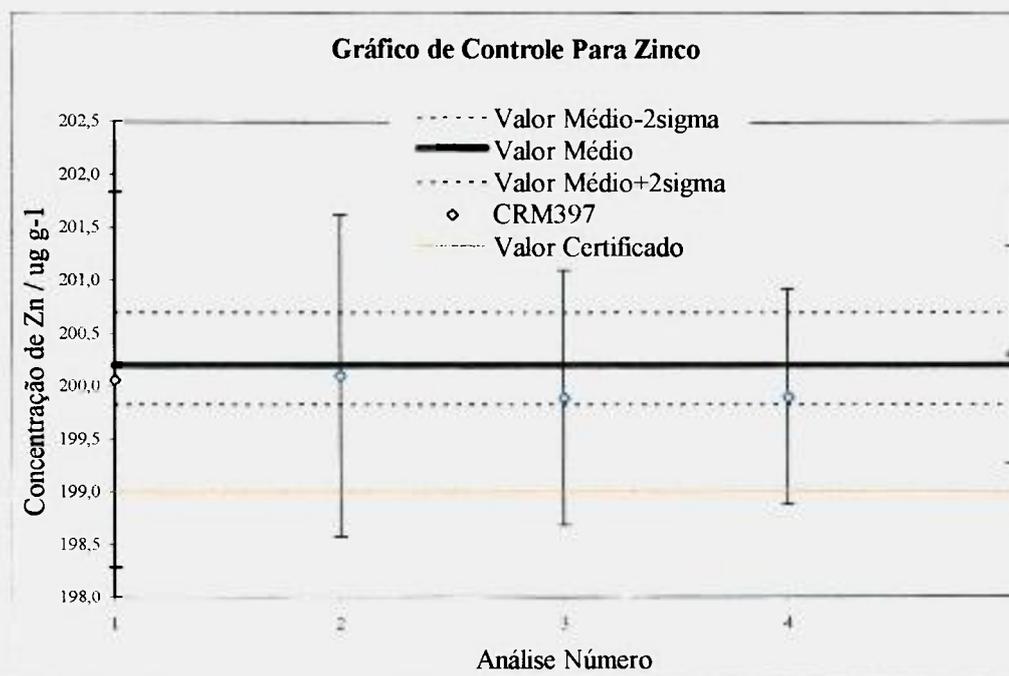


Figura 14: Gráfico de controle para análise de zinco no material certificado CRM 397.

11.3.2 Porcentagem de Recuperação de Analito Adicionado

O teste de porcentagem de recuperação do analito adicionado foi realizado com a adição aproximada das seguintes concentrações:

* Mercúrio: 2,0; 5,0 e 10 $\mu\text{g Kg}^{-1}$

* Selênio: 1,0; 2,0 e 5,0 $\mu\text{g Kg}^{-1}$

* Cálcio, Zinco, Ferro e Magnésio: 1,0; 0,5 e 0,2 $\mu\text{g g}^{-1}$

As adições foram realizadas com a mesma solução utilizada no preparo das soluções padrão para as curvas analíticas.

Capítulo 11: Resultados e Discussões

Os resultados dos testes podem ser observados nas TAB 9, 10 e 11.

Tabela 9: Resultados obtidos no teste de porcentagem de recuperação de analito para adição de mercúrio

Concentração de Hg adicionada / ng g ⁻¹	Concentração medida / μg Kg ⁻¹	% de recuperação
2,01	2,11	105
5,06	5,37	106
10,1	10,7	106

Tabela 10: Resultados obtidos no teste de porcentagem de recuperação de analito para adição de selênio.

Concentração de Se adicionada / ng g ⁻¹	Concentração medida / μg Kg ⁻¹	% de recuperação
1,03	0,98	98
2,06	2,10	102
4,84	4,91	101

Tabela 11: Resultados obtidos no teste de porcentagem de recuperação de analito para adição de cálcio, magnésio, zinco e ferro.

Elemento	Concentração adicionada / $\mu\text{g g}^{-1}$	Concentração medida / $\mu\text{g g}^{-1}$	% de recuperação
Ca	1,02	1,05	103
	0,49	0,51	104
	0,19	0,19	100
Mg	1,02	1,04	102
	0,49	0,52	106
	0,19	0,21	110
Zn	1,02	1,06	104
	0,49	0,49	100
	0,19	0,19	99
Fe	1,02	1,06	104
	0,49	0,50	102
	0,19	0,20	105

Os testes realizados para a validação do método são importantes quando da implantação de um novo método no laboratório, principalmente pelo fato dos elementos analisados estarem sujeitos a perdas por volatilização e efeito memória.

11.4 Análise das Incertezas

O conceito de incerteza em metrologia química tem sido aperfeiçoado nos últimos anos. A incerteza global estimada de um procedimento não pode mais ser considerada como função somente dos desvios padrão e média obtidos como resultado do instrumento analítico.

Além do aspecto relacionado ao equipamento analítico, a incerteza global está relacionada às características da amostra em questão e todas as etapas às quais esta é submetida desde sua amostragem, como pesagens e diluições.

Uma das vantagens de estimar as incertezas individuais de todos os eventos é a capacidade de rastrear as etapas que apresentam maior influência na incerteza global. Deste modo, possibilita, dentro do possível, melhorar as etapas mais críticas com o intuito de diminuir a incerteza global do procedimento em questão.

Para estimar a incerteza global do método é necessário a quantificação de cada fonte de incerteza, por meio de sua medição direta, de sua estimativa a partir de dados experimentais ou de dedução de análises teóricas.

Neste capítulo é descrita a sistemática para a determinação da incerteza global nos procedimentos utilizados para análise de mercúrio elementos de interesse nas amostras de cabelo e no material certificado CRM 397.

Os fundamentos teóricos e os conceitos utilizados na aplicação do processo de medição foram baseados no trabalho desenvolvido por Buchmann (2000). Em sua tese de doutoramento, o autor apresenta uma compilação das ferramentas necessárias à estimativa da incerteza de medição em química analítica conforme os princípios estabelecidos pela ISO e adaptados pela EURACHEM.

Alguns valores mostrados neste capítulo são apresentados com um número maior de algarismos significativos. Este artifício é utilizado para uma melhor visualização das diferenças entre as incertezas.

11.4.1 *Diagrama de Blocos Para Análise de Mercúrio*

O procedimento para análise das amostras para análise de mercúrio encontra-se resumido na FIG. 15. Neste esquema são apresentadas somente as etapas que influenciam no cálculo de concentração do elemento e, conseqüentemente nas suas incertezas associadas. Um esquema do procedimento mais detalhado e envolvendo os outros elementos analisados foi anteriormente apresentado na FIG 15.

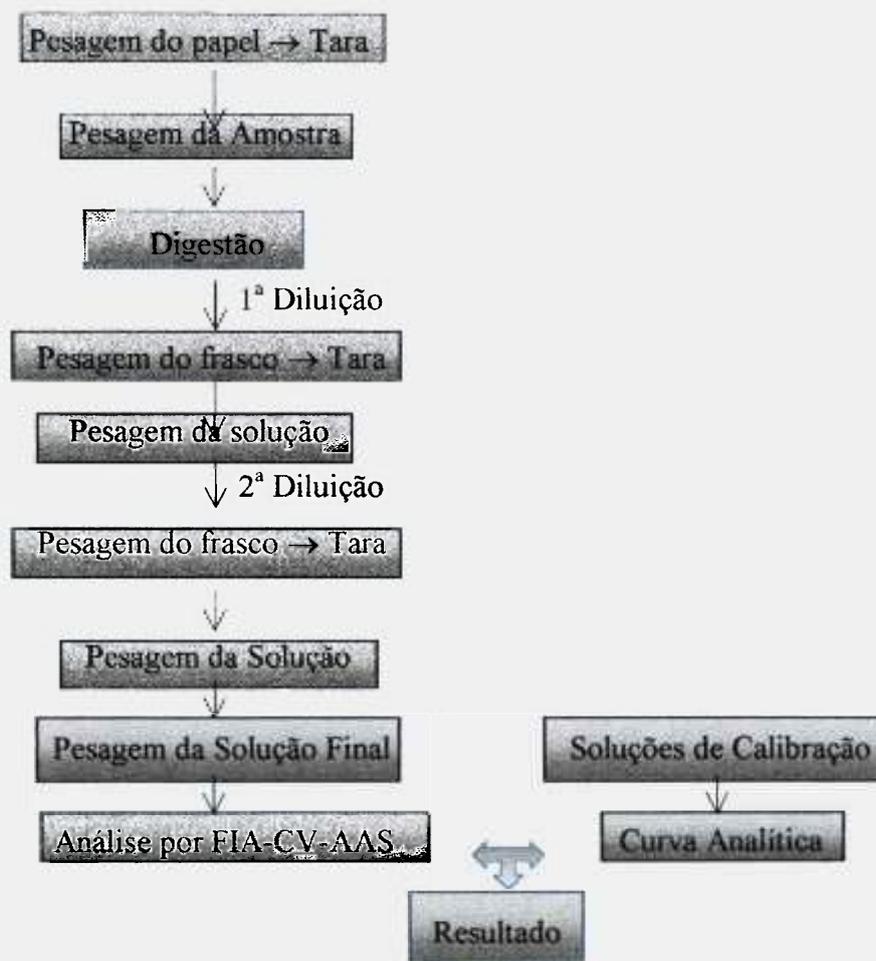


Figura 15: Diagrama de blocos para análise de mercúrio.

11.4.2 Identificação e Análise das Fontes de Incertezas Associadas Ao Procedimento

A concentração de mercúrio nas soluções de leitura foi calculada por meio da medida da respectiva absorbância, de acordo com a equação:

$$C_0 = \frac{(A_0 \times B_0)}{B_1} \quad (1)$$

Onde

C_0 : concentração de mercúrio na solução final

A_0 : absorbância do metal na solução

B_0 : coeficiente linear da curva analítica construída para a calibração externa

B_1 : coeficiente angular da curva analítica construída para a calibração externa

A concentração do elemento nas amostras foi calculada como:

$$C_a = \frac{(C_0 \times \frac{m_{2f}}{m_{2i}}) \times m_1}{R_1 \times m_a} \quad (2)$$

Onde os parâmetros são:

C_a : concentração de mercúrio na amostra

m_a : massa da amostra

m_1 : massa referente a primeira diluição (após o procedimento de digestão ácida)

m_2 : massas referentes a segunda diluição

m_{2f} : massa final após a segunda diluição

m_{2i} : massa referente à alíquota retirada da primeira diluição

R_i : taxa de recuperação obtida para o analito

No diagrama de causa e efeito (Ishikawa) abaixo (FIG 16) estão relacionadas as principais fontes de incerteza relacionadas ao procedimento em questão:

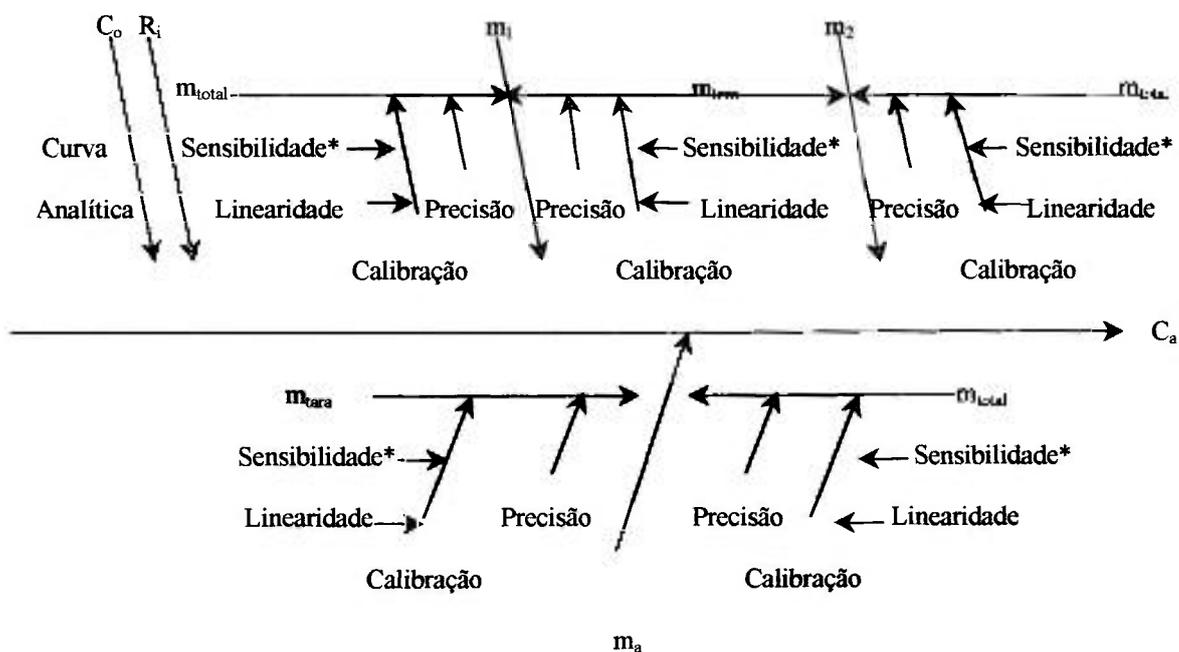


Figura 16: Diagrama de causa e efeito para o procedimento de análise de mercúrio utilizado.

*A contribuição da sensibilidade pode ser desprezada, pois as pesagens foram realizadas em um curto intervalo de tempo e na mesma balança.

Nos quatro ramos principais, estão colocadas as quatro grandezas de entrada da equação que representam o mensurando e nos ramos secundários, estão especificadas as fontes de incerteza associadas direta ou indiretamente a essas grandezas.

Como pode ser observado no diagrama, não foram utilizadas medidas de volume durante o procedimento. Deste modo, as incertezas de 3 grandezas de entrada estão relacionadas diretamente com os sistemas de pesagem utilizados.

11.4.3 Quatificação das Incertezas

Para exemplificar os cálculos realizados serão considerados os valores referentes a uma das análise de mercúrio realizadas com o material certificado CRM 397 (Trace Elements in Human Hair).

Nos procedimentos de pesagem foram utilizadas duas balanças diferentes. As amostras e o material certificado foram pesadas em uma balança analítica modelo H54AR da Mettler. As demais medidas foram realizadas em uma balança analítica modelo BG400 da Gehaka.

As características das balanças utilizadas encontram-se na TAB 4, item 10.3 (página 35) desta dissertação.

11.4.4 Incertezas Associadas à Concentração de Mercúrio (C_0)

O método de calibração externa, requer a medição de um conjunto de soluções padrão com concentrações dos analitos de interesse conhecidas. Para tal foram preparadas 5 soluções com concentrações de $2,04 \text{ ng.g}^{-1}$, $5,09 \text{ ng.g}^{-1}$, $7,01 \text{ ng.g}^{-1}$, $10,0 \text{ ng.g}^{-1}$ e $15,1 \text{ ng.g}^{-1}$ de mercúrio. Estas soluções foram obtidas a partir da diluição de uma solução padrão de concentração $0,11 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ preparada a partir do óxido de mercúrio.

O procedimento de ajuste dos mínimos quadrados utilizado assume que as incertezas dos valores das abcissas são consideradas insignificantes perante os valores da ordenada. Deste modo o cálculo das incertezas para a concentração do analito (c_0) reflete somente as incertezas dos valores de absorvância e não das concentrações dos padrões da curva.

As cinco soluções de calibração foram medidas 3 vezes cada. Os resultados são apresentados na TAB 12.

Tabela 12: Resultados das soluções de calibração

Concentração / $\mu\text{g.Kg}^{-1}$	2,04	5,09	7,01	10,0	15,1
Absorbância	0,061	0,156	0,249	0,332	0,502
	0,063	0,155	0,250	0,331	0,501
	0,062	0,156	0,249	0,331	0,502

A curva analítica é dada pela equação:

$$A_i = c_i \times B_1 + B_0 \quad (4)$$

Onde:

A_i : medida de absorvância da solução padrão i

c_i : concentração da solução padrão i

B_0 : coeficiente linear da curva

B_1 : coeficiente angular da curva

A curva analítica considerada nos cálculos apresenta a equação

$$A = 0,0333c + 0,004$$

com um coeficiente de correlação R de 0,9981.

A solução foi medida apenas uma vez. O cálculo da incerteza $u(c_0)$ associado com o ajuste de mínimos quadrados é dado por:

$$u(c) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{S_{xx} \times B_1^2}} \quad (5)$$

Onde:

\bar{c} : valor médio de concentração das soluções padrão

n : número de medições realizadas na concentração considerada

p : número total de medições realizadas para a calibração do instrumento

O valor do desvio padrão residual é dado por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_0 + H_1 \times c_j)]^2}{n - 2}} \quad (6)$$

Onde:

c_j : produto da concentração de cada solução padrão pelo número de vezes em que foi realizado o procedimento de leitura.

Utilizando os valores apresentados, o valor do desvio padrão residual para as análises de mercúrio realizadas é de 0,003778.

O valor do somatório S_{xx} é dado por:

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (c_j - \bar{c})^2 \quad (7)$$

O valor de S_{xx} calculado é de 297,79.

Finalmente, considerando que o valor obtido para a concentração do material certificado CRM 397 neste exemplo foi de 22,87 ng.g⁻¹ (c_0), o valor do desvio padrão residual neste exemplo é de 1,689 ng.g⁻¹.

11.4.5 Incertezas Associadas à Massa da Amostra (m_d)

As amostras foram pesadas na balança H54AR. A massa de amostra foi obtida por meio da diferença entre a massa do papel utilizado na pesagem e a massa total (amostra + papel).

As medidas de massa estão sujeita à variabilidade decorrente de pesagens sucessivas e à incerteza de calibração da balança utilizada. A calibração possui duas fontes de incerteza: a linearidade e a sensibilidade da balança, sendo que o efeito desta última pode ser ignorado visto que as medidas foram realizadas na mesma balança em um curto período de tempo.

Repetibilidade:

A contribuição da repetibilidade na incerteza dessa medição foi determinada através de um conjunto de dez pesagens sucessivas de dois pesos padrão de verificação, sendo um de massa próxima ao valor do papel utilizado (0,20 g) e o outro de massa próxima ao peso bruto (0,25 g).

Para a grandeza $X_1 = D$, a diferença obtida durante o processo de $n = 10$ pesagens independentes $X_{1,k} = D_k$, a incerteza padrão $u(x_1)$ de sua estimativa $x_1 = \bar{X}_1 = \bar{D}$ é $u(x_1) = s(\bar{X}_1) = s(\bar{D})$, com $s^2(\bar{D})$ dado pela equação:

$$s^2(X_{i,k}) = \frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (X_{i,k} - \bar{X}_{i,k})^2 \quad (8)$$

Para os valores experimentais obtidos, resultou $u(x_1) = 0,0008 \mu\text{g}$.

Calibração/linearidade:

O certificado de calibração da balança fornece um erro de indicação equivalente a $\pm 0,42$ mg para a linearidade. Trata-se de uma declaração de incerteza sem informações relativas ao comportamento da variável dentro do intervalo especificado.

Quando não existe nenhuma informação específica sobre os possíveis valores da incerteza de medição dentro de um intervalo $\pm a$, pode-se apenas considerar que é igualmente provável que o valor de X_i esteja em qualquer ponto situado entre a_- e a_+ , e que a probabilidade de que o valor de X_i seja encontrado fora desse intervalo é nula. Trata-se de uma distribuição de probabilidade do tipo retangular ou uniforme para a qual a melhor estimativa do mensurando encontra-se no centro do intervalo, ou seja, $x_i = (a_- + a_+)/2$. Considerando $2a = a_+ - a_-$, a variância estimada associada a essa grandeza é:

$$u^2(x_i) = \frac{a^2}{3} \quad (9)$$

Portanto, a sua estimativa deverá ser feita por meio da equação:

$$u(x_2) = \frac{0,42}{\sqrt{3}} = 0,242 \cdot 10^{-3} \mu\text{g}$$

Finalmente, as duas componentes de incerteza da medição de massa, a repetibilidade e a linearidade, necessitam ser combinadas para fornecer a incerteza padrão combinada $u_c(m_a)$ da massa da amostra de cabelo utilizada. Esta combinação é realizada por meio da equação:

$$u_c(m_a) = \sqrt{0,0008^2 + (0,242 \times 10^{-3})^2} = 0,0283 \text{ } \mu\text{g}$$

11.4.6 Incertezas Associadas à Primeira Diluição (m_1)

Para as pesagens das massas referentes às diluições foi utilizada a balança BG400. Devido ao fato desta não possuir certificado de calibração as incertezas associadas a medições realizadas nesta balança foram calculadas a partir de dados fornecidos pelo fabricante.

Repetibilidade e Linearidade

O fabricante da balança informa como sendo de $\pm 0,002$ g o valor do desvio padrão da balança. Este valor é atribuído à linearidade de repetibilidade.

Quando não existe nenhuma informação específica sobre os possíveis valores da incerteza de medição dentro de um intervalo $\pm a$, pode-se apenas considerar que é igualmente provável que o valor de X_i esteja em qualquer ponto situado entre a_- e a_+ , e que a probabilidade de que o valor de X_i seja encontrado fora desse intervalo é nula. Trata-se de uma distribuição de probabilidade do tipo uniforme para a qual a melhor estimativa do mensurando encontra-se no centro do intervalo, ou seja, $x_i = (a_- + a_+)/2$. Considerando $2a = a_+ - a_-$, a variância estimada associada a essa grandeza é (equação 9):

$$u^2(x_i) = \frac{a^2}{3}$$

Portanto, os valores referentes a repetibilidade e linearidade são:

$$u(x_i) = \frac{0,002 \times 10^3}{\sqrt{3}} = 1,155 \text{ mg}$$

Finalmente, as duas componentes de incerteza da medição de massa, a repetibilidade e a linearidade, necessitam ser combinadas para fornecer a incerteza padrão combinada $u_c(m_1)$ da massa de solução retirada.

Essa combinação é feita através da equação:

$$u_c^2(y) = q^2 \times \sum_{i=1}^N u^2(x_i) \quad (10)$$

A contribuição da repetibilidade foi levada em consideração apenas uma vez já que o desvio padrão das diferenças entre a tara e o peso bruto foi determinado diretamente. A contribuição da linearidade foi computada duas vezes, uma para a tara e outra para o peso bruto. Assim temos:

$$u_c(m_1) = \sqrt{1,155^2 + 2 \times 1,155^2} = 2,001 \text{ mg}$$

11.4.7 Incertezas Associadas à Segunda Diluição (m_2)

Os procedimentos referentes a segunda diluição foram realizados com a mesma balança utilizada no item anterior, o valor da incerteza padrão combinada pode ser considerado o mesmo. Assim:

Incertezas associadas a massa da alíquota transferida (m_{2i}):

$$u_c(m_{2i}) = \sqrt{1,155^2 + 2 \times 1,155^2} = 2,001 \text{ mg}$$

Incertezas associadas a massa total da diluição (m_{2f}):

$$u_c(m_{2f}) = \sqrt{1,155^2 + 1,155^2} = 1,633 \text{ mg}$$

11.4.8 Incertezas Associadas à Taxa de Recuperação do Analito (R_i)

Os resultados do estudo de recuperação de analito adicionado indicaram uma taxa de recuperação de aproximadamente 106% para o mercúrio, com um desvio padrão experimental de 6%.

Deste modo, a incerteza padrão associada a esta grandeza pode ser considerada como:

$$u(R_i) = 0,06$$

11.4.9 Incerteza Padrão Combinada do Método

A concentração de mercúrio final no material certificado analisado foi calculada por meio da equação 2 anteriormente apresentada:

$$C_a = \frac{(C_0 \times \frac{m_{2i}}{m_2}) \times m_1}{R_i \times m_a}$$

Substituindo as variáveis da equação pelos respectivos valores apresentados na TAB 13, obtivemos:

$$C_a = 12,3 \mu\text{g g}^{-1}$$

Para calcular a incerteza padrão combinada, as incertezas padrão de cada componente foram consideradas, de acordo com a equação 11:

$$\frac{u_c(C_a)}{C_a} = \sqrt{\left(\frac{u(C_0)}{C_0}\right)^2 + \left(\frac{u(m_a)}{m_a}\right)^2 + \left(\frac{u(m_1)}{m_1}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{2i})}{m_{2i}}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{2f})}{m_{2f}}\right)^2 + \left(\frac{u(R_i)}{R_i}\right)^2}$$

(11)

Substituindo os valores das incertezas padrão relativas de cada componente, apresentados na TAB 13, temos:

$$u_c(C_a) = 1,169 \mu\text{g g}^{-1}$$

Capítulo 11: Resultados e Discussões

Tabela 13: valores das variáveis (C_0 , m_a , m_1 e m_2), suas incertezas padrão e incertezas padrão relativas.

Variável	Valor	Incerteza Padrão	Incerteza Padrão Relativa
C_0	22,87 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$	1,689 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$	$7,385 \times 10^{-2}$
m_a	21,02 μg	0,028 μg	0,001
m_1	$10,03 \times 10^6 \mu\text{g}$	$2,001 \times 10^3 \mu\text{g}$	$1,995 \times 10^{-4}$
m_{2i}	$2,001 \times 10^6 \mu\text{g}$	$2,001 \times 10^3 \mu\text{g}$	$1,001 \times 10^{-3}$
m_2			
m_{2f}	$4,028 \times 10^6 \mu\text{g}$	$1,633 \times 10^3 \mu\text{g}$	$4,054 \times 10^{-4}$
R_i	1,06	0,06	0,06

A contribuição dos parâmetros e sua influência na incerteza do método encontram-se ilustrados na FIG 17:

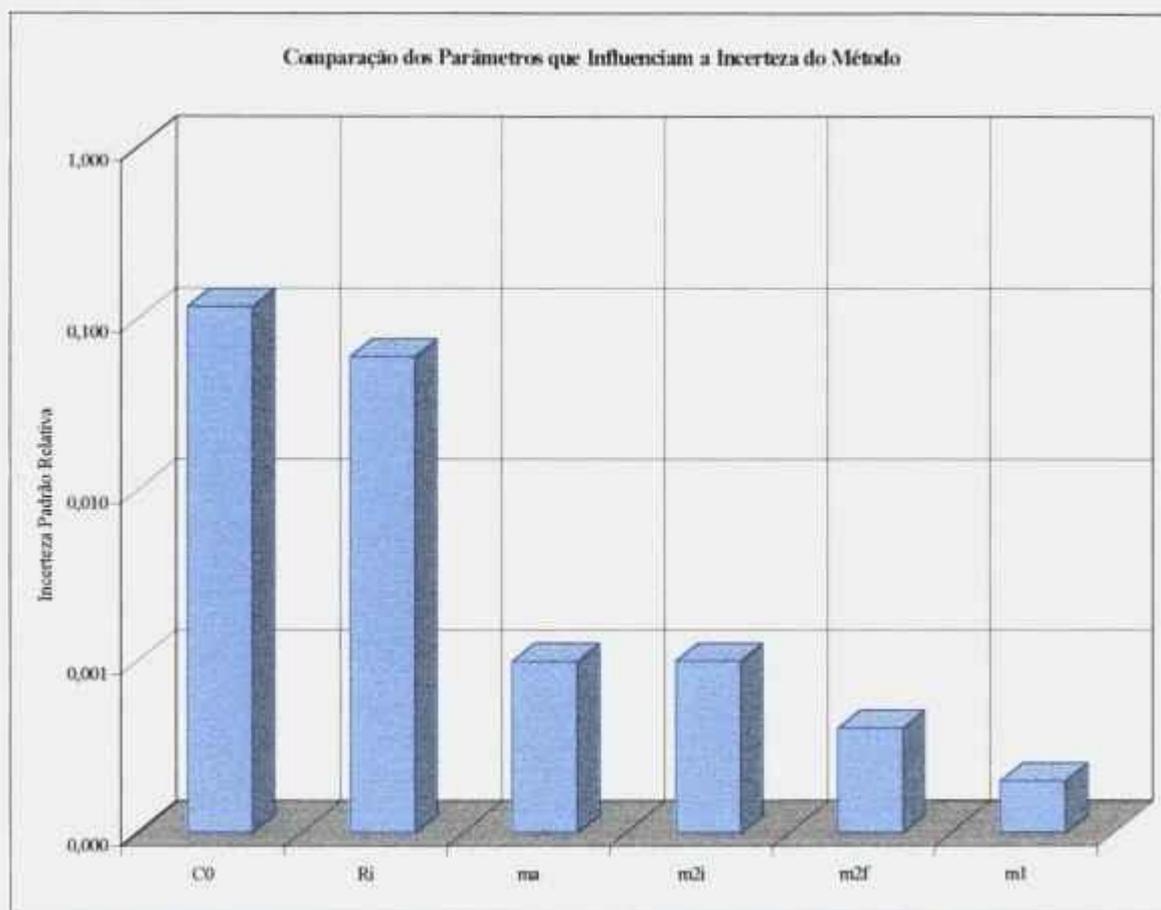


Figura 17: Gráfico de comparação dos parâmetros que influenciam a incerteza do método.

11.4.10 Incerteza Expandida

A incerteza combinada expressa a incerteza do resultado de uma medição. No entanto, em algumas situações a estimativa de incerteza que defina um intervalo é necessária. Por meio deste intervalo espera-se abranger uma grande parcela da distribuição de valores que deveriam ser atribuídos ao mensurando em uma distribuição normal.

Esta incerteza é estimada por meio da incerteza expandida (U). Esta é obtida por meio da multiplicação da incerteza combinada por um fator de abrangência k .

Para um nível de confiança de aproximadamente 95%, o valor de k é definido como 2.

Assim, no exemplo utilizado, o valor da incerteza expandida é:

$$U = 2,33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$$

Finalizando, a concentração de mercúrio encontrada no material certificado CRM 397 (Trace Elements in Human Hair) neste exemplo é de $12,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ com uma incerteza expandida de $2,33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

O valor da incerteza expandida corresponde a aproximadamente 19% da concentração final de mercúrio no material certificado. Este valor está de acordo com o resultado obtido no exemplo apresentado no EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (2000) para análise por meio de espectrometria de absorção atômica.

11.5 Análise de Mercúrio nas Amostras de Cabelo de Índios Wari

Os resultados obtidos nas análises de mercúrio das amostras provenientes da localidade de Doutor Tanajura e Deolinda podem ser observados a seguir (TAB 14). Na mesma tabela são apresentados os valores das incertezas expandidas, calculadas de acordo com o procedimento descrito no item 11.4 desta dissertação.

Tabela 14: Resultados obtidos nas análises de mercúrio nas amostras provenientes das localidades de Doutor Tanajura e Deolinda com as respectivas incertezas expandidas.

Amostra	Idade / Anos	Sexo	Conc. de Hg / $\mu\text{g g}^{-1}$	Incerteza Expandida
1	4	Masculino	6,58	1,25
2	4	Feminino	2,48	0,47
3	6	Feminino	5,25	1,00
4	6	Feminino	1,87	0,36
5	8	Feminino	5,06	0,96
6	15	Feminino	7,66	1,46
7	16	Feminino	4,90	0,93
8	17	Feminino	1,80	0,34
9	20	Feminino	11,7	2,23
10	23	Feminino	8,13	1,55
11	23	Feminino	3,38	0,64
12	24	Masculino	10,6	2,02
13	26	Feminino	6,22	1,18
14	26	Feminino	1,41	0,27
15	27	Masculino	3,26	0,62
16	30	Feminino	5,56	1,06
17	35	Feminino	9,72	1,85
18	41	Feminino	5,32	1,01
19	46	Feminino	6,63	1,26
20	46	Masculino	6,79	1,29
21	56	Feminino	5,54	1,05
22	56	Masculino	2,98	0,57

Comparando os resultados obtidos com os valores apresentados na tabela 1, podemos observar que os mesmos estão de acordo com os valores encontrados em outros grupos indígenas da Região Amazônica.

Considerando que não existam áreas de garimpo próximas às comunidades estudadas, nem no rio Pacaás Novos, podemos suspeitar que a presença de mercúrio nos indivíduos seja devido à fontes naturais da região e não esteja relacionada às atividades garimpeiras.

O intervalo de concentração e a mediana podem ser observados na TAB 15.

Tabela 15: Valor do intervalo, mediana dos valores obtidos neste trabalho e alguns valores da literatura (em $\mu\text{g g}^{-1}$).

Variação dos Valores Obtidos	Valor Médio	Caroli et al, 1994	Doctor's Data*	MíneraLab*
1,41 a 11,7	5,43	0,3 a 12,2	3,0	2,5 a 5,0

* Referência (Saiki et al, 1998)

Nesta mesma tabela são apresentados, para comparação, o intervalo de concentração obtido neste trabalho e valor limite tolerável para mercúrio em amostras de cabelo de dois laboratórios de análise comerciais (Doctor's Data e MíneraLab).

Foi incluído também o intervalo apresentado no estudo de revisão de valores de referência em tecidos e fluídos biológicos realizado por Caroli e colaboradores (1994) e resumida para amostras de cabelo por Pozebon e colaboradores (1999). Neste trabalho são apresentados valores de concentração de diversos elementos em amostras de cabelo provenientes de populações de diferentes localizações geográficas. Provavelmente devido a esta consideração, o intervalo de valores considerado normal é mais abrangente quando comparado aos outros.

Apesar do alto consumo de pescados, pode-se verificar que os valores relatados encontram-se abaixo do nível de $50 \mu\text{g g}^{-1}$, associado a um baixo risco (5%) de dano neurológico em indivíduos adultos (WHO, 1990).

Neste trabalho, 77% das amostras eram provenientes de mulheres, das quais 76% encontravam-se em idade fértil (acima de 14 anos). É importante considerar que a exposição pré natal ao mercúrio pode causar vários efeitos neurológicos adversos ao feto em formação, pois este apresenta uma sensibilidade cerca de 10 vezes maior aos efeitos da contaminação do que indivíduos adultos (Leino e Lodenius, 1995; Barbosa et al, 1998; Steuerwald et al, 2000).

11.6 Análise de Selênio nas Amostras de Cabelo de Índios Wari

Os resultados obtidos para as análises de selênio nas amostras estão apresentadas na TAB 16 juntamente com os respectivos valores de incerteza expandida associada.

Tabela 16: Resultados obtidos nas análises de selênio nas amostras provenientes das localidades de Doutor Tanajura e Deolinda com as respectivas incertezas expandidas.

Amostra	Idade / Anos	Sexo	Conc. de Se / $\mu\text{g g}^{-1}$	Incerteza Expandida
1	4	Masculino	2,83	0,53
2	4	Feminino	3,06	0,57
3	6	Feminino	2,43	0,45
4	6	Feminino	3,78	0,70
5	8	Feminino	2,39	0,44
6	15	Feminino	2,14	0,40
7	16	Feminino	2,45	0,46
8	17	Feminino	3,57	0,66
9	20	Feminino	1,49	0,28
10	23	Feminino	2,07	0,39
11	23	Feminino	2,74	0,51
12	24	Masculino	1,76	0,33
13	26	Feminino	2,13	0,40
14	26	Feminino	4,62	0,86
15	27	Masculino	3,01	0,56
16	30	Feminino	2,76	0,51
17	35	Feminino	1,97	0,37
18	41	Feminino	2,29	0,43
19	46	Feminino	2,17	0,40
20	46	Masculino	2,22	0,41
21	56	Feminino	3,24	0,60
22	56	Masculino	2,91	0,54

Na TAB 17 são apresentados o intervalo de variação dos resultados obtidos e quatro faixas de valores de referência para selênio em cabelos humanos.

Tabela 17: Comparação entre os valores encontrados nas amostra analisadas e alguns valores da literatura (em $\mu\text{g g}^{-1}$).

Varição dos Valores Obtidos	Vasconcellos et al, 2000	Caroli et al, 1994	Doctor's Data*	MínераLab*
1,76 a 3,83	<0,28 a 1,63	0,002 a 6,6	0,08 a 0,64	3,0 a 6,0

* Referência (Saiki et al, 1998)

Como pode ser observado na tabela 17, os intervalos considerados normais pelos dois laboratórios comerciais não apresentam valores em comum. É interessante constatar que o laboratório MíneraLab assume para os limites de concentração mínimo e máximo, valores aproximadamente 3 e 11 vezes mais altos do que o Doctor's Data.

Da mesma forma do que ocorreu para o mercúrio, o estudo realizado por Caroli et al (1994) apresenta a maior variação de valores, compreendendo todos os resultados obtidos para selênio neste trabalho. Este fato está relacionado ao fato deste estudo considerar valores obtidos em populações de diversas regiões do mundo.

Os valores obtidos nas análises de selênio deste trabalho podem ser considerados altos quando comparados com resultados obtidos em outros países (Caroli et al, 1992), em diferentes estados do Brasil ou mesmo em outros locais na Região Amazônica (Vasconcellos et al, 2000).

Uma possível explicação para este fato é o difícil acesso às localidades estudadas. Deste modo, os indivíduos consomem preferencialmente alimentos produzidos e coletados próximos às localidades, sendo mínima a introdução de outros produtos alimentares. Entre os alimentos freqüentemente consumidos estão presentes os peixes e as

castanhas do Pará, alimentos reconhecidamente ricos em selênio (Ip e Lisk, 1994; Chang et al, 1995; Dórea et al, 1998).

A castanha do Pará, em especial, é um dos poucos produtos alimentícios que apresentam uma concentração excepcionalmente alta de selênio (16 a 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Ip and Lisk, 1994). Considerando que a ingestão diária de 50 a 200 μg de selênio é considerada adequada ao indivíduo adulto (WHO, 1987), o consumo diário de 1,7 g da castanha teoricamente provém ao organismo a quantidade necessária deste elemento.

11.7 Análise de Cálcio, Magnésio, Ferro e Zinco nas Amostras de Cabelo de Índios Wari

Na tabela 18 são apresentados os resultados obtidos para os outros elementos essenciais estudados e três faixas de valores consideradas normais. Assim como no caso do selênio, estas faixas de valores são referentes aos laboratórios Doctor's Data e MineraLab e o estudo realizado por Pozebon et al (1999).

Tabela 18: Comparação entre os valores de cálcio, zinco, ferro e magnésio encontrados nas amostra analisadas e as faixas consideradas normais (em $\mu\text{g g}^{-1}$).

Elemento	Valores Obtidos		Pozebon et al, 1999	Doctor's Data*	MineraLab*
	Variação	Mediana			
Ca	528,1 a 1579	959,8	170 a 4,69.10 ³	204 a 712	200 a 600
Zn	93,43 a 192,5	148,5	53,7 a 327	104 a 288	160 a 240
Fe	18,30 a 85,41	45,88	10 a 900	21 a 50	20 a 50
Mg	46,30 a 237,2	145,7	1,49 a 567	29 a 137	25 a 75

* Referência (Saiki et al, 1998)

Assim como havia sido observado para o selênio, as faixas de concentração consideradas normais pelas fontes de referências apresentam uma variação significativa entre si, além de compreender um amplo intervalo de valores.

Todos os resultados obtidos para cálcio e magnésio, assim como alguns valores determinados para ferro, encontram-se fora da faixa considerada normal pelos dois laboratórios comerciais.

No entanto, não podemos afirmar que os indivíduos estudados apresentem uma nutrição inadequada quanto a estes elementos. Estudos realizados em diferentes regiões do mundo demonstram que valores considerados normais para uma determinada população não podem ser extrapolados para outras, pois a concentração de elementos em materiais biológicos dependem de diversos fatores entre os quais variações nos hábitos alimentares e condições ambientais

Deste modo, somente o intervalo considerado no estudo realizado por Pozebon et al (1999), o qual engloba valores referentes a diversas regiões do mundo, abrange todos os resultados obtidos.

Não foi observada nenhuma relação entre as concentrações dos elementos analisados e a idade do indivíduo na população estudada. A concentração dos elementos no organismo parece estar mais relacionada com os hábitos alimentares individuais.

11.8 Correlação Entre as Concentrações de Mercúrio e Selênio

Analisando os resultados obtidos para selênio e mercúrio nas amostras de cabelos dos índios estudados confirmam uma correlação entre as concentrações de ambos os elementos. Na FIG 18 esta correlação pode ser claramente observada.

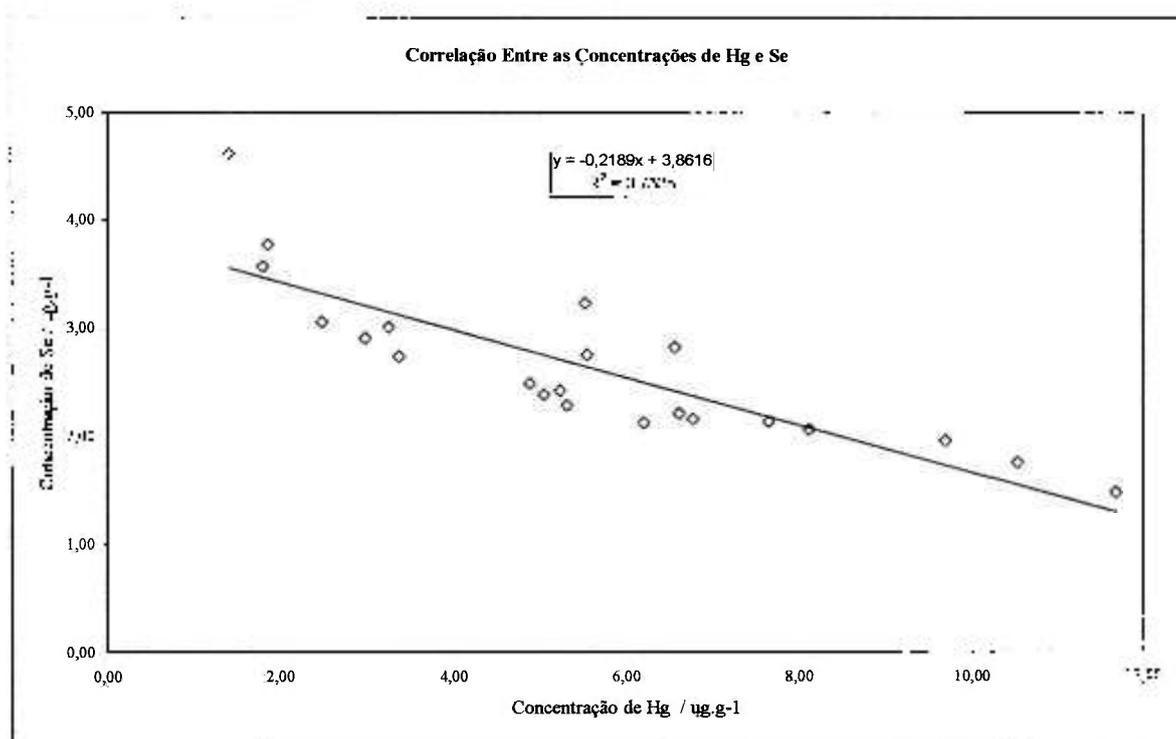


Figura 18: Gráfico das concentrações de mercúrio e selênio nas amostras analisadas.

A correlação entre a razão Hg/Se e a concentração de mercúrio nas amostras analisadas mostrou-se positiva, como pode ser observado na FIG 19. Os valores da razão que aproximam-se de 1 para amostras com baixas concentrações de mercúrio encontra-se de acordo com a proporção equimolar de mercúrio e selênio em sua ligação com a Selenoproteína P.

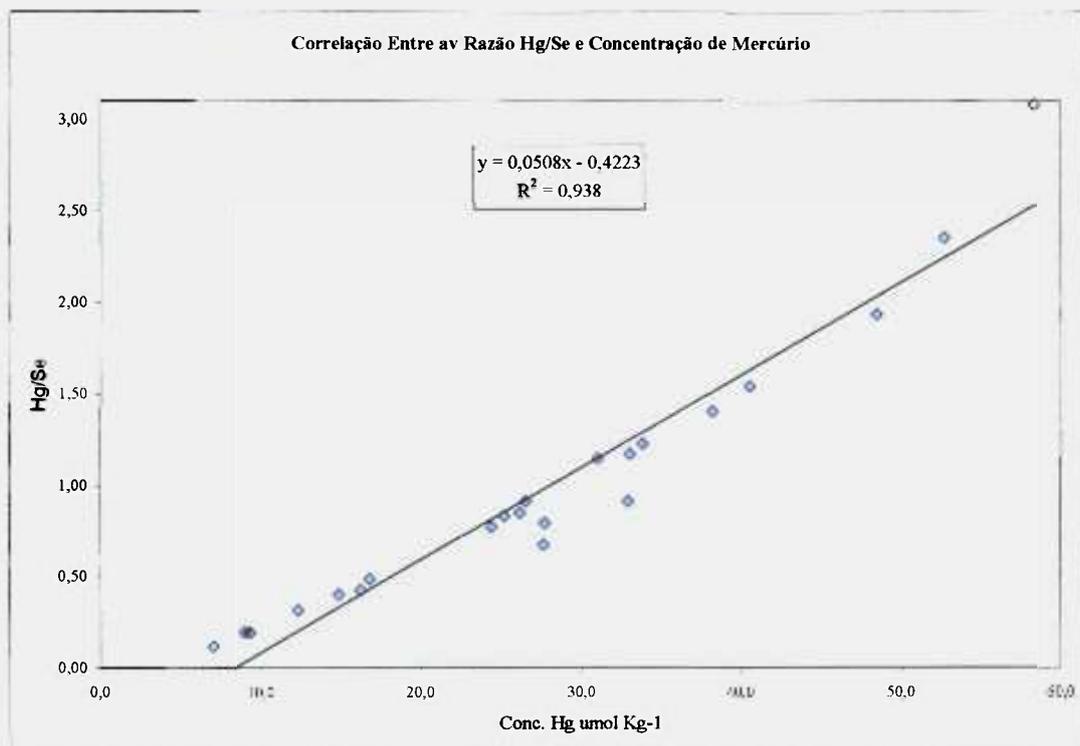


Figura 19: Gráfico de razão Hg/Se por concentração de mercúrio nas amostras analisadas.

O resultado obtido confirma recente estudo publicado por Vasconcellos e colaboradores (Vasconcellos et al, 2000), no qual foram avaliadas as concentrações de mercúrio e selênio em amostras de cabelos de índios da região do Parque do Xingu.

12 CONCLUSÕES

Na rotina do laboratório diversos fatores podem contribuir para a variabilidade dos resultados analíticos. Entre estes estão incluídos condições laboratoriais, pessoais e relacionadas ao equipamento analítico. Considerando-se que os principais fatores externos estejam sob controle, a qualidade dos resultados fica fortemente dependente do controle de cada etapa do processo analítico.

Os procedimentos de validação dos métodos para determinação de mercúrio e selênio total em amostras de cabelo por meio das técnicas de espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio e geração de hidretos em um sistema de injeção em fluxo (FIA-CV-AAS e FIA-HG-AAS) mostraram resultados satisfatórios. Deste modo, podemos considerar que os métodos foram implantados com sucesso no laboratório.

O estudo das incertezas demonstrou a relevância de cada uma destas etapas e sua influência nos resultados das análises. No exemplo considerado nesta dissertação (item 11.4), concluímos que a maior influência na incerteza global é aquela associada à intensidade de sinal medida no equipamento.

Os níveis de mercúrio encontrados nas amostras de cabelos de índios Wari das localidades estudadas estão mais elevados do que os valores determinados em populações de outros países, ou até mesmo do Brasil (Saiki et al, 1998; Vasconcellos et al, 2000) não expostas à contaminação, ocupacional ou ambiental. No entanto, estes níveis encontram-se de acordo com outros estudos realizados na Região Amazônica englobando indivíduos não relacionados diretamente com atividades garimpeiras (tabela 1).

Deste modo, podemos suspeitar que uma considerável parcela do mercúrio presente seja proveniente de fontes naturais devido ao desmatamento e queimada da floresta, assim como o assoreamento dos rios.

Apesar destes valores encontrarem-se abaixo daquele estipulado pela Organização Mundial de Saúde como associado a um baixo risco de dano neurológico para adultos ($50 \mu\text{g g}^{-1}$), não podemos, ainda assim, descartar os riscos à população da região principalmente se considerarmos a maior sensibilidade à exposição pré-natal.

A alta concentração de selênio quando comparada com outras regiões, apresentada pela população estudada, parece estar relacionada ao consumo de alimentos ricos neste elemento como peixes e castanhas do Pará (Dórea et al, 1998, Lima et al, 2001).

Uma avaliação do estado nutricional destes indivíduos baseada nos outros elementos analisados não mostrou valores conclusivos, pois os intervalos de valores normais ou limite máximo de concentração para elementos em cabelo humano variam consideravelmente dependendo da referência. Este fato sugere que estes valores devem ser considerados com cautela quando os objetivos são avaliações nutricionais ou toxicológicas de indivíduos.

Os valores de razão Hg/Se para as amostras analisadas aproximam-se de 1 para baixas concentrações de mercúrio e aumentam a medida que estas concentrações crescem. Este comportamento parece estar relacionado ao complexo $\{(\text{Hg-Se})_n\}_m$ -Seleproteína P, presente no plasma sanguíneo, o qual diminui a biodisponibilidade do elemento tóxico no organismo.

Embora este estudo traga uma contribuição às discussões sobre a importância do selênio no processo de biodisponibilidade do mercúrio, existe ainda a

Capítulo 12: Conclusões

necessidade de uma avaliação mais detalhada envolvendo um número maior de indivíduos investigados assim como amostras de diferentes regiões.

13 TRABALHOS FUTUROS

Dando continuidade aos estudos realizados na Região em colaboração com a Universidade Federal do Pará, Instituto Evandro Chagas e o Núcleo de Medicina Tropical, Belém (PA), serão realizadas as seguintes atividades:

- * Ampliação do número de indivíduos e localidades estudadas.
- * Avaliação dos teores de mercúrio em outros monitores biológicos, tais como: cordão umbilical, placenta, etc.

14 PRODUÇÃO ACADÊMICA

O durante o execução deste trabalho foram desenvolvidas as seguintes produções acadêmicas:

** Publicações Aceitas*

The Science of The Total Environment

"Correlation Between Mercury and Selenium Concentrations in Indian Hair From Rondônia State, Amazon Region, Brazil"

Mônica Soares de Campos, Jorge Eduardo de Souza Sarkis, Regina Céli Sarkis Müller, Edilson da Silva Brabo, Elizabete de Oliveira Santos

** Publicações Submetidas*

The Science of The Total Environment

"A Preliminary Assessment of the Correlation Between Mercury and Selenium Concentrations in Fish from Amazon Region - Part 1: Macaco River, Cachoeira do Piriá Municipality, Pará State, Brazil"

Ana Paula de Souza Lima, Jorge Eduardo de Souza Sarkis, Mônica Soares de Campos, Regina Celi Sarkis Müller, Terezinha Cid de Souza

Química Nova

"Análise de Incertezas Relacionadas a Análise de Mercúrio Total em Amostras Biológicas Por Meio da Técnica de Espectrometria de Absorção Atômica Com Geração de Vapor Frio Com Sistema de Injeção em Fluxo (FIA-CV-AAS)"

Mônica Soares de Campos, Jorge Eduardo de Souza Sarkis

** Apresentações em Congresso**11º Encontro Nacional de Química Analítica - Campinas - setembro de 2001*

"Estudo da Correlação Mercúrio-Selênio em Amostras de Cabelos de Índios Wari do Estado de Rondônia"

Mônica S. de Campos, Jorge E. S. Sarkis, Marcos A. Hortellani, Regina C. S. Müller, Edilson S. Brabo, Elizabete Santos

11º Encontro Nacional de Química Analítica - Campinas - setembro de 2001

"Correlação Entre Concentração de Hg e Se em Peixes em uma Área de Exploração Garimpeira Durante a Década de 80"

Ana Paula de Souza Lima, Jorge Eduardo de Souza Sarkis, Mônica Soares Campos, Regina Celi Sarkis Müller, Terezinha Cid de Souza

11º Encontro Nacional de Química Analítica - Campinas - setembro de 2001

" Avaliação da Contaminação por Mercúrio dos Sedimentos da Região Estuarina de Santos"

Marcos A. Hortellani¹, Jorge E. S. Sarkis¹, Mônica S. de Campos¹, Denis M. de S. Abessa e Ceci P. M. de Sousa

23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - Poços de Caldas - maio de 2000

"Determinação de Zinco e Selênio em Amostras de Cabelos de Indivíduos da Região Amazônica Através de Espectrometria de Absorção Atômica Com Chama (F-AAS) e Geração de Hidretos Com Sistema de Injeção em Fluxo (FIA-HG-AAS)"

Mônica S. de Campos, Jorge E. S. Sarkis, Marcos A. Hortellani, Regina C. S. Müller, Elizabete Santos

23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - Poços de Caldas - maio de 2000

" Determinação de Metais em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Comercializadas na Cidade de São Paulo"

Lúcia C. de Almeida, Jorge E. S. Sarkis, Walter R. Pedreira Filho, Mônica S. Campos

10º Encontro Nacional de Química Analítica - Santa Maria - setembro de 1999

"Determinação de Mercúrio Total em Amostras de Cabelo Provenientes da Região Amazônica Através da Técnica de Espectrometria de Absorção Atômica Com Geração de Vapor Frio (CV-AAS)"

Mônica S. de Campos, Jorge E. S. Sarkis, Marcos A. Hortellani, Regina C. S. Müller, Edilson S. Brabo, Elizabete Santos

10º Encontro Nacional de Química Analítica - Santa Maria - setembro de 1999

" Determinação de Mercúrio Total em Amostras de Sedimentos Provenientes da Baía de Santos-SP Com um Sistema de Injeção de Fluxo Para Geração de Vapor Frio Acoplado a um Espectrometro de Absorção Atômica"

Marcos A. Hortellani, Mônica S. Campos, Jorge E. S. Sarkis, Jarbas Bonetti Filho, Carla Bonetti

15 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICA. *Gestão da qualidade e garantia da qualidade*. Dez 1994 (NBR ISSO 8402).

AKAGI H, MALM O, KINGO Y, HARADA M, BRANCHES FJP, PFEIFFER WC, KATO H. Methylmercury pollution in the Amazon, Brazil. *Sci Total Environ*, 175, 85-95, 1995.

BARBOSA AC, BOISCHIO AA, EAST GA, FERRARI I, GONÇALVES A, SILVA PRM, CRUZ TME. Mercury contamination in Brazilian Amazon: environmental and occupational aspects. *Water, Air, Soil Pollut*; 80, 109-121, 1995.

BARBOSA AC, SILVA SRL, DOREA JG. Concentration of mercury in the hair of indigenous mothers and infants from the Amazon Basin. *Arch Environ Contam Toxicol*; 34, 100-105, 1998.

BARCELO-QUINTAL MH, MANZANILLA-CANO JA, REYES-SALAS EO, FLORES-RODRIGUEZ J. Implementation of a differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) at a hanging mercury drop electrode (HMDE) procedure for the analysis of airborne heavy metals. *Anal Letters*, 34(13), 2349-2360, 2001.

BAREK J, KADERABKOVA M, MEJSTRIK V, ZIMA J. Polarographic and voltammetric determination of trace amounts of 9-nitroanthracene. *Electroanal*, 13(15), 1265-1269, 2001.

BARREGÅRD L, THOMASSEN Y, SCHÜTZ A, MARKLUND SL. Levels of selenium and antioxidative enzymes following occupational exposure to inorganic mercury. **Sci Tot Environ**, 99, 37-47, 1990

BJÖRKMAN L, MOTTET K, NYLANDER M, VAHTER M, LIND B, FRIBERG L. Selenium concentrations in the brain after exposure to methylmercury: relations between the inorganic mercury fraction and selenium. **Arch Toxicol**; 69, 228-234, 1995

BORELLA P, ROVESTI S, CASELGRANDI E, BARGELLINI A. Quality control in hair analysis: a systematic study on washing procedures for trace element determination. **Mikrochim Acta**, 123, 271-280, 1996.

BUCHMANN JH. *O uso da monitoração ambiental como técnica de identificação de atividades de enriquecimento isotópico*. São Paulo: 2000. Tese (Doutoramento) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

CAPELO JL, LAVILLA I, BENDICHO C. Chemometric approach for the optimization of a flow injection manifold applied to the determination of total Hg in seafood by cold vapor AAS. **Atom Spectr**, 21(6), 229-233, 2000.

CAPOTE G, RIBEIRO S, ARRIBERE MA, HERNANDEZ A. Determination of elemental levels in radiopharmaceuticals by instrumental neutron activation analysis. **J Radioanal Nucl Chem**; 249(3), 657-661, 2001.

CAPPON CJ, SMITH C. Chemical Form and Distribution of Mercury and Selenium in Edible Seafood. **J Anal Toxic**, 6, 1982.

CAROLI S, SENOFONTE O, VIOLANTE N, FORNARELLI L, POWAR A. Assessment of reference values for elements in the hair of urban normal subjects. **Microchem J**; 46, 174-183, 1992.

CAROLI S, ALIMONTI A, CONI E, PETRUCCI F, SENOFONTE O, VIOLANTE N. The assessment of reference values for elements in human biological tissues and fluids: a systematic review. **Crit Rev Anal Chem**, 24(5, 6), 363-398, 1994.

CASTRO MB, ALBERT B, PFEIFFER WC. Mercury levels in Yanomami Indians hair from Roraima, Brazil. In: 8TH INTERNATIONAL CONFERENCE OF HEAVY METALS IN ENVIRONMENT 1991; Edinburgo, 1, 367-370.

CHAI Z, FENG W, QIAN Q, GUAN M. Correlation of mercury with selenium in human hair in a typical mercury-polluted area in China. **Biol Trace Elem Res**, 63(2), 95-104, 1998.

CHANG JC, GUTENMANN WH, REID CM, LISK DJ. Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. **Chemosphere**. 30(4), 801-802, 1995.

CHATTERJEE A, SHIBATA Y, MORITA M. Determination of selenomethionine by high performance liquid chromatography-direct hydride generation-atomic absorption spectrometry. **Microchem J**, 69(3), 179-187, 2001.

CHATTERJEE A, SHIBATA Y, TANAKA A, MORITA M. Determination of selenoethionine by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry/high-performance liquid chromatography-hydride generation-high power nitrogen microwave-induced plasma mass spectrometry. **Anal Chim Acta**, 436(2), 253-263, 2001.

CHIOU CS, JIANG SJ, DANADURAI KSK. Determination of mercury compounds in fish by microwave-assisted extraction and liquid chromatography-vapor generation-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochim Acta**, 56(7), 1133-1142, 2001.

CINTRA RMGC. Biodisponibilidade de selênio em dieta regional de São Paulo. São Paulo: 1990. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

COUTINHO VF. Caracterização do Estado Nutricional Relativo ao Selênio de Praticantes de Capoeira. São Paulo: 1999. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

DENKHAUS E, BECK F, BUESCHLER P, GERHARD R, GOLLOCH A. Electrolytic hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of antimony, arsenic, selenium, and tin - mechanistic aspects and figures of merit, **Fresenius**, 370(6), 735-743, 2001.

D'ITRI FM. The Environmental Mercury Problem. USA, 1992.

DOREA JG, MOREIRA MB, EAST G, BARBOSA AC. Selenium and mercury concentrations in some fish species of the Madeira River, Amazon Basin, Brazil. **Biol Trace Elem Res**; 65, 211-220, 1998.

EURACHEM/CITAC GUIDE. *Quantifying uncertainty in analytical measurement*. Editors: ELLISON SLR, ROSSLEIN M, WILLIAMS A, second edition, 2000.

FALNOGA I, ZNIDARIC-TUSEK M, HORVAT M, STEGNAR P, Mercury, selenium and cadmium in human autopsy samples from Idrija residents and mercury mine workers. **Environ Res**. 84, 211-218, 2000.

FERRER E, ALEGRÍA A, BARBERÁ R, FARRÉ R, LAGARDA MJ, MONLEON J. Whole blood selenium content in pregnant women. **Sci Total Environ**; 227, 139-143, 1999.

FOSTIER AH, FERREIRA JR, DEANDRADE MO. Microwave digestion for mercury determination in fish-tissues and bottom sediments by automated cold vapor atomic-absorption spectrometry. **Química Nova**; 18(5), 425-430, 1995.

GALLIGNANI M, VALERO M, BRUNETTO MR, BURGUERA JL, BURGUERA M, DE PENA YP. Sequential determination of Se(IV) and Se(VI) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry with HCl/HBr microwave aided pre-reduction of Se(VI) to Se(IV). **Talanta**, 52(6), 1015-1024, 2000.

GANTHER HE, GOUDIE C, WAGNER P, SUNDE ML, KOPECKY MJ, OH SH, HOEKSTRA WG. Selenium - relation to decreased toxicity of methylmercury added too diets containing tuna. **Science**, 175, 1122, 1972.

GOTZL A, RIEPE W. Mercury determination - SPME and colorimetric spot test. **Talanta**, 54(5), 821-827, 2000.

HLADIKOVA V, PETRIK J, JURSA S, URSINYOVA M, KOCAN A. Atmospheric mercury levels in the Slovak Republic. **Chemosphere**, 45(6-7), 801-806, 2001.

IP C, LISK DJ. Bioactivity of selenium from Brazil nut for cancer prevention and selenoenzyme maintenance. **Nutrition and Cancer**; 21(3), 203-212, 1994.

JARDIM WF, FADINI PS. Há muito mercúrio natural no Rio Negro, sem relação com o garimpo. **Fapesp Pesquisa**; 47, 32-35, 1999.

KEHRIG HDA, COSTA M, MOREIRA I, MALM O. Methylmercury and total mercury in estuarine organisms from Rio de Janeiro, Brazil. **Environ Sci Poll Research**, 8(4), 275-279, 2001.

KVICALA J, ZAMRAZIL V, JIRANEK V. Characterization of selenium status of inhabitants in the region Usti nad Orlici, Czech Republic by INAA of blood serum and hair and fluorimetric analysis of urine. **Bio Trace El Re**, 71(2), 31-39, 1999.

LACERDA LD. Minamata Livre de Mercúrio. **Ciência Hoje**, 133(23), 25-31, 1997.

LEINO T, LODENIUS M. Human hair mercury levels in Tucuruí area, State of Pará, Brazil. **Sci Tot Environ**, 175, 119-125, 1995.

LIMA APS, MÜLLER RCS, SARKIS JES, ALVES CN, BENTES MHS, BRABO E, SANTOS EO. Mercury contamination in fish from Santarém, Pará, Brazil. **Environ Res**; 83, 117-122, 2000.

LIMAVERDE AM. *Uma adaptação do método de redução seletiva de "Magos" aplicado à especiação de mercúrio em peixes por espectrofotometria de absorção atômica pela técnica de vapor frio*. Rio de Janeiro: 1996. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

MALM O, CASTRO, BRANCHES FJP, AKAGI H, CASTRO MB, PFEIFFER WC, HARADA M, BASTOS WR, KATO H. Mercury and methylmercury in fish and human hair from the Tapajós river basin, Brazil. **Sci Tot Environ**; 175, 127-140, 1995.

MALM O, GUIMARÃES JRDG, CASTRO MB, BASTOS WR, BRANCHES FJP, PFEIFFER WC. Mercúrio na Amazônia: evolução da contaminação ambiental e humana. **Ciência Hoje**, 22(128), 17-23, 1997.

MALM O. Gold Mining as a Source of Mercury Exposure in the Brazilian Amazon. **Environ Res**; 77, 73-78, 1998.

MERTZ W, ABERNATHY CO, OLIN SS. Risk assessment of essential elements. USA, 1994.

MARTINEZ-BRAVO Y, ROIG-NAVARRO AF, LOPEZ FJ, HERNANDEZ F. Multielemental determination of arsenic, selenium and chromium(VI) species in water by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, **J Chrom A**, 926(2), 265-274, 2001.

MOSTAFA GA, GHAZY SES. Indirect spectrophotometric determination of small amounts of selenium(IV) and arsenic(V) by simple extraction using flotation columns. **Anal Re**, 17(10), 1189-1193, 2001.

O'DELL BL. Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements. USA, 1997.

OSMAN K, SCHÜLTZ A, ÅKESSON B, MACIAG A, VAHTER M. Interactions between essential and toxic elements in children exposed to lead in Katowice, Poland. **Clin Biochem**, 31, 657-665, 1998.

PEDROTTI JJ. Desenvolvimento de instrumentação e método de análise por injeção em fluxo com detecção voltamétrica em eletrodo de mercúrio. São Paulo: 1993. Tese (Doutoramento) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

PFEIL DL, BRUCE ML. Automated determination of mercury by cold vapor atomic fluorescence with gold amalgamation. **Amerc Lab**, 33(18), 26-28, 2001.

POZEBON D, DRESSLER VL, CURTIUS AJ. Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. **Química Nova**, 22(6), 838-846, 1999.

ROCHA MS, SOLDADO AB, BLANCO E, SANZ-MEDEL A. Speciation of mercury using capillary electrophoresis coupled to volatile species generation-inductively coupled plasma mass spectrometry. **J Anal Atom Spectro**, 16(9), 951-956, 2001

SAIKI M, VASCONCELLOS MBA, ARAUZ LJ, FULFARO R. Determination of trace elements in human head hair by neutron activation analysis. **J Radioanal Nucl Chem**; 236(1-2), 25-28, 1998.

SAMPAIO W, SILVA V. *Os povos indígenas de Rondônia*. Porto Velho, 1998.

SANTA ROSA RMS, MULLER RCS, ALVES CN, SARKIS JED, BENTES MHD, BRABO E, DE OLIVEIRA ES. Determination of total mercury in workers' urine in gold shops of Itaituba, Para State, Brazil. **Sci Tot Environ**; 261, 169-176, 2000.

SANTOS LSN, MÜLLER RCS, SARKIS JES, ALVES CN, BRABO ES, SANTOS EO, BENTES MHS. Evaluation of total mercury concentrations in fish consumed in the municipality of Itaituba, Tapajós River Basin, Pará, Brazil. **Sci Tot Environ**; 261, 1-8, 2000.

SHRADER ED, HOBBS WB. The determination of mercury by cold vapor atomic absorption. In: www.varianinc.com, 32, 1983.

STEUERWALD U, WEIHE P, JORGENSEN PJ, BJERVE K, BROCK J, HEINZOW B, BUDTZ-JORGENSEN E, GRANDJEAN P. Maternal seafood diet, methylmercury exposure and neonatal neurologic function. **Journal of Pediatrics**; 136(5), 599-605, 2000.

STRIPEIKIS J, TUDINO M, TROCCOLI O, WUILLOUD R, OLSINA R, MARTINEZ L. On-line copper and iron removal and selenium(VI) pre-reduction for the determination of total selenium by flow-injection hydride generation-inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochim Acta B**, 56(1), 93-100, 2001.

TAMARI Y. *Environmental Chemistry of Selenium*. USA: Marcel Dekker Inc, 1998.

TAO GH, STURGEON RE. Sample nebulization for minimization of transition metal interferences with selenium. **Spectrochim Acta B**, 54(3-4), 481-489, 1999.

TELISMAN S, JURASOVIC J, PIZENT A, CVITKOVIC. Blood pressure in relation to biomarkers of lead, cadmium, copper, zinc, and selenium in men without occupational exposure to metals. **Environ Res**; 87(2), 57-68, 2001.

TSALEV DL, LAMPUGNANI L, D'ULIVO A, PETROV II, GEORGIEVA R, MARCUCCI K, ZAMBONI R. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of selenium in biological fluids with rhodium modifier compared with hydride generation atomic spectrometric techniques. **Microchem J**, 70(2), 103-113, 2001.

UBILLUS F, ALEGRIA A, BARBERA R, FARRE R, LAGARDA MJ. Methylmercury and inorganic mercury determination in fish by cold vapour generation atomic absorption spectrometry. **Food Chem**; 71(4), 529-533, 2000.

VASCONCELLOS MBA., SAIKI M, PALETTI G, PINHEIRO RMM, BARUZZI RG, SPINDEL R. Determination of mercury in head hair of Brazilian populational groups by neutron activation analysis. **J Radioanal Nucl Chem**; 199(2), 369-376, 1994.

VASCONCELLOS MBA, BODE P, PALETTI G, CATHARINO MGM, AMMERLAAN AK, SAIKI M, FÁVARO DIT, BYRNE AR, BARUZZI R, RODRIGUES DA. Determination of mercury and selenium in hair samples of Brazilian Indian populations living in the Amazonic region by NAA. **J Radioanal Nucl Chem**; 244(1), 81-85, 2000.

VASCONCELLOS MBA, BODE P, AMMERLAAN AK, SAIKI M, PALETTI G, CATHARINO MGM, FAVARO DIT, BARUZZI R, RODRIGUES DA. Multielemental hair composition of Brazilian Indian populational groups by instrumental neutron activation analysis. **J Radioanal Nucl Chem**; 249(2), 491-494, 2001.

VIEIRA JLF. *Determinação de mercúrio total em amostras ambientais por espectrofotometria de absorção atômica com gerador de vapor frio*. São Paulo: 1994. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

VINAS P, PARDO-MARTINEZ M, LOPEZ-GARCIA I, HERNANDEZ-CORDOBA M. Slurry atomisation for the determination of arsenic, cadmium and lead in food colourants using electrothermal atomic absorption spectrometry. **J Anal Atom Spectro**, 16(10), 1202-1205, 2001.

WALLSCHLAGER D, ROEHL R. Determination of inorganic selenium speciation in waters by ion chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry using eluant elimination with a membrane suppressor. **J Anal Atom Spectro**, 16(9), 922-925, 2001

WASSERMAN JC, HACON SS, WASSERMAN MA. Biogeochemistry of mercury in the Amazonian environment. **Ambio**, in press, 2001.

WASSERMAN JC, FIGUEIREDO AMG, PELLEGATTI F, SILVA EV. Elemental composition of sediment cores from a mangrove environment using neutron activation analysis. **J Geo Exp**, 72(2), 129-146, 2001.

WHO. *Environmental Health Criteria 118 Inorganic mercury*. World Health Org. Geneva, 1991.

WHO. *Environmental Health Criteria 101 Methylmercury*. World Health Org. Geneva, 1990.

WHO. *Environmental Health Criteria 101 Selenium*. World Health Org. Geneva, 1987.

Capítulo 15: Referências Bibliográficas

WIRYAWAN A. Use of flow injection analysis for continuous monitoring of river water quality. **Lab Rob Auto**; 12(3), 142-148, 2000.

YANARDAG R, ORAK H. Total selenium concentration in various waters of Turkey. **Enviro Tec**, 22(2), 237-246, 2001.

YONEDA S, SUZUKI KT. Detoxication of mercury by selenium by binding of equimolar Hg-Se complex to a specific plasma protein. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**; 143, 274-280, 1997.

YONEDA S, SUZUKI KT. Equimolar Hg-Se complex binds to selenoprotein P. **Biochem Biophys Res Commun**; 231, 7-11, 1997.