INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**ESTUDO SOBRE DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS
QUÍMICOS EM UNHAS HUMANAS PELO MÉTODO DE
ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS**

THALITA PINHEIRO SANCHES

**Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para
obtenção do Grau de Mestre em
Ciências na Área de Tecnologia
Nuclear – Aplicações**

**Orientadora:
Dra. Mitiko Saiki**

**SÃO PAULO
2012**

*Dedico a Deus,
meus pais Mônica e Artur Bernardo
e minhas irmãs Tamires e Monique.*

"Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível." (Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de realizar esta grande etapa em minha vida.

Aos meus pais Mônica e Artur Bernardo e minhas irmãs Tamires e Monique pela paciência e me ajudar a passar por momentos difíceis e decisivos para que eu pudesse concretizar este trabalho.

A minha avó Vanice pelo incentivo, sempre acreditar em mim e amor incondicional.

Ao meu namorado Jefferson, que por muitos finais de semana e feriados suportou a minha ausência ou me ajudou com a minha dissertação com muito amor e paciência.

À minha orientadora Dra. Mitiko Saiki pela paciência e conhecimentos passados a mim que foram essenciais para a realização deste trabalho.

À Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) pela bolsa de mestrado concedida, cujo apoio financeiro foi essencial para permitir a dedicação exclusiva à pesquisa.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP) em especial ao pessoal do Centro do Reator de Pesquisas (CRPq) pela oportunidade.

A todas as pessoas que doaram as amostras de unhas.

Aos meus amigos do laboratório de análise por ativação neutrônica, Daniele, Rita, Mychelle, Maria Cristina, Roberto, Priscila, Diego, Rogério, Kelly, Paulo, e todos os alunos de iniciação científica eu agradeço por todo o carinho, amizade, estudos, conselhos e por tornarem meus dias mais alegres.

E a todos que de alguma forma contribuíram para execução desse trabalho.

ESTUDO SOBRE DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS EM UNHAS HUMANAS PELO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

THALITA PINHEIRO SANCHES

RESUMO

As análises de unhas têm sido objeto de estudo para avaliar os níveis de elementos acumulados no organismo humano e com aplicações deste tecido na monitoração da exposição ocupacional ou ambiental, na avaliação do estado nutricional, na identificação da intoxicação por metais tóxicos e na diagnose ou prevenção de doenças. As análises de unhas apresentam vantagens devido à facilidade na coleta, estocagem e transporte das amostras bem como fornecem os níveis de elementos acumulados ao longo de um período de aproximadamente 6 meses ao contrário dos fluídos como sangue e urina. Entretanto há controvérsias sobre a aplicação dos dados de suas análises devido às dificuldades em estabelecer valores confiáveis de referência ou faixas de concentrações para uso como dados de controle. O objetivo deste trabalho foi avaliar os fatores que podem afetar nas concentrações de elementos nas unhas para posterior análise de amostras de um grupo de indivíduos aplicando o método de análise por ativação com nêutrons (NAA). As amostras de unhas das mãos e dos pés coletadas de indivíduos adultos de ambos os sexos, com idades de 18 a 71 anos e residentes na região metropolitana de São Paulo foram cortadas em pequenos fragmentos, lavadas e secas para as análises. O procedimento experimental consistiu em irradiar amostras juntamente com os padrões sintéticos de elementos por 16 h sob fluxo de nêutrons térmicos de cerca de $4,5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ do reator nuclear de pesquisa IEA-R1, seguido de espectrometria de raios gama para a determinação dos elementos As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb, Sc, Se e Zn. No controle da qualidade analítica foram analisados os materiais de referência certificados cujos os resultados obtidos indicaram boa exatidão e precisão com erros relativos e desvios padrão relativos inferiores a 5,1 % e 11,6 % respectivamente. Os ensaios preliminares indicaram que as contribuições devido às impurezas

presentes nos invólucros de plástico utilizados na irradiação assim como aquelas decorrentes da adsorção dos esmaltes nas unhas são muito baixas, podendo ser desprezadas. Nos testes de limpeza das unhas para análise foi verificado que a solução diluída de HNO_3 pode provocar a dissolução das amostras. A homogeneidade da amostra preparada foi verificada pelas análises em réplicas. A comparação entre as concentrações de elementos obtidos nas unhas das mãos e dos pés indicou diferenças significativas para os elementos Br, Co e Zn (teste t , $p = 0,05$). As concentrações de elementos nas unhas quando comparadas em relação ao gênero, faixa etária e Índice de massa corpórea (IMC) dos indivíduos não apresentaram diferenças significativas para a maioria dos elementos determinados. A diferença significativa das concentrações de Zn das unhas das mãos foi verificada entre o gênero dos indivíduos e das concentrações de Cs entre às faixas etárias distintas. As concentrações de elementos obtidas nas unhas dos pés e das mãos apresentaram uma ampla variabilidade e para a maioria dos elementos os dados obtidos são da mesma ordem de grandeza ou dentro das faixas dos valores da literatura.

A STUDY ON CHEMICAL ELEMENT DETERMINATIONS IN HUMAN NAILS BY NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS

THALITA PINHEIRO SANCHES

ABSTRACT

Nail analyses have been the object of study in order to assess the levels of elements accumulated in the human organism and to use this tissue to monitor environmental and occupational exposure, to evaluate the nutritional status, to verify intoxication by toxic metals and to diagnose or to prevent diseases. Nail analyses present advantages due to easy sample collection, storage, transportation and this tissue provides element level accumulation over time. However, there is controversy regarding the application of nail analysis data due to difficulties to establish reliable reference values or element concentration ranges as control values. The objective of this study was to evaluate the factors that can affect nail element concentrations for further sample analyses of a group of individuals by applying neutron activation analysis (NAA). Fingernails and toenails collected from adult individuals of both genders, aged 18 to 71 years, living in the São Paulo Metropolitan Region were cut in small fragments, cleaned and dried for analyses. Samples and element standards were irradiated for 16 h under a thermal neutron flux of about $4.5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ at the IEA-R1 nuclear research reactor followed by gamma ray spectrometry. Element concentrations for As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb, Sc, Se and Zn were determined. For quality control of the analytical results, certified reference materials were analysed and the results showed good accuracy and precision with relative errors and relative standard deviations lower than 5.1 % and 11.6 %, respectively. Preliminary assays indicated that the contribution due to impurities from plastic involucres used in the irradiation as well as those from nail polishes is very low and could be considered negligible. Results from the nail sample cleaning process using distinct procedures indicated that HNO_3 solution may cause sample dissolution. Sample homogeneity was verified by analysis of a sample in replicate. A comparison of finger and toenail

results indicated significant differences ($p= 0.05$) for the elements Br, Co and Zn. Element concentration comparisons were also made with gender, age and body mass index (BMI) parameters and for the most part showed no significant differences. The differences were found for Zn concentrations when compared between genders in fingernail, for Cs when compared between ages in fingernail. Elements concentrations obtained for both finger and toenail samples presented wide variability and they were of the same order of magnitude or within ranges as those reported in published literature.

SUMÁRIO

Páginas

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	15
3. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE AS UNHAS	16
3.1. Análise elementar das unhas	20
3.2. Métodos utilizados para análises das unhas e tratamento das amostras	24
3.3. Considerações sobre alguns elementos biologicamente essenciais em humanos	26
4. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS (NAA)	30
4.1. Equação fundamental da análise por ativação com nêutrons	30
4.2. Vantagens e desvantagens do método de análise por ativação com nêutrons	34
5. PARTE EXPERIMENTAL	36
5.1. Procedimento dos ensaios preliminares	36
5.1.1. Análise dos materiais de referência certificados	36
5.1.2. Análise das folhas de polietileno utilizados na irradiação das amostras	37
5.1.3. Análise qualitativa de esmaltes para unhas	37
5.1.4. Verificação da homogeneidade da amostra de unha preparada para análise	38

5.1.5.	Ensaio preliminar para lavagem das unhas	39
5.2.	Coleta e tratamento das amostras de unhas	39
5.2.1.	Casuística.....	39
5.2.2.	Procedimento de coleta.....	40
5.2.3.	Procedimento adotado para o tratamento das amostras de unhas ...	43
5.3.	Procedimento para análise elementar das amostras de unhas.....	46
5.3.1.	Preparação dos padrões sintéticos dos elementos	46
5.3.2.	Procedimento para a Análise por Ativação com Nêutrons.....	48
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
6.1.	Análises de materiais de referência certificados	52
6.2.	Avaliação das impurezas de elementos nos esmaltes de unhas e no material plástico utilizado na irradiação das amostras	55
6.3.	Verificação da homogeneidade da amostra preparada para análise	57
6.4.	Ensaio preliminar de limpeza das unhas	58
6.5.	Análises das unhas das mãos e dos pés	63
6.6.	Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e pés.....	66
6.7.	Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e dos pés em relação ao gênero dos indivíduos.	68
6.8.	Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e dos pés em relação à faixa etária dos indivíduos.	70
6.9.	Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e dos pés em relação à faixa de índice de massa corpórea (IMC) dos indivíduos.....	72

6.10. Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e dos pés com valores da literatura.	74
7. CONCLUSÕES	78
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
9. APÊNDICES	90
APÊNDICE 1.....	90
Tabela 9.1. Concentrações dos elementos As, Br, Ca, Co, Cs, Fe em mg kg ⁻¹ das unhas das mãos.	90
Tabela 9.2. Concentrações dos elementos K, La, Na, Sc, Se e Zn em mg kg ⁻¹ das unhas das mãos.	91
Tabela 9.3. Concentrações dos elementos As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe em mg kg ⁻¹ das unhas dos pés.....	92
Tabela 9.4. Concentrações dos elementos K, La, Na, Sb, Sc, Se e Zn em mg kg ⁻¹ das unhas dos pés.	93
10. ANEXOS.....	94
Anexo A.	94
Anexo B	98

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, determinações de elementos químicos em tecidos biológicos têm se tornado assunto de grande interesse devido principalmente ao aprimoramento dos conhecimentos sobre função de diversos elementos nos organismos vivos e também devido ao aperfeiçoamento de técnicas analíticas que possibilitam a detecção de suas baixíssimas concentrações.

A determinação dos níveis de elementos químicos no organismo humano geralmente é feita pela análise de fluídos humanos como o sangue e urina que são considerados o padrão ouro para avaliar exposição, porém somente de elementos recém incorporados ou em transição (MENEZES *et al*, 2004; YAEMSIRI *et al*, 2010). Outros tipos de amostras como a unha também vêm sendo analisadas, uma vez que é parte final do metabolismo de muitos elementos ou produtos que são incorporados em sua estrutura (MENEZES *et al*, 2004). Podem ser encontrados os seguintes elementos na unha normal: Ag, Al, Au, C, Ca, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, N, Na, O, P (fosfato), Pb, S, Sb, V e Zn (BANK *et al*, 1981).

Vários elementos de interesse por sua essencialidade ou toxicidade são acumulados nas unhas, cujos os íons possuem afinidade com os átomos de N, O, S do grupo de proteínas das unhas (AGUIAR, 2001).

As análises das unhas e cabelos vêm sendo realizadas para verificar se existe correlação entre as concentrações de elementos encontrados nas amostras com o estado nutricional (ZUKOWSKA *et al*, 2009), patológico (GARLAND *et al*, 1993) e para uso como indicador de contaminação ambiental e ocupacional (GAULT *et al*, 2008, KATSIKINI *et al*, 2010)

RIBEIRO *et al*, (1995) descreveram que o conhecimento sobre as unhas e suas doenças despertou interesse desde os primórdios da medicina. Antes da era Cristã, Celsius já fazia referência a doenças como a paroníquia, caracterizada por uma infecção de origem bacteriana ou viral que pode acometer toda a parte distal do dedo (LOUREIRO, 2012). Foram feitos estudos sobre o crescimento ungueal por Robert Boyle em 1684. Em 1852, foi apresentada uma descrição do chamado “complexo ungueal” no *Manual of Human Histology*. O primeiro trabalho sobre doenças de unhas encontrado na literatura médica brasileira foi de Clóvis de Castro em 1948, que descreve um caso de pigmentação ungueal relacionada com o uso de creme contendo mercúrio.

Em 1983 foi relatado sobre o primeiro uso de unhas dos pés como monitor biológico de selênio para estudo de doenças crônicas (MORRIS *et al*, 2006).

Convém ressaltar que as análises das unhas apresentam vantagens devido a sua coleta não ser invasiva, podendo ser facilmente coletada pelo próprio doador, com facilidade de estocagem e transporte devido sua estabilidade. Além disso, ao contrário das amostras de fluídos como soro sanguíneo e urina que indicam concentrações de elementos recém ingeridos, as unhas servem como indicador biológico de elementos acumulados a longo período, pois cada anela de unha representa várias semanas de crescimento e incorporação dos elementos (GARLAND *et al*, 1993, MANSON *et al*, 1998; MENEZES *et al*, 2004; ZUKOWSKA *et al*, 2009; PRIYA & GEETHA, 2011).

Apesar destas vantagens e inúmeras pesquisas com dados de análises de unhas, há divergência de opiniões sobre a validade destes dados para avaliação do estado nutricional e diagnose de doenças. Os dados muitas vezes não são consistentes com o estado nutricional e da saúde dos indivíduos e desta maneira o uso dos exames de elementos químicos nas unhas principalmente na área da saúde tem sido questionado.

CHENG *et al*, (1994) chamam a atenção para o fato de que para as unhas serem utilizadas como biomonitor de elementos traço, devem ser verificadas as possíveis contaminações oriundas do solo, esmaltes de unhas e assim como a influência da idade e gênero. Já KUCERA *et al*, (2004) encontraram dificuldades em eliminar a contaminação exógena das unhas e estes pesquisadores salientam sobre a ausência de um protocolo padrão para a lavagem das unhas.

BANK *et al*. (1981) citam que há muitas diferenças na composição elementar relatada sobre as unhas. A maioria dos pesquisadores utiliza-se de extensos procedimentos de lavagem para minimizar a contaminação exógena das amostras de unhas, no entanto, com as lavagens corre-se o risco de extrair elementos ligados a matriz da unha.

Face ao exposto, julgou-se extremamente importante avaliar os fatores que podem afetar nas concentrações de elementos nas unhas para posterior análise de amostras de um grupo de indivíduos aplicando o método de análise por ativação com nêutrons (NAA). Os resultados a serem obtidos do desenvolvimento deste trabalho poderão ser de grande valia uma vez que há poucos dados sobre a análise elementar em unhas da população brasileira.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi estudar os fatores que podem afetar a análise elementar de aparas de unhas humanas aplicando o método de Análise por Ativação com Nêutrons (NAA) para posterior determinação de elementos químicos presentes em unhas de um grupo de indivíduos residentes na Região Metropolitana de São Paulo – Brasil.

Para atingir este objetivo foi proposto o desenvolvimento das seguintes atividades:

- Ensaios para remoção dos elementos contaminantes exógenos das unhas;
- Determinação das impurezas provenientes dos invólucros para irradiação e de esmaltes de unhas;
- Controle de qualidade de resultados analíticos (exatidão e precisão dos resultados);
- Estudo da homogeneidade da amostra preparada;
- Análise de unhas de um grupo de indivíduos residentes na Região Metropolitana de São Paulo – Brasil.
- Comparação das concentrações de elementos obtidos em amostras de unhas das mãos e dos pés, entre indivíduos de diferentes gêneros, faixa etária, índice de massa corpórea (IMC) e com valores da literatura.

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE AS UNHAS

O termo unha é derivado do latim *úngula*, diminutivo de *unguis* significa lâmina dura semitransparente que superpõe à face dorsal das falanges distais (RIBEIRO *et al*, 1995; MAGALHÃES *et al*, 2003). As unhas são placas de células queratinizadas localizadas na superfície dorsal das falanges terminais dos dedos das mãos e dos pés, produzidas pelo epitélio germinativo onde as células basais epidérmicas produzem o córneo da pele (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; CASHMAN & SLOAN, 2010). A Figura 3.1 mostra um esquema da localização das falanges do pé. A unha tem como função a proteção final dos dedos, facilita movimentos delicados com precisão e ajuda a apreensão de pequenos objetos (RIBEIRO *et al*, 1995; MAGALHÃES *et al*, 2003).

Figura 3.1. Esquema demonstrando a localização das falanges no pé direito¹.

A raiz se localiza na porção proximal da unha, e o epitélio que a cobre consiste nas camadas usuais da epiderme. A camada córnea desse epitélio forma a cutícula da unha e pode ser observada na Figura 3.2 (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004)

¹<http://www.clinicaecirurgiadope.com.br/index.php/fraturas-dos-dedos-do-pe/>

Figura 3.2. Esquema demonstrando a localização da camada córnea na epiderme².

A epiderme é constituída por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, onde se encontram em abundância os queratinócitos. A estrutura e a espessura da epiderme variam com o local estudado, porém são constituídas de cinco camadas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004):

- **Camada basal**, constituída por células prismáticas e basófilas, repousando sobre a membrana basal que separa a epiderme da derme;
- **Camada espinhosa**, formada por células cubóides de núcleo central, citoplasma com curtas expansões que contêm feixes de filamentos de queratina;

²<http://pt.wikipedia.org/wiki/Pele>

- **Camada granulosa** formada com apenas 3 a 5 fileiras de células poligonais achatadas, núcleo central e citoplasma carregado de grânulos basófilos, chamados grânulos de querato-hialina. Esses grânulos contêm uma proteína rica em histidina fosforilada e proteínas contendo cistina.
- **Camada lúcida**, constituída por uma delgada camada de células achatadas, eosinófilas e translúcidas, cujos núcleos e organelas citoplasmáticas foram digeridos e desapareceram, mas o citoplasma é rico em queratina;
- **Camada córnea** tem espessura variável e é constituída por células achatadas, mortas e sem núcleo. O citoplasma dessas células apresenta-se repleto de queratina. A queratina contém, pelo menos, seis polipeptídios diferentes.

A matriz da unha costuma ser dividida em duas zonas: dorsal e intermediária ou proximal e distal. A matriz se compõe de duas ou três camadas de células e a zona de transição dos queratinócitos ativos para a lâmina ungueal morta. À medida que a queratinização se completa, as células são incorporadas à lâmina para se mover com ela (RIBEIRO *et al*, 1995).

A unha é constituída de queratina, que são estruturadas em escamas córneas compactas, fortemente aderidas umas as outras (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). A dureza da unha não vem devido à alta concentração de Ca como muitos achavam, e sim devido a grande quantidade de matriz proteica e uma elevada concentração de enxofre, fato este que explica o cheiro característico de enxofre quando as unhas são lixadas ou queimadas, assim como nos cabelos (CASHMAN & SLOAN, 2010; RIBEIRO *et al*, 1995; SCHEINFELD *et al*, 2007).

A maior parte da unha consiste da lâmina, que fica aderida ao leito ungueal que recobre a falange dos dedos (RIBEIRO *et al.*, 1995), elas crescem deslizando sobre o leito ungueal, estrutura da pele que não participa da formação da unha (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). A lâmina é limitada pelas pregas laterais e proximal, que pode ser observada na Figura 3.3. Margeando a prega proximal está a lúnula, a parte esbranquiçada da unha. (RIBEIRO *et al.*, 1995).

Figura 3.3. Anatomia da unha³.

A transparência da unha e a pequena espessura do epitélio do leito ungueal permitem observar a cor do sangue dos vasos da derme, muito utilizado para observar e avaliar a oxigenação do sangue. Pois há uma rede de artérias oriundas das artérias digitais que irriga todo o leito ungueal e a matriz. É observada em idosos uma lâmina ungueal mais pálida e com menos brilho, fato também observado em pacientes cirróticos e portadores de insuficiência renal grave (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; RIBEIRO *et al.*, 1995; MAGALHÃES *et al.*, 2003).

³<http://www.dxal.net/images-to-show-nail-anatomy-structure/>>

Na unha está presente α -queratina, uma grande família de proteínas que contém α -polipeptídio helicoidal organizado em filamentos. A unha humana é formada por uma queratina forte, diferente da queratina encontrada na pele, pois esta queratina mais dura é formada por uma alta concentração de cistina (YAEMSIRI *et al*, 2010; FARHAN *et al*, 2011). Existem mais de 30 queratinas distintas no epitélio humano (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2000). Pelo menos oito outras queratinas, chamadas queratinas duras, são específicas dos cabelos e das unhas (SLOTNICK & NRIAGU, 2006).

As mudanças mecânicas e físicas das propriedades das unhas e da alteração da água presente nas unhas podem refletir mudanças na estrutura molecular e nas proteínas das unhas. A hidratação da unha pode ser um fator físico importante na mudança da estrutura da queratina (FARHAN *et al*, 2011).

Com relação ao crescimento, as unhas das mãos e dos pés crescem com velocidades diferentes, cerca de 3,47 mm/ mês para as unhas das mãos e de 1,62 mm/ mês as unhas dos pés (YAEMSIRI *et al*, 2010).

3.1. Análise elementar das unhas

As determinações de concentrações de elementos traço em unhas de um grupo de indivíduos de uma população é de grande importância para que seja possível uma comparação entre os níveis de elementos encontrados para indivíduos do grupo com aquela sob investigação e para estudos epidemiológicos (GARLAND *et al*, 1993). Estas determinações poderão servir como uma base de limites legais para aplicações na avaliação da exposição a determinados elementos tóxicos visando proteção à saúde pública e ocupacional assim como para estabelecimento de uma base científica para as pesquisas da área biomédica relacionadas às doenças ocasionadas pela deficiência ou excesso de certos elementos químicos no organismo.

Há um grande risco para a saúde quando ocorrem exposições a contaminantes, seja ocupacional, ambiental ou por uma exposição acidental a materiais tóxicos. O uso de monitores biológicos (biomonitores) vem crescendo, principalmente para obter valores para grupo de indivíduos não expostos e usar na comparação com os do grupo afetado pela exposição ocupacional, especialmente para elementos tóxicos (KUCERA *et al.*, 2004).

As unhas têm uma menor probabilidade de contaminação do que o cabelo por ter uma área de superfície de contato menor, as unhas dos pés especialmente têm uma menor contaminação ambiental porque as pessoas utilizam sapatos na maior parte do tempo nas grandes cidades (XUN *et al.*, 2011).

Na **área ocupacional**, as análises de unhas têm sido realizadas para avaliar a exposição humana de elementos tóxicos. KUCERA *et al.*, (2004) analisaram as unhas pelo método de Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (INAA), cabelos e outros fluídos biológicos de trabalhadores da indústria de manufatura e seus resultados indicaram uma alta concentração de Cr nas unhas destes trabalhadores, em relação ao grupo controle.

MENEZES *et al.*, (2004) caracterizaram o ambiente de trabalho de uma indústria de galvanização, em Minas Gerais – Brasil, analisando o material particulado atmosférico e o biomonitoramento utilizando cabelos e unhas de trabalhadores expostos. Estes pesquisadores verificaram na análise do material particulado coletados em filtros de ar, um alto nível de poluentes que os trabalhadores estão expostos, no ambiente de trabalho assim como nos locais da mesa da recepção, onde o nível deveria ser baixo. Na análise dos cabelos e das unhas dos trabalhadores foi identificada a presença de elementos não presentes nas amostras do grupo controle. Na análise qualitativa do filtro de ar, cabelos e unhas foram detectados os elementos Al, Au, Cl, Cr, Cu, Fe, Mn, Na e Zn em todas as matrizes analisadas. Estes autores afirmam que os resultados obtidos evidenciaram a eficiência dos cabelos e das unhas como biomonitor para indicação da contaminação endógena.

Outro trabalho sobre a análise de unhas para medir a exposição ocupacional ao Ni é o de PETERS *et al*, (1991), estes pesquisadores verificaram que há mais altas concentrações deste elemento em unhas das mãos do grupo de indivíduos expostos que as normalmente encontradas neste tecido.

A exposição ocupacional ao elemento tóxico tem sido avaliada nos dentistas no exercício de sua profissão, por meio da análise de unhas e cabelos, ZOLFAGHARI *et al*, (2007) verificaram por meio de análise destes tecidos que o uso de máscaras e luvas podem reduzir significativamente a contaminação pelo Hg.

Entre trabalhos sobre a aplicação das análises de unhas na **área ambiental**, tem se o trabalho de BU-OLAYAN *et al*, (1996) que verificaram uma correlação positiva entre os teores de Pb encontrado nas unhas e a água contaminada consumida pela população da cidade de Kuwait, Kuwait.

GAULT *et al*, (2008) avaliaram a exposição de indivíduos da Província de Kandal – Cambódia ao As por meio da análise de unhas e cabelos e verificaram concentrações elevadas deste elemento nas amostras da população, sugerindo a ocorrência de uma exposição deletéria ao As.

Para uso das análises das unhas na **área da nutrição**, MORRIS *et al*, (2006) determinaram a concentração de Se em um grupo de indivíduos (cerca de 3575 indivíduos) de Missouri e Região Metropolitana e concluíram que a concentração de selênio refletiu a ingestão e o uso de suplemento de Se, entretanto concentrações diminuídas foram encontradas nas unhas de indivíduos fumantes. Também não foram verificadas diferenças entre as concentrações de Se quando comparadas em relação aos parâmetros idade ou índice de massa corpórea (IMC).

ZUKOWSKA *et al*, (2009) determinaram Se nas unhas de populações de dois distritos da Polônia que tinham hábitos alimentares diferentes pelo método de INAA. Eles não encontraram diferenças significativas entre os resultados obtidos para as populações dos dois distritos, porém as concentrações de Se

encontradas foram mais baixas em relação às de outros países como Canadá e Estados Unidos. Neste trabalho foi concluído que os dados apresentados não sugerem que a população polonesa está arriscada de imediato perigo pelo status de nível baixo de Se. Os autores concluem que este baixo nível de Se pode despertar atenção e consideração se comparado com valor de intervenção de Se como estabelecido pelos pesquisadores dos Estados Unidos e a suplementação de Se pode ser recomendada.

XUN *et al*, (2011) determinaram níveis de Se nas unhas dos pés de americanos adultos caucasianos e africanos dos Estados Unidos e concluíram que os parâmetros gênero, etnia, tabagismo e consumo de álcool podem afetar nos níveis de selênio nas unhas dos pés.

PRIYA & GEETHA, (2011) que determinaram elementos traço e tóxicos nos cabelos e unhas de crianças com autismo encontraram níveis significativamente altos de Cu, porém reduzidas concentrações de Zn, Mg, e Se se comparadas com os dados do grupo controle.

Entre trabalho sobre aplicação das análises de unhas na **área da saúde**, tem-se o de LEONARD & MORRIS, (1972) que determinaram níveis de Na, Ca e Mg em unhas de crianças com fibrose cística (FC). No Brasil, AGUIAR, (2001) analisou unhas de crianças portadoras da doença FC pelo método de NAA e concluiu que há a possibilidade de diagnosticar a FC pela análise de Na e Cl nas unhas das mãos.

RIBEIRO *et al*, (1995) apresentaram uma revisão sobre anatomia e fisiologia da unha e abordaram sobre as alterações de cores nas unhas conforme a doença. Estes pesquisadores concluíram que uma única mudança da cor ungueal pode ser reveladora de síndromes complexas até tumores malignos.

Um estudo sobre o pré-diagnóstico do nível de selênio em unhas dos pés para avaliar o risco de câncer de próstata avançado foi realizado por YOSHIZAWA *et al*, (1998). Os achados deste estudo fornecem apoio adicional

para a hipótese de que maior ingestão de Se pode reduzir o risco de câncer de próstata avançado.

RAJPATHAK *et al*, (2005) estudando a relação entre a concentração de Se das unhas e a doença cardiovascular em homens com diabetes verificaram pelos resultados que os níveis de Se nas unhas dos pés são mais baixos nos indivíduos diabéticos com ou sem doença cardiovascular do que aqueles obtidos para o grupo controle. Porém os seus resultados não permitiram distinguir o papel do Se em diabéticos e as doenças cardiovasculares e segundo estes pesquisadores isto se deve ao problema de lavagens e contaminação das amostras assim como do número pequeno de determinações nas amostras analisadas.

VINCETI *et al*, (2007) por meio da determinação de Cd nas unhas dos pés estudaram o risco de câncer de próstata em indivíduos da população da Itália, os resultados obtidos indicaram uma possível relação entre a alta concentração de Cd e o desenvolvimento de câncer de próstata na população estudada.

3.2. Métodos utilizados para análises das unhas e tratamento das amostras

Para análise elementar de unhas, um grande número de métodos analíticos vem sendo desenvolvidos e aplicados. As metodologias aplicadas podem ser divididas em 2 grupos segundo SLOTNICK & NRIAGU, (2006): **1)** As que envolvem digestão da amostra e **2)** As metodologias puramente instrumentais como a análise por ativação com nêutrons (NAA).

Os métodos que fazem parte do primeiro grupo são numerosos, como por exemplo, a espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (RODUSHKIN & AXELSSON, 2000; SLOTNICK *et al*, 2005), emissão de raios-X induzidos por prótons (PIXE) (GAULT *et al*, 2008), espectrometria por absorção atômica (BU-OLAYAN *et al*, 1996; VINCETI *et al*,

2007; PRIYA & GEETHA, 2011), fotometria de chama (LEONARD & MORRIS, 1972).

A análise por ativação com nêutrons por sua vez, é muito utilizada (CHENG *et al*, 1994; CHAUDHARY *et al*, 1995; RAJPATHAK *et al*, 2005; MORRIS *et al*, 2006; ZUKOWSKA *et al*, 2009; XUN *et al*, 2011), pois é um método muito poderoso para análises quantitativas e qualitativas de um grande número de elementos químicos em diferentes amostras (BIZIUK *et al*, 2010).

O fator limitante das análises de unhas independente do método de análise utilizado é atribuído à limpeza das amostras, pois há dificuldade em retirar elementos exógenos sem retirar os elementos de interesse da matriz da unha.

O Cl e o Na estão entre os elementos mais comumente encontrados nas atividades normais de um indivíduo. A própria transpiração é rica desses minerais, fato característico para a doença Fibrose Cística, uma doença metabólica que afeta as glândulas secretoras de muco, por isso o suor é usado como material de análise para confirmação do diagnóstico. Porém estudos recentes utilizam amostras de unhas para a determinação desses elementos. Podemos contar ainda como contaminantes os sabões utilizados para a lavagem das mãos, os esmaltes de unhas e outros tipos de cosméticos (STRASINGER, 2000; AGUIAR, 2001; FAVARO *et al*, 2005). No entanto o Cl e o Na, assim como muitos outros elementos químicos são solúveis em água, por isso a importância da lavagem das amostras (AGUIAR, 2001).

Há vários relatos na literatura que as unhas dos pés são melhores para a análise devido os pés ficarem mais protegidos de contaminantes do que as unhas das mãos, mas isso depende dos indivíduos doadores das amostras e seus costumes e higiene.

A Agência Internacional de Energia Atômica (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1978) indica a utilização de lavagens consecutivas de 10 minutos, sob agitação mecânica, utilizando como solvente a acetona e a água

deionizada para a lavagem de amostras de cabelos, mas não há um protocolo estabelecido para a lavagem de amostras de unhas. Para a lavagem de unhas há vários trabalhos publicados: BANK *et al*, (1981) preconizam o uso de solventes orgânicos de grau analítico nas lavagens como o Triton X100. BU-OLAYAN *et al*, (1996) utilizaram peróxido de hidrogênio + metanol + acetona; GAULT *et al*, (2008) utilizaram Triton X100 1 % + água deionizada; AGUIAR & SAIKI, (2001) Triton X100 2 % + água destilada + acetona e BROCKMAN *et al*, (2009) HNO₃ 10 % (v/v) + água destilada.

3.3. Considerações sobre alguns elementos biologicamente essenciais em humanos

Neste item serão apresentados de maneira resumida alguns elementos químicos considerados biologicamente essenciais em humanos para consolidar a idéia da importância de analisá-los nos sistemas biológicos.

O cálcio é um elemento presente em maior quantidade no organismo humano, cerca de 1,2 kg, e sua maior concentração está nos ossos. É o nutriente essencial para a mineralização de ossos e dentes onde se localiza em 99 % e também para a regulação de eventos intracelulares em diversos tecidos. O esqueleto é o reservatório de Ca no organismo. Os problemas hormonais, renais e má absorção podem causar a desmineralização óssea quando não se tem uma dieta alimentar suficiente de Ca. Pesquisas recentes relatam que há uma associação inversa entre ingestão de Ca e peso corporal (BATES & PRENTICE, 1996; MARTINI, 2008).

O cobalto é o elemento chave da cobalamina, a conhecida vitamina B12, o íon Co pode ser ligado variavelmente a grupamentos metila, 5`desoxiadenosil, hidróxi ou ciano, dando origem às diferentes formas da vitamina. A vitamina B12 é sintetizada exclusivamente por microrganismos como as bactérias. No organismo humano estima-se que há cerca de 2,5 a 3,9 mg de cobalamina. A cobalamina participa como co-fator para duas enzimas: a metilmalonil-CoA redutase e a metionina sintetase, enzimas que estão envolvidas no metabolismo de lipídeos e

carboidratos. A ingestão diminuída raramente causa deficiência com exceção dos vegetarianos restritos (quando não há ingestão de alimentos de origem animal) e os idosos, que desenvolvem deficiência funcional da vitamina B12 e não está relacionado com deficiência alimentar, este caso ainda não é bem entendido. A falta deste elemento vital e como consequência a falta da vitamina B12 pode causar anemia perniciosa, insuficiência pancreática, gastrite atrófica, crescimento excessivo de bactérias no intestino delgado ou doença ileal (VANNUCCHI & MONTEIRO, 2010).

O cromo foi considerado como elemento essencial para a tolerância normal à glicose em ratos, entretanto este problema nos humanos apresenta difícil explicação principalmente quanto a sua etiologia, o que vem estimulando pesquisas sobre o papel deste elemento. Há grandes dificuldades para a elucidação do papel deste elemento na nutrição e no metabolismo (CASEY & HAMBIDGE, 1980). A deficiência do Cr pode estar associada com a glicose e o metabolismo do lipídio. A toxicidade do Cr não tem sido reportada em humanos bem como em suplementações deste elemento em longo prazo (BATES & PRENTICE, 1996).

O ferro é considerado um elemento essencial desde 1860, ele é fundamental para todas as células vivas, participando de numerosas vias metabólicas. No organismo humano contém cerca de 3 a 5 g de Fe, aproximadamente 2000 mg como hemoglobina e 8 mg como enzimas. O Fe da dieta é encontrado principalmente como heme na hemoglobina e mioglobina. Seu balanço é rigorosamente regulado para manter sua homeostase, portanto a sua quantidade absorvida é controlada para repor somente as perdas diárias, de modo que tanto a deficiência como o excesso podem ser prejudiciais ao organismo (BATES & PRENTICE, 1996; ANDRADE *et al*, 2005; FISBERG *et al*, 2009).

O potássio juntamente com o sódio, é importante na manutenção do equilíbrio eletrolítico celular. Uma deficiência de K decorrente de dieta insuficiente é pouco provável, já que se encontram alimentos que contenham este elemento com abundância, mas algumas condições clínicas como pessoas que fazem uso

de diuréticos, podem ter uma perda excessiva de K, podendo levar a arritmias cardíacas, fraqueza muscular e intolerância à glicose. A deficiência de Na também é rara devido a sua abundância em alimentos, mas pode ocorrer a deficiência pelo mesmo motivo da deficiência de K quando se faz uso de diuréticos, em atletas que praticam exercícios físicos extenuantes ou em pessoas que trabalham em ambientes muito quentes. As manifestações principais decorrentes do K são fadiga, diarreia, anorexia e hipotensão (BATES & PRENTICE, 1996; BAZANELLI & CUPPARI, 2009; CUPPARI & BAZANELLI, 2010).

O selênio faz parte do sítio ativo da enzima glutathione peroxidase. Existem duas formas do composto de Se na natureza: a orgânica e a inorgânica. Os vegetais absorvem o Se em sua forma inorgânica e transformam na orgânica, essas formas são encontradas principalmente em grãos, legumes e leguminosas, mas também pode ser encontrada em produtos de origem animal. Como a maior parte do Se é encontrado nos vegetais devido à absorção do Se proveniente do solo, sua concentração na dieta depende diretamente do solo onde a planta foi cultivada, o que resulta na grande variação de teores de Se nas dietas das populações distintas. O Se tem função antioxidante, participação no metabolismo da tireóide, manutenção do sistema imune e redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis (câncer, diabetes e doenças cardiovasculares). A deficiência de Se em humanos pode levar a doença de Keshan (cardiopatia) e a Kashin-Beck (degeneração necrótica dos condrócitos, osteoartrite). A avaliação do estado nutricional do Se compreende a análise de sua concentração em vários tecidos como as unhas, cabelos, sangue e urina. Não há parâmetros de referência para a concentração de Se a nível mundial devido a variações consideráveis no *status* (BATES & PRENTICE, 1996; SCHEINFELD *et al*, 2007; COMINETTI & COZZOLINO, 2009).

O zinco participa no metabolismo de mais de 200 enzimas e proteínas, na mobilização hepática da vitamina A, atua no crescimento e na maturação sexual, e é um elemento antioxidante. O Zn é armazenado principalmente no fígado e excretado pela via urinária. A deficiência de Zn é associada a perda da apetite, perda do paladar, alterações da pele, má cicatrização de feridas e incapacidade

de crescimento. A deficiência aguda de Zn leva ao nanismo, hipogonadismo e acrodermatite. A sua toxicidade pode causar náuseas, vômitos, cefaleia e deficiência de cobre (BATES & PRENTICE, 1996, KOURY & DONANGELO, 2003; ANDRADE *et al*, 2005).

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS (NAA)

4.1. Equação fundamental da análise por ativação com nêutrons

Sendo a análise por ativação com nêutrons (NAA) a metodologia utilizada nesta pesquisa, será apresentado, a seguir, de maneira resumida, o fundamento teórico desta técnica.

A NAA se baseia na medição da radioatividade induzida nos elementos da amostra pela sua irradiação com fluxo de nêutrons de um reator nuclear. Neste processo de irradiação os isótopos estáveis são transformados em isótopos radioativos ou radionuclídeos artificiais.

Na irradiação, quando um nêutron interage com um núcleo alvo por meio de uma colisão não elástica, forma-se um núcleo composto num estado excitado. A energia de excitação do núcleo composto é devida à energia de ligação do nêutron com o núcleo e à energia cinética do nêutron térmico. O núcleo composto, quase que instantaneamente, sofre des-excitação por meio da emissão de raios gama "pronto" característicos. O tempo de vida do núcleo composto é da ordem de 10^{-16} a 10^{-14} s. Em muitos casos, esta nova configuração produz um núcleo radioativo, que também sofre des-excitação por meio da emissão de uma partícula e de um ou mais raios gama de decaimento característicos, mas a uma razão mais lenta, de acordo com a meia-vida do nuclídeo radioativo. Este processo de interação para formação de um nuclídeo radioativo pode ser representado pelo esquema da reação nuclear apresentado na Figura 4.1. Na Figura 4.2 está o esquema da sequência de eventos da reação nuclear.

Figura 4.1. Esquema da reação nuclear.

Figura 4.2. Esquema da sequência de eventos envolvendo a reação nuclear do tipo (n,γ) modificado (IAEA, 1990).

A medição da radiação emitida por ${}^{A+1}_z\text{X}$ permite a análise qualitativa e quantitativa do elemento que deu origem a este radioisótopo. Como cada radionuclídeo decai com uma determinada meia vida e como a maioria deles emitem um ou mais raios gama, a identificação do radioisótopo é feita pela meia vida e energia dos raios gama.

A taxa de contagens (T), devido a atividade induzida a um elemento após certo tempo de irradiação é dada por (DE SOETE *et al.*, 1972):

$$T = \{ \epsilon \phi \sigma N m f [1 - e^{-0,693t_i/t_{1/2}}] \} / \{M\} \quad (4.1)$$

onde:

- T = taxas de contagens;
- ϵ = eficiência do detector;
- ϕ = fluxo de nêutrons, em $n \text{ cm}^{-2}\text{s}^{-1}$;
- σ = secção de choque;
- N = constante de Avogadro;
- m = massa do elemento;
- f = abundância isotópica;
- $t_{1/2}$ = meia vida;
- t_i = tempo de irradiação;
- M = massa atômica.

A determinação das concentrações dos elementos pode ser feita pelo método comparativo, e no caso um padrão do elemento de massa conhecida é irradiado e medido nas mesmas condições da amostra.

Escrevendo a relação (4.1), para amostra e padrão, que foram irradiados e medidos na mesma geometria para tempo de decaimento $t = 0$, e dividindo uma pela outra, tem-se:

$$T_{a0} / T_{p0} = m_a / m_p \quad (4.2)$$

Onde:

- T_{a0} é a taxa de contagem da amostra para tempo de decaimento $t = 0$;
- T_{p0} é a taxa de contagem do padrão para tempo de decaimento $t = 0$;
- m_a é a massa do elemento na amostra;
- m_p é a massa elemento no padrão.

Pela lei do decaimento tem-se (FRIEDLANDER *et al*, 1981):

$$T = T_0 \cdot e^{-0,693 \cdot t/t_{1/2}} \quad (4.3)$$

Na relação (4.3) T e T_0 são as taxas de contagens para tempos de decaimento t e $t=0$, respectivamente. Escrevendo a relação (4.3) para amostra e padrão respectivamente tem-se:

$$T_a = T_{a0} \cdot e^{-0,693 \cdot (t_{da}/t_{1/2})} \quad (4.4)$$

$$T_p = T_{p0} \cdot e^{-0,693 \cdot (t_{dp}/t_{1/2})} \quad (4.5)$$

Onde os índices a e p indicam amostra e padrão respectivamente e td = tempo de decaimento.

Substituindo (4.4) e (4.5) em (4.2) tem-se:

$$m_a = [m_p \cdot T_a \cdot e^{-0,693(t_{dp})/t_{1/2}}] / [T_p \cdot e^{-0,693(t_{da})/t_{1/2}}] \quad (4.6)$$

Sendo a concentração do elemento na amostra $C_a = m_a/M_a$, tem-se:

$$C_a = [m_p \cdot T_a \cdot e^{-0,693(t_{dp})/t_{1/2}}] / [M_a T_p \cdot e^{-0,693(t_{da})/t_{1/2}}] \quad (4.7)$$

ou

$$C_a = [m_p \cdot T_a \cdot e^{0,693(t_{da} - t_{dp})/t_{1/2}}] / [M_a T_p] \quad (4.8)$$

Onde:

- T_a e T_p são respectivamente os valores das taxas de contagens da amostra e padrão;
- t_{da} e t_{dp} , tempos de decaimento da amostra e do padrão respectivamente;
- M_a = massa total de amostra;
- m_p = massa do elemento no padrão.

A relação (4.8) é utilizada no cálculo da concentração do elemento numa amostra pelo método comparativo.

4.2. Vantagens e desvantagens do método de análise por ativação com nêutrons

As vantagens do método de NAA instrumental para a determinação de elementos químicos são: alta precisão e exatidão dos resultados, possibilidade de determinação de elementos em uma ampla faixa de concentração, seu caráter multielementar com a possibilidade de análise quantitativa simultânea sem a necessidade de separação química; não há contaminação pela manipulação das amostras após a irradiação, a não ser por contaminação radioativa; a forma química dos elementos presentes na amostra não afeta o resultado. Além disso, os componentes da maioria das matrizes biológicas como o H, C, O e N, são pouco ativados de modo a não prejudicar a sensibilidade para a medição de outros elementos traço. Este método permite a análise de amostras em quantidades pequenas (miligramas) ou em grandes quantidades (quilogramas) (BIZIUK *et al*, 2010; GREENBERG *et al*, 2011).

Como desvantagens ou limitações do método instrumental de NAA pode-se citar a impossibilidade de determinar elementos como o H, C, O, Pb e Li; tempo requerido para a análise, isto é, cerca de 2 a 4 semanas são necessárias para a

determinação de radionuclídeos que apresentam meias vidas longas. O método também não fornece informações sobre a forma química do elemento e para aplicação desta técnica requer um reator nuclear (BIZIUK *et al*, 2010; GREENBERG *et al*, 2011).

5. PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo são apresentados, na primeira parte, os procedimentos dos ensaios preliminares realizados para avaliar a qualidade dos dados analíticos bem como para a definição das condições para análise das unhas. Na segunda parte são apresentados os procedimentos da coleta das amostras de unhas, seu tratamento seguido de procedimento de NAA adotado neste trabalho.

5.1. Procedimento dos ensaios preliminares

5.1.1. Análise dos materiais de referência certificados

Para verificar precisão e a exatidão dos resultados foram analisados os materiais de referência NIST 1577b *Bovine Liver* e NIST 1566b *Oyster Tissue* ambas procedentes do National Institute of Standards & Technology (NIST), USA.

Para expressar os resultados destas análises na base seca foram feitas as determinações das percentagens de perda de umidade dos materiais de referencia certificados conforme descrito nos seus certificados. Foram pesados cerca de 250 mg de cada material de referência em um pesa-filtro limpo e levados para a secagem em uma estufa de esterilização Universal, modelo 219, da marca Fabbe-Primar, a uma temperatura de 85°C, por um período de 24 horas.

Os valores obtidos de perda de umidade na secagem, para o material de referência NIST 1577b *Bovine Liver*, foi de 4,71 % e, para o material de referência NIST 1566b *Oyster Tissue*, 3,20 %. Esses valores de percentagem de perda de umidade foram utilizados para calcular as concentrações dos elementos nos materiais na base seca.

As análises destes materiais de referência foram realizadas conforme o procedimento adotado para análise das unhas, que está descrito no item. 5.3.2.

5.1.2. Análise das folhas de polietileno utilizados na irradiação das amostras

Foi feita a análise elementar do plástico previamente limpo com solução de ácido nítrico diluído e água purificada MILLIQ para identificar as impurezas presentes neste material e que pudessem apresentar interferências na análise de unha, fazendo parte da amostra. Este ensaio foi realizado uma vez que as amostras são irradiadas em invólucros de polietileno os quais não são removidos para as contagens.

Uma amostra de plástico de dimensões 10 cm x 10 cm e pesando 0,33305 g, foi irradiada para a determinação de suas impurezas. O procedimento desta análise foi realizado nas mesmas condições experimentais daquelas das análises das unhas descritas no item 5.3.2.

5.1.3. Análise qualitativa de esmaltes para unhas

Como algumas amostras de unhas coletadas apresentavam resquícios de esmaltes foi feita análise elementar de esmaltes para identificar os seus elementos químicos que pudessem ser adsorvidos na unha. Foram analisadas qualitativamente amostras de esmaltes pelo método de NAA usando um tempo de irradiação de 16 horas.

Para isso foram selecionados três esmaltes de marcas e colorações distintas, a saber; a amostra codificada de AL1, é de um esmalte antialérgico de coloração pérola cintilante; a amostra RQ1, é um esmalte de marca reconhecida no mercado com um valor comercial relativamente alto, de coloração vermelha e a amostra EG1, é um esmalte de marca de pouco valor comercial, de coloração laranja. Na Figura 5.1 está a foto dos esmaltes utilizados. Para estas análises, as

amostras de esmaltes foram colocadas em invólucros de plástico previamente limpos, onde permaneceram por 24 horas à temperatura ambiente para a secagem. Após a secagem os invólucros contendo as amostras foram lacrados e submetidos à irradiação no reator nuclear de pesquisa para NAA.

Figura 5.1. Foto dos esmaltes de unha utilizados.

5.1.4. Verificação da homogeneidade da amostra de unha preparada para análise

Para verificar a homogeneidade das amostras de unhas preparadas foram realizadas análises elementares em triplicata de uma amostra de unha. Para isso alíquotas de amostra de unha foram irradiadas no reator nuclear por 16 horas para posterior análise pela espectrometria de raios gama.

5.1.5. Ensaios preliminares para lavagem das unhas

A limpeza das amostras de unhas para eliminar impurezas de elementos de origem exógena foi avaliada por meio da comparação entre as concentrações de elementos obtidas nas unhas submetidas a lavagens usando distintos reagentes. Foram realizadas comparações entre os resultados nas unhas lavadas usando as seguintes soluções:

- A)** Unhas lavadas com acetona + Triton X100 + água purificada com as unhas sem lavagem;
- B)** Unhas lavadas com acetona + Triton X100 + água purificada, com acetona + Triton X100 + HNO₃ 10% + água purificada e com a sem lavagem;
- C)** Unhas lavadas com acetona + Triton X100 + água purificada, com acetona + HNO₃ 10% + água purificada e com a sem lavagem.

As unhas obtidas após os tratamentos de lavagem e as sem lavagem foram analisadas por NAA.

5.2. Coleta e tratamento das amostras de unhas

5.2.1. Casuística

As amostras de unhas foram obtidas de indivíduos de ambos os sexos com faixa etária de 18 a 71 anos e média das idades de 39 ± 16 anos, residentes na Região Metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. Foram coletadas 18 amostras das unhas das mãos e 16 amostras das unhas dos pés. Do grupo populacional estudado 14 amostras de unhas foram de indivíduos do sexo feminino e 10 do sexo masculino. A maioria dos doadores forneceram unhas das mãos e dos pés.

No caso foram obtidas unhas das mãos e dos pés de indivíduos que se consideravam saudáveis. Os parâmetros de exclusão foram: ocorrência de

deformidade e de doenças aparentes nas unhas e dedos, indivíduos menores de 18 anos, portadores de doenças sistêmicas ou metabólicas e doação de quantidade de amostra insuficiente para análise. De um total de 32 amostras de unhas coletadas, 8 amostras foram excluídas, principalmente por conter quantidade insuficiente de amostra e de portadores de doenças como síndrome nefrótica e autismo.

5.2.2. Procedimento de coleta

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo sob protocolo de pesquisa nº 2094.

Aos doadores foi informado sobre o objetivo da pesquisa e foi obtido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (vide Anexo A).

As aparas de unhas das mãos e dos pés foram coletadas pelos próprios doadores e no caso foram cortadas com o auxílio de um par de tesouras ou cortadores de unhas. Foram coletadas as unhas de todos os dedos e guardadas em invólucros de plástico (saquinhos de plástico zip) os quais foram codificados com as letras M# (para as unhas das mãos) e P# (para as unhas dos pés), conforme apresentado na Figura 5.2.

Figura 5.2. Amostras de unhas embaladas nos saquinhos zip e codificadas.

O período de coleta das unhas para alguns doadores foi mais de um ano devido à disponibilidade de pequena quantidade de amostras em cada coleta, principalmente no caso das unhas dos pés.

Na ocasião da coleta, os doadores preencheram um questionário/formulário sobre suas características, como: endereço, idade, sexo, profissão, hábitos alimentares, atividades físicas, tabagismo, uso de medicamentos ou suplementos alimentares e se tiveram alguma alteração nas unhas de 6 meses até a data da coleta. No Anexo B está o modelo do questionário respondido.

Na Tabela 5.1 está o resumo das amostras de unhas obtidas para o desenvolvimento do presente trabalho.

Tabela 5.1. Código das amostras de aparas de unhas e dados.

Código das amostras de unhas		Dados dos doadores	
<i>Mãos</i>	<i>Pés</i>	<i>Gênero</i>	<i>Idade (anos)</i>
M1	P1	Feminino	47
M2	-	Feminino	67
M3	P3	Feminino	23
M4	P4	Masculino	39
M5	P5	Feminino	71
-	P6	Feminino	21
M8	P8	Masculino	40
M9	P9	Feminino	61
-	P12	Masculino	53
M13	-	Masculino	53
M15	-	Feminino	48
-	P16	Masculino	29
M17	-	Feminino	54
M19	-	Feminino	24
M21	P21	Masculino	22
M22	P22	Feminino	25
-	P23	Feminino	25
M24	-	Masculino	24
M25	P25	Masculino	38
-	P26	Masculino	25
M27	-	Feminino	40
M29	-	Masculino	19
-	P30	Feminino	37
M32	P32	Feminino	52

(-) amostra não coletada ou não analisada.

5.2.3. Procedimento adotado para o tratamento das amostras de unhas

As amostras foram inicialmente imersas em uma solução de álcool etílico 70% sem agitação por um período de 10 minutos a fim de reduzir riscos por contaminantes microbiológicos, como fungos e bactérias, durante a manipulação das amostras para a obtenção em fragmentos. Na Figura 5.3 estão as fotos das unhas imersas na solução de álcool etílico 70 % (Foto A) e da separação por filtração das amostras da solução de álcool (Foto B). A seguir, as aparas de unhas foram cortadas em pequenos fragmentos com o auxílio de um par de tesouras com recobrimento de titânio para evitar maiores contaminações.

Figura 5.3. Foto (A) mostra as unhas imersas na solução de álcool etílico 70 %. Foto (B) mostra a etapa da separação das unhas da solução por filtração em papel de filtro.

Para as lavagens dos fragmentos das unhas são utilizados frascos plástico com capacidade de 15 mL apresentados na Figura 5.4 e o procedimento de lavagem proposto pelo presente trabalho, consiste de 3 lavagens consecutivas com acetona p.a. da Merck, com agitação durante 1 minuto; 3 lavagens consecutivas com Triton X100 2,0 % da Merck, com agitação durante 1 minuto; seguida de 2 lavagens com água purificada MILLIQ, com agitação por 20 segundos. Estas agitações foram realizadas utilizando um agitador da marca Baird & Talock Limited, com frequência de agitação de 30 rpm, apresentado na Figura 5.5. A eficiência deste procedimento foi avaliada por meio da comparação de análises de amostra lavada e não lavada das unhas das mãos e dos pés.

Figura 5.4. Foto ilustrando o frasco de plástico utilizado para as lavagens dos fragmentos.

Figura 5.5. Foto do agitador utilizado.

A separação das unhas da solução de lavagem foi feita pelo processo de filtração, usando papel filtro Waltman n°41, lavando-se o filtrado com água MILLIQ, 2 vezes e por último duas lavagens com acetona p.a. O papel filtro com as unhas foi colocado em placas de Petri onde permaneceu por um período de 24 a 48 horas para a sua secagem em temperatura ambiente.

Após a secagem, cada uma das amostras foi pesada em invólucros de polietileno confeccionados com o auxílio de uma seladora elétrica e folhas de celofane apresentados na Figura 5.6. Estes invólucros foram confeccionados com folhas de polietileno incolor, tratados com ácido nítrico diluído e água purificada, seguido de secagem em temperatura ambiente.

Figura 5.6. Foto (A) mostra a balança utilizada na pesagem das amostras. Foto (B) mostra as amostras pesadas em invólucros de polietileno.

5.3. Procedimento para análise elementar das amostras de unhas

5.3.1. Preparação dos padrões sintéticos dos elementos

Para a preparação destes padrões sintéticos foram utilizadas soluções padrão certificadas de elementos adquiridas da *Spex CertiPrep* EUA. A partir destas soluções padrão estoques, foram preparadas soluções mais diluídas contendo um ou mais elementos. Pipetaram-se 50 μL destas soluções sobre tiras de dimensões 1,5 cm X 3,5 cm de papel de filtro Whatman nº 40, as quais foram colocadas no dessecador para secagem em temperatura ambiente. O pipetador utilizado para a tomada da alíquota foi previamente verificado quanto a sua calibração. Posteriormente estas tiras foram dobradas e colocadas em invólucros de polietileno.

Foram utilizados padrões sintéticos codificados de F9, L9, BR9, N9 e S9. Na Tabela 5.2, são apresentadas estas soluções padrões com suas respectivas concentrações e massas dos elementos.

Tabela 5.2. Código dos padrões de elementos sintéticos, concentrações e massas dos elementos.

Código dos Padrões	Elementos presente no padrão	Concentração do elemento ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Massa do elemento
F9	Ca	10012	500,6 μg
	Rb	199,80	9,99 μg
	Fe	7206,48	360,32 μg
	Zn	720,792	36,03 μg
L9	K	10010	500,5 μg
	La	11,976	598,8 ng
	Cs	12,0	600 ng
	Sc	1,60	80 ng
	Co	3,006	150,3 ng
	Cd	199,88	9994 ng
S9	As	30,0	1500 ng
	Se	160,064	8003,2 ng
	Cu	2002,8	100,14 ng
	Cr	40,20	2010 ng
	Mo	60,18	3009 ng
	Sb	12,012	600,6 ng
BR9	Br	99,70	4985 ng
N9	Na	4004	200,2 μg

5.3.2. Procedimento para a Análise por Ativação com Nêutrons

Após a secagem das amostras de unhas em temperatura ambiente, foi realizada a pesagem de aproximadamente 170 mg para cada amostra em invólucro de plástico previamente desmineralizado. Cada invólucro contendo a amostra ou padrão foi embrulhado com a folha de alumínio individualmente, e depois agrupados e novamente envolvidos em folha de alumínio. Este conjunto de amostras e padrões foram colocados em um dispositivo de alumínio para irradiação chamado de “coelho”. A irradiação foi realizada no reator nuclear IEA-R1 por 16 horas sob um fluxo de nêutrons térmicos de $4,0 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a $5,0 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Na Figura 5.7 está apresentado o esquema da sequência para o preparo das amostras para irradiação.

Figura 5.7. Esquema de preparo das amostras para irradiação.

Após cerca de 4 dias de decaimento, as amostras e os padrões foram fixados individualmente em suportes de aço inoxidável, chamados de “panelinhas”, com o auxílio de pinças e usando fita gomada (Figura 5.8). As medições das atividades dos raios gama dos radioisótopos formados foram feitas utilizando um detector de germânio hiperpuro da marca EG&G ORTEC ligado a um espectrômetro de raios gama e eletrônica associada (Figura 5.9). Antes de iniciar as medições o funcionamento do sistema de contagem foi verificado fazendo uma contagem de uma fonte de $^{57}\text{Co} + ^{60}\text{Co}$. A resolução do sistema utilizado foi de 0,81 keV para o pico de 121,97 keV do ^{57}Co e de 1,97 keV para o pico de 1332,49 keV do ^{60}Co . A análise dos espectros gama foi efetuada usando o programa de computação VISPECT2, que fornece as energias dos raios gama em keV dos radioisótopos formados, as taxas de contagens (cps) e os seus desvios. Os radioisótopos foram identificados pela meia vida e energias dos raios gama.

Figura 5.8. Foto da amostra fixada em suporte de aço inoxidável com fita gomada e as pinças utilizadas.

Figura 5.9. Fotos do detector de germânio hiperpuro e do sistema para espectrometria de raios gamas.

Foram feitas medições das radiações gama após três diferentes tempos de decaimento de cerca de 5, 12 e 19 dias. Os elementos determinados na primeira medição foram Ca, Na, La, K, As e Br; e na segunda Sc, Cr, Sb, Rb, Fe; e na terceira medição Co, Cs, Se e Zn. São apresentadas na Tabela 5.3, as características nucleares dos radioisótopos (energias dos raios gama e valor de meia vida) utilizados neste trabalho.

Tabela 5.3. Parâmetros nucleares dos radioisótopos utilizados nas análises das unhas. (IAEA, 1990)

Elemento	Radioisótopo	Meia-vida	Energias de raios gama (keV)
As	⁷⁶ As	26,32 horas	559,10
Br	⁸² Br	35,3 horas	776,52
Ca	⁴⁷ Ca	4,54 dias	159,4
Co	⁶⁰ Co	5,27 anos	1173,24
Cr	⁵¹ Cr	27,7 dias	320,08
Cs	¹³⁴ Cs	2,06 anos	795,85
Fe	⁵⁹ Fe	44,5 dias	1099,3
K	⁴² K	12,36 horas	1524,58
La	¹⁴⁰ La	40,27 horas	1596,21
Na	²⁴ Na	14,96 horas	1368,60
Rb	⁸⁶ Rb	18,66 dias	1076,60
Sb	¹²² Sb	2,70 dias	564,24
Sc	⁴⁶ Sc	83,81 dias	889,28
Se	⁷⁵ Se	119,77 dias	264,66
Zn	⁶⁵ Zn	243,9 dias	1115,55

Os cálculos para a obtenção das concentrações dos elementos nas amostras foram feitos pelo método comparativo, utilizando a relação $C_a = [m_p \cdot T_a \cdot e^{0,693(t_{da} - t_{dp})/t_{1/2}}] / [M_a \cdot T_p]$, conforme já descrito no Capítulo 4, item 4.1.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Análises de materiais de referência certificados

Nas Tabelas 6.1 e 6.2 estão apresentados as concentrações obtidas nas análises de material de referência certificados NIST 1577b *Bovine Liver* e NIST 1566b *Oyster Tissue* respectivamente, juntamente com os valores do certificado para comparação. Os erros relativos (ER) percentuais das concentrações para os elementos determinados no material *Bovine Liver* foram inferiores a 4,5 % e os desvios padrão relativos (DPR) foram inferiores a 5,3 % (Tabela 6.1). Os ER percentuais obtidos para o material *Oyster Tissue* foram inferiores a 5,1 %, e os DPR foram inferiores a 11,6 % (Tabela 6.2).

A comparação dos resultados obtidos com os valores dos certificados indica uma boa concordância, mostrando que o procedimento de análise por ativação aplicado foi adequado para a determinação de diversos elementos (WOOD, 1999).

Para avaliar a exatidão dos resultados obtidos nas análises de materiais de referência certificados foram calculados os valores de diferença padronizada ou Z-score. Um resultado é considerado aceitável quando o valor de Z-score estiver entre 3 e -3. Os valores de Z-score obtidos foram inferiores a 2 indicando que os resultados obtidos estão dentro da faixa dos valores certificados a um nível de significância de 5 % (BODE, 1996). O valor de Z-score para a concentração de um elemento pode ser calculado por meio da relação 6.1 (Bode, 1996):

$$\text{Z-score} = (C_i - C_{\text{ref},i}) / (\sigma_i^2 + \sigma_{\text{ref},i}^2)^{1/2} \quad (6.1)$$

Onde:

C_i é o valor da concentração do elemento **i** obtido na análise;

C_{ref,i} é a concentração do valor do certificado para o elemento **i**;

σ_i é a incerteza da concentração obtida para o elemento *i*. No presente trabalho utilizou-se o valor do desvio padrão para σ_i ;

$\sigma_{ref,i}$ é a incerteza do valor certificado para o elemento *i*.

Os valores de Z-score obtidos estão apresentados também nas Tabelas 6.1 e 6.2, bem como nas Figuras 6.1 e 6.2 para NIST 1577b *Bovine Liver* e NIST 1566b *Oyster Tissue* respectivamente.

Tabela 6.1. Concentrações dos elementos no material de referência NIST 1577b *Bovine Liver*. Resultados em mg kg⁻¹.

Elemento	M $\pm$ DP(n)	DPR (%)	ER (%)	Z-score	Valor do certificado (NIST, 1991)
Br	10,10 $\pm$ 0,33 (7)	3,3	-	-	(9,7)*
Co	0,243 $\pm$ 0,012(7)	5,0	-	-	(0,25)*
Fe	189 $\pm$ 10(6)	5,3	2,9	0,3	184 $\pm$ 15
Na	2473 $\pm$ 63(7)	2,5	2,2	0,1	2420 $\pm$ 60
Rb	13,07 $\pm$ 0,41(6)	3,1	4,5	-0,5	13,7 $\pm$ 1,1
Se	0,749 $\pm$ 0,027(6)	3,6	2,7	0,3	0,73 $\pm$ 0,06
Zn	123,9 $\pm$ 3,0(6)	2,4	2,4	-0,2	127 $\pm$ 16

M= média aritmética; DP= desvio padrão; n= número de determinações; DPR= desvio padrão relativo; ER= erro relativo.

*número entre parênteses indica valor informativo

Tabela 6.2. Concentrações dos elementos no material de referência NIST 1566b *Oyster Tissue*. Resultados em mg kg^{-1} a menos que seja indicado.

Elemento	M $\pm$ DP(n)	DPR (%)	ER (%)	Z-score	Valor do certificado (NIST, 2001)
As ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	7349 $\pm$ 338(6)	4,6	3,9	-0,9	7650 $\pm$ 650
Br	52,8 $\pm$ 1,7 (7)	3,2	-	-	-
Ca	875 $\pm$ 102(5)	11,6	4,4	0,3	838 $\pm$ 20
Co ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	356 $\pm$ 11(7)	3,3	3,9	1,2	371 $\pm$ 9
Fe	196,6 $\pm$ 7,6(5)	3,9	4,4	-0,9	205,8 $\pm$ 6,8
K	6181 $\pm$ 499(4)	8,0	5,1	-0,6	6520 $\pm$ 90
Na	3362 $\pm$ 76(6)	2,2	1,9	0,8	3297 $\pm$ 53
Rb	3,20 $\pm$ 0,13(6)	4,1	1,8	-0,4	3,26 $\pm$ 0,14
Se	2,068 $\pm$ 0,056(6)	2,7	0,4	0,08	2,06 $\pm$ 0,15
Zn	1378 $\pm$ 61(7)	4,4	3,2	-0,7	1424 $\pm$ 46

M= média aritmética; DP= desvio padrão; n= número de determinações; DPR= desvio padrão relativo; ER= erro relativo.

Figura 6.1 Valores de Z-score obtidos para o material de referência NIST 1577b *Bovine Liver*.

Figura 6.2 Valores de Z-score obtidos para o material de referência NIST 1566b *Oyster Tissue*.

6.2. Avaliação das impurezas de elementos nos esmaltes de unhas e no material plástico utilizado na irradiação das amostras

A análise qualitativa de três amostras de esmaltes irradiadas por 16 horas e submetidas à análise por espectrometria de raios gama indicou a presença de radioisótopos de diversos elementos, porém, com taxas de contagens muito baixas, praticamente compatíveis com as contagens do branco dos invólucros de plástico. A única amostra de esmalte que apresentou o espectro com picos ligeiramente mais intensos foi o de coloração laranja, pelo qual foram detectados os radioisótopos de ^{47}Ca , ^{46}Sc e ^{131}Ba . Face às baixas taxas de contagens obtidas na análise das três amostras de esmalte foi considerada neste trabalho desprezível a contribuição da adsorção dos elementos do esmalte nas unhas após as lavagens realizadas com acetona + Triton X100 + água. Favaro *et al*, (2005) que analisaram diversas marcas de esmalte chamam a atenção de que minúsculos resíduos de esmaltes podem contribuir significativamente no conteúdo dos elementos nas unhas e portanto na validação do procedimento de limpeza das unhas, a remoção dos materiais de origem exógena, tem de ser demonstrada.

Na Tabela 6.3 são apresentadas as concentrações de elementos encontradas no material plástico. Na terceira coluna desta Tabela 6.3 são apresentadas as massas desses elementos no invólucro de plástico de 0,02224 g utilizado na irradiação das amostras. Na quarta coluna estão as massas dos elementos em 0,200 g de unha. A comparação entre as massas dos elementos no invólucro e na unha indica que as massas dos elementos do material plástico utilizado como invólucro das amostras, podem ser consideradas muito baixo. Embora a contribuição das impurezas do material plástico pôde ser descartada na análise de unhas deve-se lembrar de que a presença de impurezas depende do lote do plástico de polietileno adquirido e da espessura. No presente trabalho foi usado folhas de polietileno com a espessura de 0,35 mm.

Tabela 6.3. Concentrações e massas dos elementos na amostra de plástico e de unha.

Elementos	Concentração no plástico (mg kg ⁻¹)	Massa (mg) do elemento em 22,24 mg do invólucro de plástico	Concentração na unha (mg kg ⁻¹)	Massa (mg) do elemento em 200 mg de unha
Br	0,1420±0,0011 ^a	3,1x10 ⁻⁶	1,7480±0,0078 ^a	3,5x10 ⁻⁴
Ca	26,0±2,9	5,8x10 ⁻⁴	958±37	1,9x10 ⁻¹
Co	(21,09±0,63) 10 ⁻³	4,7x10 ⁻⁷	(31,6±1,6) 10 ⁻³	6,3x10 ⁻⁶
Cr	0,0516±0,0043	1,1x10 ⁻⁶	0,251±0,015	5,0x10 ⁻⁵
Cs	(10,22±0,63) 10 ⁻³	2,3x10 ⁻⁴	(7,7±2,1) 10 ⁻³	1,5x10 ⁻³
Fe	2,77±0,29	6,2x10 ⁻⁵	34,6±1,0	7,0x10 ⁻³
K	21,21±0,84	4,7x10 ⁻⁴	114,9±4,3	2,3x10 ⁻²
La	(3,35±0,13) 10 ⁻³	7,4x10 ⁻⁸	(134,7±1,3) 10 ⁻³	2,7x10 ⁻⁵
Na	12,960±0,040	2,9x10 ⁻⁴	309,89±0,44	6,2x10 ⁻²
Sb	(8,10±0,26) 10 ⁻³	1,8x10 ⁻⁷	(24,1±3,7) 10 ⁻³	4,8x10 ⁻⁶
Sc	(0,340±0,050) 10 ⁻³	7,5x10 ⁻⁹	(2,64±0,15) 10 ⁻³	5,2x10 ⁻⁷
Zn	11,000±0,060	2,4x10 ⁻⁴	117,09±0,63	2,3x10 ⁻²

^a Resultados de uma determinação. As incertezas dos resultados foram calculadas utilizando erros de contagem da amostra e do padrão.

6.3. Verificação da homogeneidade da amostra preparada para análise

A Tabela 6.4 mostra os resultados obtidos nas análises em triplicata de uma amostra de unha. Para a maioria dos elementos, os resultados apresentaram DPR menores que 15 %, indicando a homogeneidade da amostra preparada. Para os elementos As, Cs, La e Rb os resultados apresentaram DPR maiores que 15 %, devido provavelmente às baixas concentrações destes elementos na amostra e consequente baixas taxas de contagens obtidas nas medições, Brockman *et al*, (2009) que fizeram análise em duplicata obtiveram os DPR de 17 % para o Se e 4 % para o Zn. A esta variação estes pesquisadores atribuíram a heterogeneidade da distribuição destes elementos nas unhas antes ou mesmo depois de proceder à limpeza com HNO₃ 10 % (v/v).

Tabela 6.4. Resultados (mg kg⁻¹) da análise em triplicata de uma amostra de unha.

Elementos	M _± DP	DPR (%)
As	(28,3±6,2 ^a) 10 ⁻³	22,0
Br	1,848±0,025	1,6
Ca	862±48	5,6
Co	(14,8±1,1) 10 ⁻³	7,6
Cr	0,214±0,014	6,7
Cs	(11,4±4,0) 10 ⁻³	35,0
Fe	18,4±2,5	13,8
K	402±56	14,0
La	(12,7±2,6) 10 ⁻³	20,2
Na	324±12	3,8
Rb	(1,17±0,21) 10 ⁻³	17,7
Sb	(12,5±1,9) 10 ⁻³	14,8
Sc	(2,52±0,32) 10 ⁻³	12,7
Se	0,3728±0,0059	1,6
Zn	79,6±1,5	1,8

^a Média aritmética e desvio padrão.

6.4. Ensaios preliminares de limpeza das unhas

Foram realizados testes preliminares de limpeza por meio de lavagem, utilizando amostra de unhas coletadas dos pés e das mãos de um mesmo indivíduo, para avaliar o efeito da limpeza dos contaminantes exógenos de elementos. Utilizando-se do procedimento de lavagem com solução de acetona + Triton X100 + água e aquele sem lavagem das unhas das mãos, os resultados obtidos nestas análises apresentados na Tabela 6.5 indicam que as concentrações dos elementos obtidos nas amostras lavadas são mais baixas ou da mesma ordem de grandeza das amostras não lavadas. Para o La e o Se foi obtida uma concentração ligeiramente mais alta para as unhas submetidas a lavagens, porém da mesma ordem de magnitude das unhas com e sem lavagem. O As não foi detectado na amostra não submetida a lavagem, possivelmente devido às altas atividades dos demais radioisótopos que mascaram os picos de ^{76}As . Os elementos que sofreram maior remoção com a lavagem foram Co, K, Na e Rb e estes resultados estão apresentados em negrito na Tabela 6.5.

Tabela 6.5. Concentrações (mg kg^{-1}) dos elementos nas amostras das unhas das mãos com e sem lavagem

Elementos	Lavagem Triton +acetona+água	Sem lavagem
As	$(32,5 \pm 2,8^a) 10^{-3}$	ND ^b
Br	$2,3340 \pm 0,0080$	$3,131 \pm 0,011^a$
Ca	805 ± 18	930 ± 20
Co	$(27,71 \pm 0,87) 10^{-3}$	$(84,9 \pm 1,7) 10^{-3}$
Cr	$0,219 \pm 0,018$	$0,274 \pm 0,019$
Cs	$(7,8 \pm 1,6) 10^{-3}$	$(8,8 \pm 1,7) 10^{-3}$
Fe	$33,02 \pm 0,66$	$33,29 \pm 0,70$
K	$582,8 \pm 1,9$	1209 ± 47
La	$(18,06 \pm 0,90) 10^{-3}$	$(16,89 \pm 0,98) 10^{-3}$
Na	$671,30 \pm 0,95$	$1171,2 \pm 1,7$
Rb	$(1,200 \pm 0,030) 10^{-3}$	$(2,090 \pm 0,040) 10^{-3}$
Sb	$(65,6 \pm 4,3) 10^{-3}$	$(85,6 \pm 7,1) 10^{-3}$
Sc	$(2,69 \pm 0,12) 10^{-3}$	$(3,46 \pm 0,13) 10^{-3}$
Se	$0,469 \pm 0,013$	$0,419 \pm 0,012$
Zn	$123,47 \pm 0,66$	$124,03 \pm 0,67$

^aResultados de uma determinação. As incertezas dos resultados foram calculadas utilizando erros de contagem das amostras e dos padrões.

^bND: Não detectado.

Os resultados das concentrações dos elementos obtidos nas unhas dos pés, com e sem lavagem com Triton X100 + acetona + água apresentados na Tabela 6.6, também indicam que houve a remoção de diversos elementos com exceção do La e Se. O elemento Se das unhas submetidas à lavagem apresentou concentração ligeiramente mais elevada que as não lavadas. O caso das unhas dos pés, a lavagem com soluções de acetona + Triton X100 + água ocasionou maior remoção dos elementos Co, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb e Sc, que estão apresentados em negrito na Tabela 6.6.

Tabela 6.6. Concentrações (mg kg^{-1}) dos elementos nas amostras de unhas dos pés com e sem lavagem.

Elementos	Lavagem com Triton +acetona+água	Sem lavagem
As	$(41,6 \pm 2,4^a) 10^{-3}$	$(53,5 \pm 3,9^a) 10^{-3}$
Br	$1,2830 \pm 0,0057$	$2,1460 \pm 0,0077$
Ca	1109 ± 19	1301 ± 19
Co	$(19,45 \pm 0,79) 10^{-3}$	$(49,9 \pm 1,4) 10^{-3}$
Cr	$0,166 \pm 0,015$	$0,224 \pm 0,015$
Cs	$(4,6 \pm 1,1) 10^{-3}$	$(13,5 \pm 1,8) 10^{-3}$
Fe	$14,77 \pm 0,73$	$25,74 \pm 0,97$
K	$752,1 \pm 9,1$	1617 ± 22
La	$(10,41 \pm 0,76) 10^{-3}$	$(58,5 \pm 1,1) 10^{-3}$
Na	$376,73 \pm 0,53$	$734,5 \pm 1,0$
Rb	$(1,280 \pm 0,050) 10^{-3}$	$(2,760 \pm 0,070) 10^{-3}$
Sb	$(28,4 \pm 2,5) 10^{-3}$	$(51,8 \pm 4,5) 10^{-3}$
Sc	$(1,95 \pm 0,14) 10^{-3}$	$(3,67 \pm 0,17) 10^{-3}$
Se	$(472 \pm 14) 10^{-3}$	$(418 \pm 14) 10^{-3}$
Zn	$96,46 \pm 0,43$	$89,41 \pm 0,45$

^aResultados de uma determinação. As incertezas dos resultados foram calculadas utilizando erros de contagens das amostras e do padrão.

Neste trabalho foi realizado também um teste de lavagem das unhas acrescentando mais uma etapa da lavagem com solução de HNO_3 ao procedimento em que são utilizadas a acetona + Triton X100 + água. Os resultados obtidos neste teste apresentados na Tabela 6.7 indicam que as unhas submetidas aos dois procedimentos de lavagem apresentaram concentrações mais baixas ou da mesma ordem de grandeza de elementos das não lavadas. Além disso, comparando os resultados obtidos nas unhas submetidas às lavagens com acetona + Triton X100 + água (procedimento A) e aquela com acetona + Triton X100 + HNO_3 + água (procedimento B) verifica-se que a inclusão da etapa da lavagem com HNO_3 acarreta maior remoção de diversos elementos, com exceção dos resultados obtidos para K e Se.

Tabela 6.7. Concentrações (mg kg^{-1}) dos elementos nas amostras das unhas das mãos utilizando diferentes procedimentos de lavagem

Elementos	Procedimento de limpeza		
	A ^a	B ^b	C ^c
As	$(29,1 \pm 2,4) 10^{-3}$	$(25,3 \pm 2,2) 10^{-3}$	$(40,0 \pm 2,6) 10^{-3}$
Br	$1,7480 \pm 0,0070$	$1,6190 \pm 0,0080$	$2,2210 \pm 0,0070$
Ca	957 ± 36	623 ± 42	916 ± 27
Co	$(31,6 \pm 1,6) 10^{-3}$	$(25,5 \pm 1,4) 10^{-3}$	$(30,0 \pm 0,50) 10^{-3}$
Cr	$(251 \pm 14) 10^{-3}$	$(235 \pm 15) 10^{-3}$	$(499 \pm 17) 10^{-3}$
Cs	$(7,8 \pm 1,6) 10^{-3}$	ND ^d	$(8,8 \pm 1,7) 10^{-3}$
Fe	$34,6 \pm 1,0$	$27,70 \pm 0,90$	$36,6 \pm 1,0$
K	$114,9 \pm 4,3$	$144,4 \pm 2,5$	$229,1 \pm 6,2$
La	$(134,7 \pm 1,3) 10^{-3}$	$(52,2 \pm 1,2) 10^{-3}$	$(169,0 \pm 1,3) 10^{-3}$
Na	$309,89 \pm 0,44$	$297,23 \pm 0,42$	$491,53 \pm 0,70$
Rb	$(0,290 \pm 0,040) 10^{-3}$	$(0,250 \pm 0,030) 10^{-3}$	$(0,570 \pm 0,040) 10^{-3}$
Sb	$(24,0 \pm 3,7) 10^{-3}$	$(26,8 \pm 2,7) 10^{-3}$	$(28,7 \pm 3,8) 10^{-3}$
Sc	$(2,64 \pm 0,15) 10^{-3}$	$(1,84 \pm 0,13) 10^{-3}$	$(2,52 \pm 0,13) 10^{-3}$
Se	$(587 \pm 19) 10^{-3}$	$(632 \pm 19) 10^{-3}$	$(656,5 \pm 2,7) 10^{-3}$
Zn	$117,09 \pm 0,63$	$88,93 \pm 0,52$	$109,50 \pm 0,56$

^a Procedimento A: Triton-X100 + acetona + água; ^b Procedimento B: Triton-X100 + HNO_3 + acetona + água; ^c Procedimento C: sem lavagem, ^d Não detectado. Obs: as unhas dos procedimentos A, B e C foram previamente submetidas a descontaminação microbiológica.

Foi também realizado um teste utilizando a solução de HNO_3 no lugar do Triton X100. Na Tabela 6.8 estão os resultados das análises de unhas submetidas à lavagem com acetona + Triton X100 + água bem como aquela com acetona + HNO_3 + água e sem a lavagem. Os dados desta tabela mostram que ocorreu a maior remoção de elementos na lavagem em que se usou o ácido nítrico. Durante a execução do experimento foi também verificado visualmente que a lavagem com solução de HNO_3 foi bastante drástica, acarretando dissolução da amostra. Consequentemente foi descartada a aplicação do procedimento da lavagem com solução de HNO_3 no presente trabalho. Resolveu-se utilizar o procedimento de lavagens de unhas usando soluções de acetona + Triton X100 + água purificada que vem sendo utilizada também por diversos pesquisadores como AGUIAR &

SAIKI, (2001); BERGOMI *et al*, (2002); CHEN *et al*, (1999); WILHELM *et al*, (1991), (2005).

CHEN *et al*, (1999) reportaram que a concentração de As foi mais baixa na amostra lavada com solução de Triton X100 do que a não lavada e que novas lavagens não removeram mais As. A estes resultados foi sugerido que as lavagens não removeram As da estrutura das unhas, mas apenas dos contaminantes exógenos. Este resultado está concordante com o resultado obtido neste trabalho e pode ser observado na Tabela 6.7. Na Tabela 6.8 não foi detectado o As na amostra não lavada, mas destaca-se uma alta remoção de As na lavagem com o HNO_3 em relação à obtida na lavagem com Triton X100.

Tabela 6.8. Concentrações (mg kg^{-1}) dos elementos nas amostras de unhas das mãos utilizando diferentes procedimentos de lavagem

Elementos	Procedimento de limpeza		
	A ^a	D ^b	C ^c
As	$(45,7 \pm 4,0) 10^{-3}$	$(23,9 \pm 3,9) 10^{-3}$	ND ^d
Br	$2,143 \pm 0,011$	$2,090 \pm 0,012$	$4,090 \pm 0,017$
Ca	727 ± 46	346 ± 68	1248 ± 58
Co	$(41,3 \pm 2,5) 10^{-3}$	ND	$(32,85 \pm 0,94) 10^{-3}$
Cr	$(259 \pm 21) 10^{-3}$	$(217 \pm 16) 10^{-3}$	$(410 \pm 18) 10^{-3}$
Cs	$(12,3 \pm 3,2) 10^{-3}$	$(15,2 \pm 2,1) 10^{-3}$	$(15,7 \pm 1,7) 10^{-3}$
Fe	$35,7 \pm 1,4$	$26,26 \pm 0,94$	$42,7 \pm 1,1$
K	243 ± 12	$137,9 \pm 3,8$	1313 ± 32
La	$(20,5 \pm 1,1) 10^{-3}$	$(9,0 \pm 1,3) 10^{-3}$	$(19,7 \pm 1,2) 10^{-3}$
Na	$256,63 \pm 0,36$	$118,23 \pm 0,60$	$1237,9 \pm 1,7$
Rb	$(0,320 \pm 0,050) 10^{-3}$	$(0,190 \pm 0,030) 10^{-3}$	$(2,240 \pm 0,060) 10^{-3}$
Sb	$(86,0 \pm 3,0) 10^{-3}$	$(52,7 \pm 1,1) 10^{-3}$	$(73,8 \pm 2,0) 10^{-3}$
Sc	$(3,04 \pm 0,21) 10^{-3}$	$(2,68 \pm 0,14) 10^{-3}$	$(4,75 \pm 0,17) 10^{-3}$
Se	$(452 \pm 26) 10^{-3}$	$(397 \pm 17) 10^{-3}$	$(442 \pm 11) 10^{-3}$
Zn	$107,84 \pm 0,72$	$63,80 \pm 0,43$	$105,81 \pm 0,40$

^a Procedimento A: Triton-X100 + acetona + água;

^b Procedimento D: HNO_3 + acetona + água.

^c Procedimento C: sem lavagem, limpeza somente para a descontaminação microbiológica;

^d Não detectado.

6.5. Análises das unhas das mãos e dos pés

Aplicando o procedimento de NAA proposto às análises de unhas foi possível a determinação dos elementos As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Sb, Sc, Se e Zn. Os resultados individuais das unhas das mãos e dos pés são apresentados no Apêndice 1, nas Tabelas 9.1 e 9.2 para as unhas das mãos e nas Tabelas 9.2 e 9.3 para as unhas dos pés. O elemento Rb nem sempre pôde ser detectado nas condições experimentais de modo que não foi considerado para o presente estudo. Foram calculados os parâmetros estatísticos: médias aritmética e geométrica com seus respectivos desvios padrões, medianas e as faixas de concentrações (máximo e mínimo) dos dados obtidos para a população de estudada.

Nas Tabelas 6.9 e 6.10 estão os resultados obtidos nas unhas das mãos e dos pés respectivamente. Estes resultados mostram que tanto nas unhas das mãos como nas unhas dos pés os elementos Ca, Fe, K, Na e Zn foram obtidos em teores mais elevados da ordem de mg kg^{-1} e os demais elementos As, Br, Co, Cr, Cs, La, Sb, Sc e Se da ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$. Conforme indicado nas Tabelas 6.9 e 6.10, alguns elementos não puderam ser determinados devido à baixa concentração na amostra ou devido a problemas práticos de detecção do radioisótopo ou de medição no tempo de decaimento estabelecido.

Os resultados das Tabelas 6.9 e 6.10 também mostram que as análises das unhas permitem a determinação de muitos elementos que desempenham importante papel metabólico no organismo humano e eles podem indicar aspectos nutricionais dos indivíduos. Dentre estes elementos essenciais estão o Ca, Fe, K e Zn. Com relação ao Ca, nas unhas foram obtidos teores da ordem de mg kg^{-1} . O Ca é um elemento importante no metabolismo dos ossos e a sua deficiência tem sido associada a doença osteoporose. Entretanto, VECHE-HART *et al*, (1995) verificaram que as concentrações de Ca presentes nas unhas dos pés não apresentam uma forte correlação com a densidade óssea de modo que as análises deste tecido não podem ser referência para avaliar o desenvolvimento desta doença.

⁴<http://www.atsdr.cdc.gov/csem/chromium/docs/chromium.pdf>

A maioria do Fe encontra-se no organismo dentro das células. As unhas são originadas das células epiteliais, das quais a camada mais profunda dá origem a matriz da unha, na qual as células que se diferenciam em queratina irão formar o leito ungueal onde são firmemente fixadas. SOBOLEWSKI, *et al*, (1978) encontraram uma correlação positiva entre a concentração de ferro obtido nas unhas e o tratamento da anemia ferropriva. Já para o Zn, CARMEIRO *et al*, (2011) demonstraram que há uma associação entre as concentrações deste elemento presente nas unhas com o desenvolvimento de asma na infância.

Também foi encontrado nas análises das unhas o elemento Se, porém em teores mais baixos variando de 0,362 a 1,297 mg kg⁻¹ nas unhas das mãos e de 0,322 a 1,315 mg kg⁻¹ nas unhas dos pés. Dentre os elementos tóxicos encontrados nas unhas das mãos e dos pés está o As, porém este elemento foi obtido em concentrações muito baixas, menores que 0,084 mg kg⁻¹ nas unhas das mãos e menores que 0,073 mg kg⁻¹ nas unhas dos pés. Relativamente a determinação de As em unhas, SLOTNICK & NRIAGU, (2006), que fizeram uma revisão sobre a validade das análises de unhas humanas como biomarcador de As e Se, chamam a atenção para a necessidade de futuros estudos tendo em vista as diversas rotas para o acúmulo destes elementos nas unhas.

O Cr considerado elemento tóxico, dependendo da sua forma química, foi detectado nas amostras de unhas. O Cr na forma Cr⁶⁺ é considerado tóxico e está associado ao câncer de pulmão, já o Cr³⁺ é um nutriente essencial, mas pode ser tóxico se ingerido em grande quantidade⁴. AYODELE & AJALA, (2009) determinaram a concentração de Cr e Cu em um grupo populacional da Nigéria, mas não conseguiram concluir uma contaminação com os resultados da pesquisa por causa de possível contaminação externa. RAJPATHAK *et al*, (2004) encontraram níveis mais baixos de Cr entre homens com diabetes e doença cardiovascular em comparação com o grupo controle.

⁴<http://www.atsdr.cdc.gov/csem/chromium/docs/chromium.pdf>

Tabela 6.9. Concentrações de elementos em mg kg^{-1} nas unhas das mãos.

Elementos	n	M $\pm$ DP	Máximo	Mínimo	MG $\times \div$ DPMG	Mediana
As	16	0,0442 $\pm$ 0,0147	0,0842	0,0213	0,0421 $\times \div$ 1,4	0,0420
Br	18	2,2 $\pm$ 1,4	6,5	0,91	1,9 $\times \div$ 1,7	1,8
Ca	18	784 $\pm$ 360	1994	327	724,1 $\times \div$ 1,5	728
Co	18	0,052 $\pm$ 0,058	0,248	0,017	0,037 $\times \div$ 1,7	0,029
Cr	17	0,322 $\pm$ 0,212	0,840	0,112	0,273 $\times \div$ 1,8	0,267
Cs	16	0,0135 $\pm$ 0,0086	0,0377	0,0043	0,0115 $\times \div$ 1,8	0,0114
Fe	18	35,5 $\pm$ 26,4	112,0	10,1	28,9 $\times \div$ 1,9	27,7
K	13	207 $\pm$ 186	723	42,1	147,1 $\times \div$ 2,6	193
La	16	0,0230 $\pm$ 0,0172	0,0607	0,0002	0,0118 $\times \div$ 5,8	0,0224
Na	17	220 $\pm$ 180	838	66,1	177,1 $\times \div$ 1,9	160
Sb	17	0,050 $\pm$ 0,053	0,249	0,019	0,040 $\times \div$ 1,8	0,033
Sc	17	0,0050 $\pm$ 0,0049	0,0189	0,0010	0,0036 $\times \div$ 2,2	0,0030
Se	18	0,668 $\pm$ 0,266	1,297	0,362	0,623 $\times \div$ 1,3	0,667
Zn	18	121,1 $\pm$ 22,9	178,1	92,0	119,2 $\times \div$ 1,2	119,4

n = número de amostras; M $\pm$ DP = média aritmética e desvio padrão; MG $\times \div$ DPMG = média geométrica e desvio padrão da média geométrica

Tabela 6.10. Concentrações de elementos em mg kg^{-1} nas unhas dos pés.

Elementos	n	M $\pm$ DP	Máximo	Mínimo	MG $\times \div$ DPMG	Mediana
As	16	0,0500 $\pm$ 0,0159	0,0734	0,0247	0,0475 $\times \div$ 1,4	0,0488
Br	16	1,3 $\pm$ 0,6	2,8	0,5	1,2 $\times \div$ 1,5	1,3
Ca	15	818 $\pm$ 250	1363	421	781,8 $\times \div$ 1,4	797
Co	16	0,018 $\pm$ 0,007	0,033	0,010	0,017 $\times \div$ 1,4	0,016
Cr	16	0,221 $\pm$ 0,221	0,962	0,062	0,165 $\times \div$ 2,1	0,152
Cs	15	0,0104 $\pm$ 0,0045	0,0205	0,0036	0,0094 $\times \div$ 1,6	0,0095
Fe	15	22,3 $\pm$ 18,6	82,0	9,15	18,29 $\times \div$ 1,8	16,48
K	16	344 $\pm$ 226	752	78,2	275,3 $\times \div$ 2,0	261
La	14	0,023 $\pm$ 0,022	0,090	0,003	0,016 $\times \div$ 2,4	0,016
Na	16	326 $\pm$ 172	750	122	287,8 $\times \div$ 1,7	300
Sb	15	0,032 $\pm$ 0,024	0,103	0,009	0,026 $\times \div$ 1,9	0,028
Sc	15	0,0035 $\pm$ 0,0035	0,0153	0,0007	0,0026 $\times \div$ 2,1	0,0024
Se	16	0,503 $\pm$ 0,237	1,315	0,322	0,470 $\times \div$ 1,4	0,433
Zn	16	96,2 $\pm$ 30,3	183,0	70,2	92,8 $\times \div$ 1,3	87,8

n = número de amostras; M $\pm$ DP = média aritmética e desvio padrão; MG $\times \div$ DPMG = média geométrica e desvio padrão da média geométrica

6.6. Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e pés.

Apesar do pequeno número de amostras de unhas analisadas não ser o ideal para tratamento estatístico, 18 amostras das mãos e 16 para as unhas dos pés, resolveu-se fazer um estudo comparativo entre os dados de concentrações de elementos obtidos para as unhas das mãos e pés. Para verificar se as concentrações dos elementos obtidas apresentam diferenças significativas quando comparado os grupos, foi aplicado o Teste *t de Student*. O teste estatístico foi aplicado ao nível de significância de 5% ou seja $p = 0,05$ (VIEIRA, 1980).

Os resultados da comparação entre as concentrações obtidas nas unhas das mãos e dos pés estão na Tabela 6.11 e para melhor visualização foram elaborados os gráficos das Figuras 6.3 e 6.4. Os resultados do Teste *t* realizados ao nível de significância de 5 % são indicados nesta Tabela 6.11. Na Figura 6.3 estão os gráficos para os elementos Br, Co e Zn cujas concentrações das unhas das mãos e dos pés apresentaram diferenças significativas pelo teste *t* ($p = 0,05$). Pode se verificar nesta Figura 6.3 que as unhas das mãos apresentaram concentrações de Br, Co e Zn mais altas que as dos pés. Os resultados obtidos para os elementos As, Ca, Cr, Cs, Fe, K, Na, La, Sb e Se que não apresentaram diferenças entre as concentrações obtidas nas unhas das mãos e pés estão na Figura 6.4. Portanto estes resultados são consistentes com as afirmações apresentadas por BARBOSA, *et al*, (2005), segundo estes pesquisadores, as unhas dos pés são menos afetadas pela contaminação exógena que a das mãos. Consequentemente as unhas dos pés apresentam esta vantagem de menor contaminação exógena e de refletir o teor de um elemento acumulado ao longo de um tempo, tendo em vista que a taxa de crescimento das unhas dos pés é menor do que a das mãos.

Tabela 6.11. Comparação entre as concentrações (em mg kg^{-1}) obtidas nas unhas das mãos e dos pés.

Elementos	Unhas das mãos		Unhas dos pés	
	n	M $\pm$ DP	n	M $\pm$ DP
As	16	0,0442 $\pm$ 0,0147 a	16	0,0500 $\pm$ 0,0159 a
Br	18	2,2 $\pm$ 1,4 a	16	1,3 $\pm$ 0,6 b
Ca	18	784 $\pm$ 360 a	15	818 $\pm$ 248 a
Co	18	0,052 $\pm$ 0,058 a	16	0,018 $\pm$ 0,007 b
Cr	17	0,322 $\pm$ 0,212 a	16	0,221 $\pm$ 0,221 a
Cs	16	0,0135 $\pm$ 0,0086 a	15	0,0104 $\pm$ 0,0045 a
Fe	18	36 $\pm$ 26 a	15	22 $\pm$ 19 a
K	13	207 $\pm$ 186 a	16	344 $\pm$ 226 a
La	16	0,023 $\pm$ 0,017 a	14	0,023 $\pm$ 0,022 a
Na	17	220 $\pm$ 180 a	16	326 $\pm$ 172 a
Sb	17	0,050 $\pm$ 0,053 a	15	0,032 $\pm$ 0,024 a
Sc	17	0,0050 $\pm$ 0,0049 a	15	0,0035 $\pm$ 0,0035
Se	18	0,668 $\pm$ 0,266 a	16	0,503 $\pm$ 0,237 a
Zn	18	121,1 $\pm$ 22,9 a	16	96,2 $\pm$ 30,3 b

A concentração de um elemento seguida de mesma letra minúscula (dois grupos) indica que não há diferença significativa pelo teste *t* (nível de significância de 5 %).

Figura 6.3. Concentrações de Br, Co e Zn das unhas das mãos e dos pés

Figura 6.4. Concentrações de As, Ca, Cr, Cs, Fe, K, La, Sb e Se nas unhas das mãos e dos pés.

6.7. Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e dos pés em relação ao gênero dos indivíduos.

Na Tabela 6.12 estão os resultados da comparação entre as concentrações de elementos obtidas nas unhas das mãos do grupo masculino e do feminino aplicando o teste t ($p = 0,05$) somente o elemento Zn apresentou diferença significativa.

Os resultados da comparação entre as concentrações obtidas nas unhas dos pés do grupo masculino e feminino da Tabela 6.13 mostrou que não há diferença significativa para nenhum dos elementos determinados.

Nas análises das unhas das mãos como na dos pés os resultados obtidos não indicaram nenhuma diferença significativa para os elementos determinados neste trabalho com exceção do elemento Zn nas unhas das mãos. Para as unhas das mãos VANCE *et al*, (1998) obtiveram altas concentrações de Ag, Au, Se e Zn e mais baixas de K e Na em indivíduos do

grupo feminino que masculino e para Ca, Co, Cr, Hg e Sc as concentrações não foram afetadas pelo gênero. Já os pesquisadores HOSSEINIMAKAREM & TAVASSOLI, (2011) obtiveram altas concentrações de Al, Fe, H, K, Mg, N, Na, O e Se no grupo masculino e altas concentrações de Ca e Ti no grupo feminino. Estes pesquisadores HOSSEINIMAKAREM & TAVASSOLI, (2011) aplicando a técnica de análise da função discriminante aos seus dados analíticos obtiveram a distribuição dos indivíduos em dois grupos. Os resultados obtidos para as unhas das mãos para os elementos Co, Cr, Se e Zn estão consistentes com os de VANCE *et al*, (1998). ZUKOWSKA *et al*, (2009) obtiveram altas concentrações de Se nas unhas do grupo feminino em relação ao grupo masculino de uma população residente na Polônia.

Tabela 6.12. Comparação entre as concentrações de elementos (em mg kg⁻¹) nas unhas das mãos do grupo masculino e feminino.

Elementos	Grupo Masculino		Grupo Feminino	
	n	M ± DP	n	M ± DP
As	6	0,044 ± 0,009 a	10	0,045 ± 0,011 a
Br	7	1,65 ± 0,55 a	11	2,50 ± 1,33 a
Ca	7	714 ± 232 a	11	828 ± 135 a
Co	7	0,034 ± 0,027 a	11	0,063 ± 0,083 a
Cr	6	0,224 ± 0,086 a	11	0,376 ± 0,330 a
Cs	6	0,0104 ± 0,0028 a	10	0,0154 ± 0,0059 a
Fe	7	30,5 ± 22,1 a	11	38,7 ± 18,4 a
K	6	232 ± 251 a	7	186 ± 102 a
La	7	0,023 ± 0,017 a	9	0,023 ± 0,020 a
Na	7	284 ± 261 a	10	175 ± 69 a
Sb	6	0,032 ± 0,010 a	11	0,060 ± 0,088 a
Sc	6	0,0054 ± 0,0067 a	11	0,0048 ± 0,0026 a
Se	7	0,652 ± 0,337 a	11	0,677 ± 0,265 a
Zn	7	104,9 ± 11,2 a	11	131,4 ± 27,3 b

A concentração de um elemento seguida de mesma letra minúscula (nos dois grupos) indica que não há diferença significativa pelo teste *t* (nível de significância de 5 %).

Tabela 6.13. Comparação entre as concentrações de elementos (em mg kg⁻¹) nas unhas dos pés do grupo masculino e feminino.

Elementos	Grupo Masculino		Grupo Feminino	
	n	M ± DP	n	M ± DP
As	7	0,0580 ± 0,0158 a	9	0,0438 ± 0,0137 a
Br	7	1,190 ± 0,446 a	9	1,394 ± 0,648 a
Ca	6	742 ± 243 a	9	868 ± 252 a
Co	7	0,0166 ± 0,0063 a	9	0,0197 ± 0,0076 a
Cr	7	0,1224 ± 0,0439 a	9	0,2977 ± 0,2741 a
Cs	7	0,0120 ± 0,0056 a	8	0,0089 ± 0,0030 a
Fe	6	18,3 ± 12,3 a	9	24,9 ± 22,1 a
K	7	361 ± 186 a	9	330 ± 262 a
La	6	0,0114 ± 0,0083 a	8	0,0320 ± 0,0252 a
Na	7	347 ± 232 a	9	310 ± 118 a
Sb	7	0,0322 ± 0,0207 a	9	0,0326 ± 0,0277 a
Sc	6	0,0025 ± 0,0015 a	9	0,0041 ± 0,0044 a
Se	7	0,564 ± 0,345 a	9	0,455 ± 0,099 a
Zn	7	85,2 ± 9,8 a	9	104,8 ± 38,3 a

A concentração de um elemento seguida de mesma letra minúscula (nos dois grupos) indica que não há diferença significativa pelo teste *t* (nível de significância de 5 %).

6.8. Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e dos pés em relação à faixa etária dos indivíduos.

Os resultados desta comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos em relação à faixa etária são dados nas Tabelas 6.14 e 6.15 para as unhas das mãos e dos pés respectivamente. Esta comparação foi feita entre as faixas etárias de 19 a 40 anos e 41 a 71 anos. Aplicando o teste *t* aos dados das Tabelas 6.14 e 6.15 para $p = 0,05$ foi verificado que somente o elemento Cs das unhas das mãos apresentou diferença significativa entre as faixas etárias consideradas.

VANCE *et al* (1998) que analisaram unhas das mãos verificaram que Ca, Co, Cr, Hg e Sc não são afetados pela idade e HOSSEINIMAKAREM &

TAVASSOLI, (2011) aplicando a técnica de análise da função discriminante aos dados da análise das unhas conseguiram separar os indivíduos em cinco grupos de faixas etárias distintas a saber: menor que 10 anos, de 11 a 18 anos, de 19 a 35 anos, de 36 a 50 anos e acima de 50 anos.

ZUKOWSKA *et al*, (2009) obtiveram uma diferença estatisticamente significativa entre as idades dos indivíduos participantes. Os participantes com mais de 50 anos apresentaram uma concentração mais baixa de Se nas unhas dos pés.

Tabela 6.14. Comparação entre as concentrações de elementos (em mg kg⁻¹) das unhas das mãos para diferentes faixas etárias.

Elementos	Faixa etária de 19 a 40 anos		Faixa etária de 41 a 71 anos	
	n	M ± DP	n	M ± DP
As	9	0,0418 ± 0,0073 a	7	0,0474 ± 0,0212 a
Br	10	1,90 ± 0,86 a	8	2,51 ± 1,88 a
Ca	10	707 ± 202 a	8	880 ± 494 a
Co	10	0,0488 ± 0,0704 a	8	0,0550 ± 0,0418 a
Cr	9	0,279 ± 0,214 a	8	0,370 ± 0,213 a
Cs	9	0,0096 ± 0,0038 a	7	0,0186 ± 0,0106 b
Fe	10	28,4 ± 19,3 a	8	44,4 ± 32,5 a
K	8	247 ± 221 a	5	144 ± 101 a
La	10	0,0193 ± 0,0161 a	6	0,0291 ± 0,0188 a
Na	10	255 ± 223 a	7	169 ± 81 a
Sb	9	0,0608 ± 0,0727 a	8	0,0387 ± 0,0112 a
Sc	9	0,0042 ± 0,0056 a	8	0,0059 ± 0,0041 a
Se	10	0,624 ± 0,299 a	8	0,717 ± 0,232 a
Zn	10	112,9 ± 13,6 a	8	131,4 ± 28,6 a

A concentração de um elemento seguida de mesma letra minúscula (nos dois grupos) indica que não há diferença significativa pelo teste *t* (nível de significância de 5 %).

Tabela 6.15. Comparação entre as concentrações de elementos (em mg kg⁻¹) das unhas dos pés para diferentes faixas etárias.

Elementos	Faixa etária de 21 a 40 anos		Faixa etária de 47 a 71 anos	
	n	M ± DP	n	M ± DP
As	11	0,0547 ± 0,0154 a	5	0,0398 ± 0,0129 a
Br	11	1,12 ± 0,41 a	5	1,71 ± 0,68 a
Ca	10	827 ± 303 a	5	800 ± 92 a
Co	11	0,0185 ± 0,0064 a	5	0,0178 ± 0,0090 a
Cr	11	0,194 ± 0,258 a	5	0,281 ± 0,101 a
Cs	11	0,0106 ± 0,0050 a	4	0,0097 ± 0,0034 a
Fe	10	15,9 ± 5,8 a	5	35,1 ± 28,7 a
K	11	408 ± 229 a	5	202 ± 155 a
La	10	0,0181 ± 0,0126 a	4	0,0359 ± 0,0361 a
Na	11	376 ± 182 a	5	217 ± 82 a
Sb	10	0,0391 ± 0,0272 a	5	0,0192 ± 0,0089 a
Sc	10	0,0026 ± 0,0015 a	5	0,0053 ± 0,0057 a
Se	11	0,506 ± 0,283 a	5	0,494 ± 0,100 a
Zn	11	99,9 ± 35,5 a	5	88,1 ± 13,3 a

A concentração de um elemento seguida de mesma letra minúscula (nos dois grupos) indica que não há diferença significativa pelo teste *t* (nível de significância de 5 %).

6.9. Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e dos pés em relação à faixa de índice de massa corpórea (IMC) dos indivíduos.

Os resultados desta comparação são apresentados nas Tabelas 6.15 e 6.16 para as unhas das mãos e dos pés respectivamente. O índice de massa corpórea (IMC) foi calculado como sendo a razão entre o peso do doador (em kg) e ao quadrado da altura (em m). Segundo a Organização mundial da saúde (WHO, 2012) os indivíduos são classificados segundo este índice como: abaixo do peso (IMC < 18,50), normal (IMC entre 18,50 e 24,99), acima do peso (para IMC ≥ 25,00) e obeso (IMC ≥ 30,00). Para este estudo os dados de IMC foram divididos em duas faixas, a saber: 18,50 a 24,99 kg m⁻² e a faixa de ≥ 25,00 kg m⁻². Os resultados do teste estatístico *t* indicaram que não há diferença das concentrações de elementos entre as distintas faixas de IMC.

PUCHAU *et al*, (2010) que determinaram Cu, Se e Zn em unhas de adultos jovens e saudáveis do Caucaso com idade média de $20,9 \pm 2,7$ anos verificaram altas concentrações de Zn e Cu para indivíduos com valores mais baixos de IMC.

ZUKOWSKA *et al*, (2009) determinaram Se nas unhas de uma população da Polônia e obtiveram concentrações de Se significativamente mais baixas para os participantes com IMC maior que 25 kg m^{-2} . Estes pesquisadores observaram ainda que os indivíduos com o IMC abaixo de $18,5 \text{ kg m}^{-2}$ obtiveram resultados significativamente mais altos de Se, porém o número de indivíduos com esta característica era muito pequeno.

Tabela 6.16. Comparação entre as concentrações de elementos (em mg kg^{-1}) das unhas das mãos para diferentes índices de massa corporea (IMC).

Elementos	Faixa de IMC de $18,50$ a $24,99 \text{ kg m}^{-2}$		Faixa de IMC $\geq 25,00 \text{ kg m}^{-2}$	
	n	M $\pm$ DP	n	M $\pm$ DP
As	7	$0,04073 \pm 0,0084 \text{ a}$	9	$0,0469 \pm 0,0183 \text{ a}$
Br	9	$2,26 \pm 1,84 \text{ a}$	9	$2,08 \pm 0,84 \text{ a}$
Ca	9	$822 \pm 452 \text{ a}$	9	$746 \pm 259 \text{ a}$
Co	9	$0,0471 \pm 0,0421 \text{ a}$	9	$0,0560 \pm 0,0730 \text{ a}$
Cr	9	$0,245 \pm 0,092 \text{ a}$	8	$0,409 \pm 0,276 \text{ a}$
Cs	9	$0,0132 \pm 0,0099 \text{ a}$	7	$0,0139 \pm 0,0074 \text{ a}$
Fe	9	$38,1 \pm 34,4 \text{ a}$	9	$32,9 \pm 16,9 \text{ a}$
K	8	$198 \pm 111 \text{ a}$	5	$221 \pm 287 \text{ a}$
La	9	$0,0372 \pm 0,0614 \text{ a}$	7	$0,0301 \pm 0,0212$
Na	9	$213 \pm 72 \text{ a}$	8	$230 \pm 261 \text{ a}$
Sb	9	$0,0377 \pm 0,0192 \text{ a}$	8	$0,0648 \pm 0,0748 \text{ a}$
Sc	9	$0,0055 \pm 0,0065 \text{ a}$	8	$0,0044 \pm 0,0024 \text{ a}$
Se	9	$0,625 \pm 0,288 \text{ a}$	9	$0,717 \pm 0,249 \text{ a}$
Zn	9	$116,8 \pm 15,8 \text{ a}$	9	$125,5 \pm 28,7 \text{ a}$

A concentração de um elemento seguida de mesma letra minúscula (nos dois grupos) indica que não há diferença significativa pelo teste *t* (nível de significância de 5 %).

Tabela 6.17. Comparação entre as concentrações de elementos (em mg kg⁻¹) das unhas dos pés para diferentes índices de massa corporal (IMC).

Elementos	Faixa de IMC de 18,50 a 24,99 kg m ⁻²		Faixa de IMC ≥ 25,00 kg m ⁻²	
	n	M ± DP	n	M ± DP
As	10	0,0507 ± 0,0169 a	6	0,0489 ± 0,0154 a
Br	10	1,30 ± 0,62 a	6	1,31 ± 0,50 a
Ca	10	812 ± 297 a	5	827 ± 127 a
Co	10	0,0171 ± 0,0059 a	6	0,0203 ± 0,0087 a
Cr	10	0,229 ± 0,276 a	6	0,206 ± 0,093 a
Cs	9	0,0104 ± 0,00475 a	6	0,01027 ± 4,60 a
Fe	9	18,3 ± 10,5 a	6	28,3 ± 26,7 a
K	10	352 ± 234 a	6	329 ± 231 a
La	8	0,0215 ± 0,0130 a	6	0,0254 ± 0,0316 a
Na	10	296 ± 119 a	6	375 ± 241 a
Sb	9	0,0341 ± 0,0297 a	6	0,0301 ± 0,0152 a
Sc	9	0,0025 ± 0,0016 a	6	0,0049 ± 0,0051 a
Se	10	0,505 ± 0,292 a	6	0,498 ± 0,117 a
Zn	10	101,1 ± 36,9 a	6	88,2 ± 13,5 a

A concentração de um elemento seguida de mesma letra minúscula (nos dois grupos) indica que não há diferença significativa pelo teste *t* (nível de significância de 5 %).

6.10. Comparação entre as concentrações de elementos das unhas das mãos e dos pés com valores da literatura.

As Tabelas 6.18 e 6.19 apresentam os resultados obtidos nas unhas das mãos e dos pés com os dados da literatura, respectivamente para maioria dos elementos, a comparação indica que os resultados obtidos são da mesma ordem de grandeza ou estão dentro dos limites dos valores apresentados na literatura. Portanto os dados destas Tabelas 6.18 e 6.19 nos fornecem somente uma estimativa dos valores basais de concentrações de elementos de uma população geral da Região Metropolitana de São Paulo. Uma comparação rigorosa entre os dados obtidos e valores da literatura é dificultada principalmente devido aos diferentes procedimentos adotados na limpeza das unhas para as análises. Isto mostra que o uso das análises de unhas por exemplo, no diagnóstico da saúde de indivíduos torna-se bastante

difícil sem o estabelecimento do procedimento de limpeza das unhas bem como os valores de referência ou de controle.

Tabela 6.18. Comparação entre as concentrações de elementos obtidos (em mg kg⁻¹) nas unhas das mãos com valores da literatura.

Elementos	Este trabalho		Valores reportados na literatura			
	M ± DP	MG x÷ DPMG	Ref. 1	Ref. 2	Ref. 3	Ref. 4
			M ± DP	M	M / MG	MG x÷ DPMG
As	0,0442 ± 0,0147	0,0421 x÷ 1,4	0,269±0,190	0,0545	0,43 / 0,35	0,1095 x÷ 2,7
Br	2,2 ± 1,4	1,9 x÷ 1,7	23±14	2,11	1,36 / 1,28	3,6 x÷ 1,6
Ca	784 ± 360	724,1 x÷ 1,5	670±240	665	257,9 / 194,0	1054,8 x÷ 1,6
Co	0,052 ± 0,058	0,037 x÷ 1,7	0,035±0,031	0,0421	0,05 / 0,05	0,1155 x÷ 2,3
Cr	0,322 ± 0,212	0,273 x÷ 1,8	1,16±1,05	0,898	1,90 / 1,62	1,2799 x÷ 2,7
Cs	0,0135 ± 0,0086	0,0115 x÷ 1,8	0,0041±0,0043	0,0054	-	-
Fe	35,5 ± 26,4	28,9 x÷ 1,9	42±30	19,5	122,7 / 110,2	133,0 x÷ 1,7
K	207 ± 186	147,1 x÷ 2,6	210±260	94,6	45,80 / 38,89	223,1 x÷ 3,9
La	0,0230 ± 0,0172	0,0118 x÷ 5,8	0,120±0,180	-	0,03 / 0,01	-
Na	220 ± 180	177,1 x÷ 1,9	240±240	157	31,67 / 28,11	170,6 x÷ 2,0
Sb	0,050 ± 0,053	0,040 x÷ 1,8	0,053±0,054	0,0366	0,23 / 0,17	-
Sc	0,0050 ± 0,0049	0,0036 x÷ 2,2	0,0084±0,0012	0,0027	0,02 / 0,02	-
Se	0,668 ± 0,266	0,623 x÷ 1,3	0,940±0,210	1,003	0,68 / 0,68	0,5140 x÷ 1,3
Zn	121,1 ± 22,9	119,2 x÷ 1,2	120±29	147	36,42 / 31,24	161,4 x÷ 1,7

Ref. 1. Rodushkin & Axelsson (2000); Ref. 2. Chaudhary *et al* (1995); Ref. 3. Xiao *et al* (1995); Ref. 4. Aguiar & Saiki (2000)

M = média aritmética; DP= desvio padrão da média aritmética; MG= média geométrica; DPMG= desvio padrão da média geométrica.

Tabela 6.19. Comparação entre as concentrações de elementos obtidos (em mg kg⁻¹) nas unhas dos pés com valores da literatura.

Elementos	Este trabalho		Valores reportados na literatura			
	M ± DP	MG x÷ DPMG	Ref. 1 M ± DP	Ref. 2 M ± DP	Ref. 3 M ± DP	Ref. 4 Faixa
As	0,0500 ± 0,0159	0,0475 x÷ 1,4	0,12 ± 0,13	0,10 ± 0,22	0,12 ± 0,27	-
Br	1,3 ± 0,6	1,2 x÷ 1,5	0,96 ± 3,56	-	2,41 ± 1,22	-
Ca	818 ± 250	781,8 x÷ 1,4	714 ± 303	-	968 ± 436	-
Co	0,018 ± 0,007	0,017 x÷ 1,4	0,037 ± 0,032	0,17 ± 0,86	0,042 ± 0,023	0,2 – 0,3
Cr	0,221 ± 0,221	0,165 x÷ 2,1	0,97 ± 0,91	1,91 ± 1,66	2,39 ± 2,91	1,6 – 4
Cs	0,0104 ± 0,0045	0,0094 x÷ 1,6	-	-	-	-
Fe	22,3 ± 18,6	18,29 x÷ 1,8	25,2 ± 20,4	-	42,5 ± 26,3	78 – 323
K	344 ± 226	275,3 x÷ 2,0	-	-	-	-
La	0,023 ± 0,022	0,016 x÷ 2,4	-	-	-	-
Na	326 ± 172	287,8 x÷ 1,7	25,2 ± 40,2	-	-	-
Sb	0,032 ± 0,024	0,026 x÷ 1,9	-	-	-	-
Sc	0,0035 ± 0,0035	0,0026 x÷ 2,1	0,0026 ± 0,0024	-	0,0053 ± 0,0062	0,004 – 0,1
Se	0,503 ± 0,237	0,470 x÷ 1,4	0,83 ± 0,23	0,82 ± 0,46	0,92 ± 0,15	-
Zn	96,2 ± 30,3	92,8 x÷ 1,3	111,0 ± 29,9	-	110,0 ± 28,9	57 - 290

Ref. 1. Cheng *et al* (1994); Ref. 2. Slotnick *et al* (2005) ; Ref. 3. Garland *et al* (1993); Ref. 4. Menezes *et al* (2004)

M = média aritmética; DP= desvio padrão da média aritmética; MG= média geométrica; DPMG= desvio padrão da média geométrica.

7. CONCLUSÕES

No controle analítico, os resultados das análises de materiais de referência obtidos foram concordantes com os valores dos certificados, demonstrando exatidão dos dados obtidos. Também foram obtidos resultados com uma boa precisão, o que pôde ser avaliado pelos valores dos desvios padrão relativos obtidos. Os valores de $|Z\text{-score}|$ obtidos foram inferiores a 2 indicando que os dados obtidos estão compatíveis com os valores certificados a um nível de significância de 5 %.

Com relação ao material plástico utilizado na confecção dos invólucros de plástico para a irradiação das amostras no reator foi possível verificar que ele resiste as condições de ativação, não sofrendo nenhuma alteração que possa se romper e ocasionar vazamento da amostra. Além disso, os resultados da análise deste invólucro de polietileno indicaram que os elementos Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Sb, Sc e Zn estão presentes neste material em teores muito baixos podendo ser considerados desprezíveis quando comparados com os presentes nas unhas.

Os resultados da análise de uma amostra de unha em triplicata indicaram a homogeneidade das unhas analisadas podendo concluir que o preparo das unhas cortadas em pequenos fragmentos foi adequado para determinação dos elementos deste trabalho.

Relativamente ao procedimento de lavagem das unhas foi verificada a importância de estabelecer um protocolo apropriado para sua limpeza. A utilização da solução de acetona + Triton X100 + água purificada foi adequada para o objetivo do presente trabalho. Pelos resultados das análises de unhas testadas com solução diluída de ácido nítrico e observação das amostras no procedimento de lavagem pode-se concluir que dependendo da dureza das unhas podem ser dissolvidas ou ainda pode ocorrer a desmineralização dos elementos de origem endógena.

Os resultados obtidos nas análises de unhas comprovaram a viabilidade da aplicação do procedimento de NAA à análise de unhas devido principalmente a capacidade de análise multielementar, simplicidade e à qualidade dos resultados. Aplicando as condições experimentais adotadas foram determinados nas unhas os elementos As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Sb, Sc, Se e Zn.

Aplicando o teste *t* ao conjunto de resultados obtidos neste trabalho foi possível concluir que as unhas das mãos apresentam teores mais altos de Br, Co e Zn que os dos pés, devido provavelmente à baixa contaminação das unhas dos pés pelos elementos de origem exógena. Estes resultados indicam que as unhas dos pés são mais apropriadas para análise elementar que as das mãos. Entretanto as unhas dos pés apresentam taxa de crescimento mais lenta que as das mãos.

A comparação entre as concentrações de elementos entre os grupos de diferentes gêneros, faixas etárias e IMC indicou que para vários elementos não há diferença significativa e esses achados nem sempre foram consistentes com os resultados da literatura.

A comparação dos resultados obtidos com os da literatura indica que tanto os dados das análises das unhas das mãos como a dos pés são da mesma ordem de grandeza ou estão dentro da faixa de valores apresentados na literatura. Entretanto, os resultados obtidos neste trabalho assim como nos valores reportados na literatura, apresentam para vários elementos uma ampla variabilidade de suas concentrações.

Face a estes resultados obtidos pode-se concluir que para o estabelecimento dos valores de referência ou faixas de concentrações é necessária a realização de mais estudos principalmente para estabelecer um protocolo apropriado de limpeza das unhas e de critérios de seleção do grupo controle. Há vários trabalhos sobre análise de unhas para as mais variadas aplicações, mas esses ainda indicam ser insuficientes para compreensão dos diferentes efeitos que afetam na comparação elementar das unhas. Conclui-

se que para se obter intervalos mais estreitos para os valores de referência há a necessidade de se padronizar os diversos parâmetros na amostragem como em selecionar rigorosamente o grupo de indivíduos.

Com relação ao número de amostras analisadas, que no presente trabalho foi de 18 amostras de unhas das mãos e 16 dos pés, é de grande interesse estender essas análises para um número maior de amostras para um exame estatístico.

Os resultados obtidos neste trabalho e os da literatura demonstram que mais estudos poderão contribuir para as aplicações dos dados das análises de unhas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹MAFFI, S. Fraturas dos dedos dos pés. Disponível em <http://www.clinicaecirurgiadope.com.br/index.php/fraturas-dos-dedos-do-pe/>. Acesso em 22/05/2012.

²PELE. Disponível em :<<http://pt.wikipedia.org/wiki/Pele>>. Acesso em 22/05/2012.

³Images to show Nail anatomy & structure. Disponível em: <<http://www.dxal.net/images-to-show-nail-anatomy-structure/>>. Acesso em 22/05/2012.

⁴Agency for toxic substances and disease registry. Case studies in environmental medicine. Chromium toxicity. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/csem/chromium/docs/chromium.pdf>. Acesso em 13/07/2012.

ANDRADE, E. C. B.; ALVES, S. P.; TAKASE, I. Avaliação do uso de ervas medicinais como suplemento nutricional de ferro, cobre e zinco. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 25, p. 591-596, 2005.

AGUIAR, A. R.; SAIKI, M. Determination of trace elements in human nail clippings by neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 249, p.413-416, 2001.

AGUIAR, A. R. **Aplicação do método de análise por ativação com nêutrons à determinação de elementos traço em unhas humanas**. 2001. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

AYODELE, J. T.; AJALA, I. C.; Chromium and copper in toenails of some Kano inhabitants. **Journal of Public Health and Epidemiology**, v. 1, p. 46-52, 2009.

BANK, H. L.; ROBSON, J.; BIGELOW, J. B.; MORRISON, J.; SPELL, L. H.; KANTOR, R. Preparation of fingernails for trace element analysis. **Clinica Chimica Acta**, v. 116, p. 179-190, 1981.

BARBOSA, F.; TANUS-SANTOS, J. E.; GERLACH, R. F.; PARSONS, P. J. A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: advantages, limitations, and future needs. ***Environmental Health Perspectives***, v. 113, p. 1669-1674, 2005.

BAZANELLI, A. P.; CUPPARI, L. ***Funções plenamente reconhecidas de nutrientes. Sódio***. Série de publicações ILSI Brasil – Força-Tarefa alimentos fortificados e suplementos, v. 4, 2009.

BATES, C. J.; PRENTICE, A. Vitamins, minerals and essential trace elements. ***Drugs and Human Lactation***, p. 533-607, 1996.

BERGOMI, M.; VINCETI, M.; NACCI, G.; PIETRINI, V.; BRATTER, P.; ALBER, D.; FERRARI, A.; VESCOVI, L.; GUIDETTI, D.; SOLA, P.; MALAGU, S.; ARAMINI, C.; VIVOLI, G. Environmental exposure to trace elements and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a population-based case-control study. ***Environmental Research***, v. 89, p. 116-123, 2002.

BIZIUK, M.; ASTEL, K.; RAINSKA, E.; ZUKOWSKA, J.; BODE, P.; FRONTASYEVA, V. Nuclear activation methods in the estimation of environmental pollution and the assessment of the industrial plant impact on the citizens of Gdansk (Poland). ***Analytical Letters***, v. 43, p. 1242-1253, 2010.

BODE, P. ***Instrumental and organizational aspects of a neutron activation analysis laboratory***. 1996. PhD Thesis – University of Technology, Delft.

BROCKMAN, J. D.; GUTHRIE, J. M.; MORRIS, J. S.; DAVIS, J.; MADSEN, R.; ROBERTSON, J. D. Analysis of the toenail as a biomonitor of supranutritional intake of Zn, Cu, and Mg. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 279, p. 405-410, 2009.

BU-OLAYAN, A-H.; AI-YAKOOB, S. N.; ALHAZEEM, S. Lead in drinking water from water coolers and in fingernails from subjects in Kuwait City, Kuwait. ***The Science of the Total Environment***, v. 181, p. 209-214, 1996.

CARNEIRO, M. F.; RHODEN, C. R.; AMANTÉA, S. L.; BARBOSA, F. JR. Low concentrations of selenium and zinc in nails are associated with childhood asthma. ***Biological Trace Element Research***, v. 144, p. 244-252, 2011.

CASEY, C. E.; HAMBIDGE, K. M. Trace element deficiencies in man. ***Advances in Nutritional Research***, v. 3, p. 40-46, 1980.

CASHMAN, M. W.; SLOAN, S. B. Nutrition and nail disease. ***Clinics in Dermatology***, v. 28, p. 420-425, 2010.

CHAUDHARY, K.; EHMANN, W. D.; RENGAN, K.; MARKESBERY, W. R. Trace element correlations with age and sex in human fingernails. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 195, p. 51-56, 1995.

CHEN, K. L. B.; AMARASIRIWARDENA, C. J.; CHRISTIANI, D. C. Determination of total arsenic concentrations in nails by inductively coupled plasma mass spectrometry. ***Biological Trace Element Research***, v. 67, p. 109-125, 1999.

CHENG, T. P.; MORRIS, J. S.; KOIRTYOHANN, S. R.; SPATE, V. L.; BASKETT, C. K. The analysis of human nails for 24 elements via K_α and cyclic neutron activation analysis. ***Instruments and Methods in Physics Research***, v. 353, p. 457-460, 1994.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. ***Funções plenamente reconhecidas de nutrientes. Selênio***. Série de publicações ILSI Brasil – Força-Tarefa alimentos fortificados e suplementos, v. 8, 2009.

CUPPARI, L.; BAZANELLI, A. P. ***Funções plenamente reconhecidas de nutrientes. Potássio***. Série de publicações ILSI Brasil – Força-Tarefa alimentos fortificados e suplementos, v. 11, 2010.

DE SOETE, D.; GIJELS, R.; HOSTE, J. ***Neutron activation analysis***, Wiley-Interscience, London, 1972.

FARHAN, K. M.; SASTRY, T. P.; MANDAL, A. B. Comparative study on secondary structural changes in diabetic and non-diabetic human finger nail specimen by using FTIR spectra. ***Clinica Chimica Acta***, v. 412, p. 386-389, 2011.

FAVARO, P. C.; BODE, P.; DE NADAI FERNANDES, E. A. Trace elements in nail polish as a source of contamination of nail clipping when used in epidemiological studies. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 264, p. 61-65, 2005.

FISBERG, M.; BRAGA, J. A. P.; BARBOSA, T. N. N.; MARTINS, F. O. **Funções plenamente reconhecidas de nutrientes. Ferro.** Série de publicações ILSI Brasil – Força-Tarefa alimentos fortificados e suplementos, v. 3, 2009.

FRIEDLANDER, G.; KENNEDY, J. W.; MILLER, J.M.. **Nuclear and Radiochemistry.** New York: John Wiley & Sons, 1981.

GARLAND, M.; MORRIS, J. S.; ROSNER, B. A.; STAMPFER, M.; SPATE, V. L.; BASKETT, C. J.; WILLETT, W. C.; HUNTER, D. J. Toenail trace element levels as biomarkers: reproducibility over a 6-year period. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 2, p. 493-497, 1993.

GAULT, A. G.; ROWLAND, A. L.; CHARNOCK, J. M.; WOGELIUS, R. A.; MORILLA-GOMEZ, I.; VONG, S.; LENG, M.; SAMRETH, S.; SAMPSON, M. L.; POLYA, D. A. Arsenic in hair and nails of individuals exposed to arsenic-rich groundwaters in Kandal province, Cambodia. **Science of the Total Environment**, n. 393, p. 168-176, 2008.

GREENBERG, R. R.; BODE, P.; DE NADAI FERNANDES, E. A. Neutron activation analysis: A primary method of measurement. **Spectrochimica Acta**, n. 66, p. 193-241, 2011.

HOSSEINIMAKAREM, Z.; TAVASSOLI, S. H. Analysis of human nails by laser-induced breakdown spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 16, p. 057002-1 a 057002-8, 2011.

IAEA, INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory. IAEA TEC-DOC-564. Vienna, 1990.

IAEA, INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Activation analysis of hair as an indicator of contamination of man by environmental trace element pollutants. Vienna: IAEA, 1978. (IAEA-50).

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular.** Guanabara Koogan, 2000. 7. ed., Cap. 7, bases moleculares do citoesqueleto e dos movimentos celulares. p. 123.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**: Texto/Atlas. Guanabara Koogan, 2004. 10. ed., Cap. 18, pele e anexos. p. 359-370.

KATSIKINI, M.; PINAKIDOU, F.; MAYROMATI, E.; PALOURA, E. C.; GIOULEKAS, D.; GROLIMUND, D. Fe distribution and speciation in human nails. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, v. 268, p. 420-424, 2010.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, v. 16, p. 433-441, 2003.

KUCERA, J.; BENCKO, V.; BORSKA, L.; SOUKAL, L.; RANDA, Z. Biomonitoring of occupational exposure: Neutron activation determination of selected metals in the body tissue and fluids of workers manufacturing stainless steel vessels. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.259, v. 1, p. 7-11, 2004.

LEONARD, P. J.; MORRIS, W. P. Sodium, calcium, and magnesium levels in nails of children with cystic fibrosis of the pancreas. **Archives of Disease in Childhood**, n. 47, p. 495-498, 1972.

MAGALHÃES, G. M.; SUCCI, I. C. B.; SOUSA, M. A. J. Subsídios para o estudo histopatológico das lesões ungueais. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. n. 78, p. 4961, 2003.

MANSON, M. M.; MORRIS, J. S.; SPATE, V. L.; BASKETT, C. K.; NICHOLS, T. A.; HORSMAN, T. L.; LE MARCHAND L.; KOLONEL, L. N.; YUKIMOTO, S. Comparison of whole blood, plasma and nails as monitors for the dietary intake of selenium. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 236, p. 29-34, 1998.

MARTINI, L. A. **Funções plenamente reconhecidas de nutrientes. Cálcio**. Série de publicações ILSI Brasil – Força-Tarefa alimentos fortificados e suplementos, v. 1, 2008.

MENEZES, M. Â. B. C.; MAIA, E. C. P.; ALBINATI, C. C. B.; SABINO, C. V. S.; BATISTA, J. R. How suitable are scalp hair and toenail as biomonitoring?. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 259, p. 81-86, 2004.

MORRIS, J. S.; SPATE, V. L.; NGWENYAMA, R. A. Determination of selenium in the toenail biomonitor. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v.269, p. 283-290, 2006.

NIST, National Institute of Standards and Technology. Certificate of Analysis. Standard reference material 1577b Bovine Liver, p. 4, 1991.

NIST. National Institute of Standards and Technology. Certificate of Analysis. Standard reference material 1566b Oyster Tissue, p. 8, 2001.

PETERS, K.; GAMMELGAARD, B.; MENNÉ, T. Nickel concentrations in fingernails as a measure of occupational exposure to nickel. ***Contact Dermatitis***, v. 25, p. 237-241, 1991.

PRIYA, M. D. L.; GEETHA, A. Level of trace elements (copper, zinc, magnesium and selenium) and toxic (lead and mercury) in the hair and nail of children with autism. ***Biological Trace Element Research***, v. 142, p. 148-158, 2011.

PUCHAU, B.; ZULET, M. A.; HERMSDORFF, H. H. M.; NAVARRO-BLASCO, I. MARTINEZ, J. A. Nail antioxidant trace elements are inversely associated with inflammatory markers in healthy young adults. ***Biological Trace Element Research***, v. 133, p. 304-312, 2010.

RAJPATHAK, S.; RIMM, E.; LI, T.; MORRIS, J. S.; STAMPFER, M. J.; WILLETT, W. C.; HU, F. B. Lower toenail chromium in men with diabetes and cardiovascular disease compared with health men. ***Diabetes Care***, v. 27, p. 2211-2216, 2004.

RAJPATHAK, S.; RIMM, E.; MORRIS, J. S.; HU, F. Toenail selenium and cardiovascular disease in men with diabetes. ***Journal of the American College of Nutrition***, v. 24, p. 250-256, 2005.

RODUSHKIN, I.; AXELSSON, M. D. Application of double focusing sector field ICP-MS for multielemental characterization of human hair and nails. Part II. A study of the inhabitants of northern Sweden. ***The Science of the Total Environment***, v. 262, p. 21-36, 2000.

RIBEIRO, L. H. S.; NOVAES, E. M. C.; NEVES, R. G. A unha: estudo da anatomia, fisiologia e alteração da cor. ***Anais Brasileiro de Dermatologia***, v.70, n.6, p.567-577, 1995.

SCHEINFELD, N.; DAHDAH, M. J.; SCHER, R. Vitamins and minerals: Their role in nail health and disease. ***Journal of Drugs in Dermatology***, v. 6, p.782-787, 2007.

SLOTNICK, M. J.; NRIAGU, J. O.; JOHNSON, M. M.; LINDER, A. M.; SAVOIE, K. L.; JAMIL, H. J.; HAMMAD, A. S. Profiles of trace elements in toenails of Arab-Americans in the Detroit area, Michigan. ***Biological Trace Element Research***, v. 107, p. 113-126, 2005.

SLOTNICK, M. J.; NRIAGU, J. O. Validity of human nails as a biomarker of arsenic and selenium exposure: A review. ***Environmental Research***, v. 102, p. 125-139, 2006.

SOBOLEWSKI, S.; LAWRENCE, A. C. K.; BAGSHAW, P. Human nails and body iron. ***Journal of Clinical Pathology***, v. 31, p. 1068-1072, 1978.

STRASINGER, S. K. ***Uroanálise. Flúidos biológicos***. Premier, 2000. 3. Ed., Cap. 8, outros flúidos biológicos. p. 178-180.

VANCE, D. E.; EHMANN, W. D.; MARKESBERY, W. R. Trace element content in fingernails and hair of a nonindustrialized us control population. ***Biological Trace Element Research***, v. 17, p. 109-121, 1998.

VANNUCCHI, H.; MONTEIRO, T. H. ***Funções plenamente reconhecidas de nutrientes. Cobalamina (vitamina B₁₂)***. Série de publicações ILSI Brasil – Força-Tarefa alimentos fortificados e suplementos, v. 13, 2010.

VIEIRA, S. ***Introdução à bio estatística***. Campus, 1980. 7. Ed., cap. 12, Teste t. p. 121-135.

VECHT-HART, C. M.; BODE, P.; TROUERBACH, W. Th.; COLLETTE, H. J. A. Calcium and magnesium in human toenails do not reflect bone mineral density. ***Clinica Chimica Acta***, v. 236, p. 1-6, 1995.

VINCETI, M.; VENTURELLI, M.; SIGHINOLFI, C.; TREROTOLI, P.; BONVICINI, F.; FERRARI, A.; BIANCHI, G.; SERIO, G.; BERGOMI, M.; VIVOLI, G. Case-control study of toenail cadmium and prostate cancer risk in Italy. ***The Science of the Total Environment***, v. 373, p. 77-81, 2007.

XIAO, L.; ZHANG, Y. H.; LI, Q. G.; ZHANG, Q. X.; WANG, K. INAA of elemental contents in fingernails of esophageal cancer patients. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 195, p. 43-49, 1995.

XUN, P.; BUJNOWSKI, D.; LIU, K.; MORRIS, J. S.; GUO, Z.; HE, K. Distribution of toenail selenium levels in young adult Caucasians and African American in the united states: the CARDIA trace element study. ***Environmental Research***, v. 111, p. 514-519, 2011.

ZOLFAGHARI, G.; ESMAILI-SARI, A.; GHASEMPOURI, S. M.; FAGHIHZADEH, S. Evaluation of environmental and occupational exposure to mercury among Iranian dentist. ***The Science of the Total Environment***, v. 381, p. 59-67, 2007.

ZUKOWSKA, J.; BODE, P.; BIZIUK, M. Toenail selenium level among healthy residents of two Polish districts. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 280, p. 621-627, 2009.

WILHELM, M.; HAFNER, D.; LOMBECK, I.; OHNESORGE, F. K. Monitoring of cadmium, copper, lead and zinc status in young children using toenails: comparison with scalp hair. ***The Science of the Total Environment***, v. 103, p. 199-207, 1991.

WILHELM, M.; PESCH, B.; WITTSIEPE, J.; JAKUBIS, P.; MISKOVIC, P.; KEEGAN, T.; NIEUWENHUIJSEN, M. J.; RANFT, U. Comparison of arsenic levels in fingernails with urinary as species as biomarkers of arsenic exposure in residents living close to a coal-burning power plant in Prievidza District, Slovakia. ***Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology***, v. 15, p. 89-98, 2005.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global database on body mass index. Disponível em: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html. Acesso em: 15/06/2012.

WOOD, ROGER. How to validate analytical methods. ***Trends in Analytical chemistry***, v. 18, p. 624-632, 1999.

YAEMSIRI, S.; HOU, N.; SLINING, M. M.; HE, K. Growth rate of human fingernails and toenails in healthy American young adults. ***Journal Compilation – European Academy of Dermatology and Venereology***, v. 24, p. 420-423, 2010.

YOSHIZAWA, K.; WILLETT, W. C.; MORRIS, S. J.; STAMPFER, M. J.; SPIEGELMAN, D.; RIMM, E. B.; GIOVANNUCCI, E. Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. ***Journal of National Cancer Institute***, v. 90, p. 1219-1224, 1998.

9. APÊNDICES

APÊNDICE 1.

Tabela 9.1. Concentrações dos elementos As, Br, Ca, Co, Cs, Fe em mg kg⁻¹ das unhas das mãos.

Unhas das mãos																
código da amostra	Idade	Gênero	Concentrações dos elementos													
			n	As	n	Br	n	Ca	n	Co	n	Cr	n	Cs	n	Fe
M1	47	F	1	(35,9±7,2) * 10 ⁻³	1	1,743±0,015	1	1011 ±31	1	(49,2±1,7) 10 ⁻³	1	(275±20) 10 ⁻³	1	(26,1±2,4) 10 ⁻³	1	23,0±1,7
M2	67	F	2	(53,4±8,0) 10 ⁻³	3	6,46±0,72	2	1994±513	3	(140±27) 10 ⁻³	2	(410±92) 10 ⁻³	3	(37,7±3,2) 10 ⁻³	3	112±20
M3	23	F	2	(39,1±9,3) 10 ⁻³	3	2,15±0,17	3	875±192	4	(32,4±6,4) 10 ⁻³	3	(261±31) 10 ⁻³	3	(15,2±7,1) 10 ⁻³	3	33,0±2,3
M4	39	M	1	(33,2±5,4) 10 ⁻³	1	1,454±0,011	2	618±34	2	(26±10) 10 ⁻³	2	(112±10) 10 ⁻³	2	(9,7±4,4) 10 ⁻³	2	13,3±3,8
M5	71	F	1	(21,3±2,6) 10 ⁻³	1	2,345±0,008	1	391±30	1	(50,4±2,4) 10 ⁻³	1	(464±24) 10 ⁻³	1	(18,0±3,4) 10 ⁻³	1	56,2±1,6
M8	40	M	2	(47±11) 10 ⁻³	2	2,29±0,35	2	327±168	1	(23,6±1,1) 10 ⁻³	-	-	-	-	1	28,92±0,88
M9	61	F	-	-	1	4,105±0,014	2	479±50	2	(19,9±4,4) 10 ⁻³	2	(175±14) 10 ⁻³	1	(16,6±2,4) 10 ⁻³	1	13,02±0,63
M13	53	M	2	(47,9±5,9) 10 ⁻³	2	0,94±0,16	2	749±53	2	(95,0±3,4) 10 ⁻³	2	(309±118) 10 ⁻³	2	(8,6±2,5) 10 ⁻³	2	30,47±0,76
M15	48	F	3	(28,9±4,5) 10 ⁻³	3	1,69±0,11	3	715±224	3	(30,7±8,9) 10 ⁻³	3	(284±53) 10 ⁻³	2	(6,6±1,4) 10 ⁻³	3	29,1±4,7
M17	54	F	2	(60±20) 10 ⁻³	2	0,94±0,14	2	879±397	2	(26,7±9,6) 10 ⁻³	2	(205,79±0,78) 10 ⁻³	-	-	1	25,3±1,8
M19	24	F	1	(40,4±3,3) 10 ⁻³	1	3,905±0,014	1	583,4±32,8	1	(248,1±5,7) 10 ⁻³	1	(818±21) 10 ⁻³	1	(4,3±2,7) 10 ⁻³	1	34,0±1,3
M21	22	M	2	(33,14±0,95) 10 ⁻³	4	1,85±0,34	3	741±383	4	(19,1±2,6) 10 ⁻³	4	(117,4±8,0) 10 ⁻³	4	(14,7±9,0) 10 ⁻³	4	19,1±2,3
M22	25	F	2	(43,8±4,1) 10 ⁻³	3	0,91±0,19	2	665±32	2	(40,1±5,6) 10 ⁻³	3	(266±49) 10 ⁻³	1	(6,0±2,2) 10 ⁻³	2	23,6±3,2
M24	24	M	2	(43,5±6,2) 10 ⁻³	2	1,35±0,25	3	1045±226	3	(23,6±2,1) 10 ⁻³	3	(282±86) 10 ⁻³	2	(6,6±2,2) 10 ⁻³	3	17,07±0,39
M25	38	M	2	(56,9±1,2) 10 ⁻³	3	2,42±0,20	2	917±401	3	(34,9±2,6) 10 ⁻³	3	(267±77) 10 ⁻³	3	(11,31±0,92) 10 ⁻³	3	26,4±4,0
M27	40	F	1	(38,8±2,9) 10 ⁻³	1	1,4392±0,0072	1	699,3±21,8	1	(23,0±1,1) 10 ⁻³	1	(132,6±14,0) 10 ⁻³	1	(7,4±1,6) 10 ⁻³	1	10,14±0,72
M29	19	M	-	-	1	1,2752±0,0086	1	604±30	1	(16,7±1,2) 10 ⁻³	1	(255±15) 10 ⁻³	1	(11,4±2,1) 10 ⁻³	1	78,4±1,4
M32	54	F	1	(84,2±6,3) 10 ⁻³	1	1,863±0,011	1	820±38	1	(28,2±1,8) 10 ⁻³	1	(840±23) 10 ⁻³	1	(16,5±3,1) 10 ⁻³	1	65,8±1,5

F=feminino; M=masculino; *=Média±DP; n=número de determinações.

Tabela 9.2. Concentrações dos elementos K, La, Na, Sc, Se e Zn em mg kg⁻¹ das unhas das mãos.

Unhas das mãos																
código da amostra	Idade	Gênero	Concentrações dos elementos													
			n	K	n	La	n	Na	n	Sb	n	Sc	n	Se	n	Zn
M1	47	F	-	-	-	-	-	-	1	(48,89±0,99) 10 ⁻³	1	(3,02±0,23) 10 ⁻³	1	(486±24) 10 ⁻³	1	136,93±0,61
M2	67	F	3	291±41*	2	(33,9±2,4) 10 ⁻³	3	297±20	2	(59,5±2,1) 10 ⁻³	3	(14,4±2,4) 10 ⁻³	3	(670±31) 10 ⁻³	3	141±27
M3	23	F	3	352±199	3	(17,6±3,1) 10 ⁻³	2	249±10	2	(79±10) 10 ⁻³	3	(2,55±0,43) 10 ⁻³	4	(408±78) 10 ⁻³	4	116±15
M4	39	M	1	242±48	1	(12,90±1,05) 10 ⁻³	1	306,6±1,1	1	(19,2±1,7) 10 ⁻³	1	(1,26±0,14) 10 ⁻³	2	(1297,1±3,7) 10 ⁻³	2	127,3±9,1
M5	71	F	-	-	-	-	1	79,06±0,24	1	(38,8±2,4) 10 ⁻³	1	(7,93±0,27) 10 ⁻³	1	(706±27) 10 ⁻³	1	148,28±0,99
M8	40	M	1	56,2±1,2	2	(33,62±0,10) 10 ⁻³	2	109±14	-	-	-	-	1	(705±17) 10 ⁻³	1	101,18±0,55
M9	61	F	1	98,5±1,7	2	(3,49±0,36) 10 ⁻³	1	190,42±0,79	2	(30,4±4,1) 10 ⁻³	2	(1,71±0,14) 10 ⁻³	1	(667±14) 10 ⁻³	2	92±17
M13	53	M	2	86,0±2,1	2	(28,8±1,8) 10 ⁻³	2	160±25	2	(32,1±2,4) 10 ⁻³	2	(3,99±0,12) 10 ⁻³	1	(396±14) 10 ⁻³	2	100,8±3,5
M15	48	F	2	204±127	3	(198±68) 10 ⁻³	3	230±68	3	(27,7±3,9) 10 ⁻³	3	(2,99±0,33) 10 ⁻³	3	(739±134) 10 ⁻³	3	109,8±6,3
M17	54	F	2	42,1±2,1	2	(27,9±1,5) 10 ⁻³	2	160±32	2	(29,0±5,2) 10 ⁻³	2	(5,11±0,62) 10 ⁻³	1	(966±26) 10 ⁻³	1	178,1±1,8
M19	24	F	-	-	1	(0,15±0,10) 10 ⁻³	1	79,79±0,36	1	(248,7±3,3) 10 ⁻³	1	(3,0±1,3) 10 ⁻³	1	(860±24) 10 ⁻³	1	122,84±0,78
M21	22	M	4	193±15	2	(11,6±1,9) 10 ⁻³	4	324±26	4	(32,4±3,4) 10 ⁻³	4	(2,18±0,25) 10 ⁻³	4	(389±36) 10 ⁻³	4	93,8±4,6
M22	25	F	3	42,9±2,1	3	(30,3±8,9) 10 ⁻³	3	147±24	3	(34,3±5,1) 10 ⁻³	3	(2,74±0,65) 10 ⁻³	2	(362±14) 10 ⁻³	2	124,2±1,5
M24	24	M	2	91,5±2,1	2	(51,8±8,7) 10 ⁻³	2	159,0±8,3	3	(50,2±5,1) 10 ⁻³	3	(2,56±0,20) 10 ⁻³	3	(418±21) 10 ⁻³	3	95,8±3,2
M25	38	M	2	723±37	2	(25±13) 10 ⁻³	2	838±69	3	(26,9±3,6) 10 ⁻³	3	(3,43±0,62) 10 ⁻³	3	(483±34) 10 ⁻³	3	107,9±6,5
M27	40	F	1	272±73	1	(9,99±0,61) 10 ⁻³	1	249,70±0,56	1	(23,61±0,65) 10 ⁻³	1	(0,98±0,12) 10 ⁻³	1	(470±16) 10 ⁻³	1	132,37±0,71
M29	18	M	-	-	1	(0,24±0,10) 10 ⁻³	1	90,80±0,45	1	(33,1±2,2) 10 ⁻³	1	(18,94±0,22) 10 ⁻³	1	(613±18) 10 ⁻³	1	107,48±0,68
M32	54	F	-	-	1	(60,7±1,2) 10 ⁻³	1	66,08±0,52	1	(43,2±2,4) 10 ⁻³	1	(7,96±0,23) 10 ⁻³	1	(1109±206) 10 ⁻³	1	144,32±0,97

F=feminino; M=masculino; *=Média±DP; n=número de determinações.

Tabela 9.3. Concentrações dos elementos As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe em mg kg⁻¹ das unhas dos pés.

Unhas dos pés																
Código da amostra	Idade	Gênero	Concentrações dos elementos													
			n	As	n	Br	n	Ca	n	Co	n	Cr	n	Cs	n	Fe
P1	47	F	3	(28,2±6,2*) 10 ⁻³	4	1,895±0,095	4	797±135	4	(15,5±1,8) 10 ⁻³	4	(235±44) 10 ⁻³	3	(11,4±4,0) 10 ⁻³	4	17,6±2,6
P3	23	F	1	(41,6±2,3) 10 ⁻³	1	1,2830±0,0057	1	1109±19	1	(19,45±0,79) 10 ⁻³	1	(167±15) 10 ⁻³	1	(4,6±1,1) 10 ⁻³	1	14,77±0,73
P4	39	M	1	(73,4±4,4) 10 ⁻³	1	1,833±0,010	1	421±24	1	(19,6±1,6) 10 ⁻³	1	(128±16) 10 ⁻³	1	(20,5±2,8) 10 ⁻³	-	-
P5	71	F	1	(37,4±2,8) 10 ⁻³	1	1,3760±0,0090	1	875,8±31,7	1	(33,3±1,7) 10 ⁻³	1	(281±17) 10 ⁻³	1	(13,4±2,6) 10 ⁻³	1	82,0±1,5
P6	21	F	4	(43±16) 10 ⁻³	4	1,33±0,25	4	1008±99	4	(25±13) 10 ⁻³	4	(137±25) 10 ⁻³	3	(11,1±2,3) 10 ⁻³	4	27,8±7,1
P8	40	M	1	(67,6±3,6) 10 ⁻³	1	0,491±0,042	-	-	1	(11,70±0,87) 10 ⁻³	1	(157,1±10,0) 10 ⁻³	1	(3,65±1,97) 10 ⁻³	1	16,48±0,65
P9	61	F	1	(30,5±3,5) 10 ⁻³	1	2,7980±0,0010	2	769±263	1	(9,83±0,82) 10 ⁻³	2	(419,1±5,1) 10 ⁻³	-	-	2	10,4±3,1
P12	53	M	1	(60,7±3,7) 10 ⁻³	2	1,0318±0,0070	2	893±179	2	(15,3±1,0) 10 ⁻³	2	(146,8±7,9) 10 ⁻³	1	(8,5±1,7) 10 ⁻³	2	41,7±9,1
P16	29	M	1	(24,7±1,3) 10 ⁻³	1	1,060±0,013	1	464±17	2	(13,7±2,0) 10 ⁻³	2	(75±13) 10 ⁻³	2	(15,2±2,8) 10 ⁻³	2	9,15±4,8
P21	22	M	3	(54,6±7,3) 10 ⁻³	2	1,02±0,22	3	790±242	3	(16,9±5,0) 10 ⁻³	3	(62±14) 10 ⁻³	3	(12,3±6,1) 10 ⁻³	2	9,5±1,4
P22	25	F	2	(40,5±2,1) 10 ⁻³	2	0,560±0,076	2	598±159	2	(17,2±5,6) 10 ⁻³	2	(962±20) 10 ⁻³	1	(9,5±2,4) 10 ⁻³	2	12,50±0,30
P23	25	F	3	(58,5±6,2) 10 ⁻³	4	0,93±0,21	3	631±90	4	(27,9±8,7) 10 ⁻³	4	(92±10) 10 ⁻³	4	(7,1±2,2) 10 ⁻³	4	20,8±3,7
P25	38	M	3	(63,0±9,7) 10 ⁻³	3	1,66±0,14	3	1010±294	3	(29±10) 10 ⁻³	3	(182±49) 10 ⁻³	3	(15,3±3,8) 10 ⁻³	3	20,7±4,1
P26	25	M	3	(62±13) 10 ⁻³	3	1,23±0,14	2	873±133	3	(14,9±2,3) 10 ⁻³	2	(106±52) 10 ⁻³	2	(8,7±2,3) 10 ⁻³	1	12,4±1,4
P30	37	F	4	(72,2±8,5) 10 ⁻³	4	0,94±0,15	3	1363±297	3	(13,5±2,8) 10 ⁻³	4	(63±27) 10 ⁻³	2	(8,5±1,8) 10 ⁻³	2	14,8±2,4
P32	54	F	1	(42,4±5,9) 10 ⁻³	2	1,430±0,025	1	664±20	2	(15,20±0,70) 10 ⁻³	2	(323±176) 10 ⁻³	1	(5,6±1,6) 10 ⁻³	1	23,62±0,82

F=feminino; M=masculino; *=Média±DP; n=número de determinações.

Tabela 9.4. Concentrações dos elementos K, La, Na, Sb, Sc, Se e Zn em mg kg⁻¹ das unhas dos pés.

Unhas dos pés																
Código da amostra	Idade	Gênero	Concentrações dos elementos													
			n	K	n	La	n	Na	n	Sb	n	Sc	n	Se	n	Zn
P1	47	F	4	443±93*	3	(12,7±2,5) 10 ⁻³	4	342±35	4	(14,6±4,5) 10 ⁻³	4	(2,67±0,39) 10 ⁻³	4	(400±55) 10 ⁻³	4	78,4±2,5
P3	23	F	1	752,0±9,0	1	(10,41±0,76) 10 ⁻³	1	376,73±0,53	1	(28,4±2,4) 10 ⁻³	1	(1,95±0,14) 10 ⁻³	1	(472±14) 10 ⁻³	1	96,46±0,43
P4	39	M	1	174±20	-	-	1	326,82±0,92	-	-	1	(0,67±0,14) 10 ⁻³	1	(1315±25) 10 ⁻³	1	96,12±0,64
P5	71	F	1	78,2±5,4	1	(89,5±1,1) 10 ⁻³	1	240,34±0,54	1	(31,8±2,7) 10 ⁻³	1	(15,28±0,24) 10 ⁻³	1	(492±20) 10 ⁻³	1	106,06±0,62
P6	21	F	4	748±87	4	(28±12) 10 ⁻³	4	437±38	4	(18,4±5,2) 10 ⁻³	3	(6,0±2,1) 10 ⁻³	4	(369±47) 10 ⁻³	4	77,0±1,5
P8	40	M	1	167±12	1	(16,53±0,81) 10 ⁻³	1	143,02±0,40	1	(40,9±1,6) 10 ⁻³	1	(3,17±0,12) 10 ⁻³	1	(646±13) 10 ⁻³	1	96,52±0,52
P9	61	F	1	90,9±2,4	-	-	1	122,29±0,50	2	(9,04±1,50) 10 ⁻³	2	(1,83±0,57) 10 ⁻³	2	(544±14) 10 ⁻³	2	73,22±0,64
P12	53	M	2	272,3±2,1	2	(25,4±1,1) 10 ⁻³	2	189,1±3,3	2	(16,2±4,6) 10 ⁻³	1	(4,14±0,14) 10 ⁻³	2	(399±14) 10 ⁻³	2	86,9±6,6
P16	29	M	1	249,5±2,0	1	(2,70±0,31) 10 ⁻³	1	162,0±1,3	1	(10,81±0,94) 10 ⁻³	2	(0,93±0,26) 10 ⁻³	2	(350,5±2,5) 10 ⁻³	2	88,6±8,4
P21	22	M	2	576±78	3	(7,1±5,3) 10 ⁻³	3	585±37	3	(53,3±9,3) 10 ⁻³	3	(2,00±0,24) 10 ⁻³	3	(374±42) 10 ⁻³	3	70,2±3,8
P22	25	F	2	233±58	2	(30,9±1,2) 10 ⁻³	2	451±48	2	(103,0±8,5) 10 ⁻³	2	(2,01±0,21) 10 ⁻³	1	(322±18) 10 ⁻³	1	153,30±0,97
P23	25	F	3	224±39	3	(37,4±2,0) 10 ⁻³	3	224±11	4	(35,8±2,5) 10 ⁻³	3	(2,80±0,12) 10 ⁻³	4	(370±24) 10 ⁻³	4	79,6±3,2
P25	38	M	3	583±16	2	(10,2±3,2) 10 ⁻³	3	750±57	3	(15,2±4,2) 10 ⁻³	3	(3,9±1,1) 10 ⁻³	2	(443,8±3,3) 10 ⁻³	3	81,940±0,092
P26	25	M	2	506±19	3	(6,36±0,15) 10 ⁻³	3	274±25	2	(57±33) 10 ⁻³	-	-	2	(422±30) 10 ⁻³	2	76,36±0,99
P30	37	F	2	276±40	4	(31,2±9,3) 10 ⁻³	4	404±23	4	(28,3±3,8) 10 ⁻³	4	(2,42±0,16) 10 ⁻³	4	(487±39) 10 ⁻³	3	183±21
P32	54	F	1	127±10	2	(16,14±0,76) 10 ⁻³	2	191±12	2	(24,5±2,8) 10 ⁻³	1	(2,37±0,15) 10 ⁻³	2	(635±18) 10 ⁻³	1	96,11±0,52

F=feminino; M=masculino; *=Média±DP; n=número de determinações.

10. ANEXOS

Anexo A.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

- 1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:** “Estudo sobre a determinação de elementos químicos em amostras de aparas de unhas humanas pelo método de ativação com nêutrons”

Pesquisadora: Dra Mitiko Saiki

Documento de Identidade Nº :3.339.735 Sexo: () M (X) F

Cargo/Função:..Pesquisador Titular

Departamento: Centro de Reator de Pesquisas – CRPq do Instituto de Pesquisas

Energéticas e Nucleares - IPEN

2. AVALIAÇÃO DE RISCO DA PESQUISA

() Sem Risco (X) Risco Mínimo () Risco Médio

() Risco Baixo () Risco Maior

A probabilidade de que o participante sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo é de risco mínimo uma vez que as unhas serão cortadas pelo próprio participante da pesquisa ou pela sua manicure

- 3. DURAÇÃO DA PESQUISA:**..2 anos e 6 meses

4. EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO SUJEITO DA PESQUISA OU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNADO

Justificativa, objetivos e procedimentos

O motivo que nos leva a realizar esta pesquisa é para verificar a possibilidade de utilizar exame de unhas para avaliar o estado nutricional e estado da saúde dos indivíduos. Nós iremos determinar nas aparas de unhas (fragmentos de unhas obtidos no corte) os elementos importantes para a saúde humana tais como o cálcio, ferro, zinco, potássio assim como os elementos tóxicos como o mercúrio. Nosso estudo tem como objetivo determinar os elementos químicos presentes em unhas e estabelecer faixas de valores de referência ou de base para unhas de pessoas consideradas saudáveis. Para isto, pedimos sua colaboração para realização do estudo uma entrevista de cerca de dez minutos e fornecer as amostras de unhas. Nesta entrevista iremos fazer algumas perguntas sobre os seus dados pessoais tais como, idade, hábitos alimentares, uso de remédios, suplementos vitamínicos, tabagismo, atividade profissional e se sofre de alguma doença. Solicitamos aos participantes desta pesquisa para cortar as suas unhas somente quando há necessidade de cortá-las usando um cortador de unhas ou um par de tesouras. As aparas de unhas poderão ser guardadas em saquinhos de plástico zíper. Aos participantes nos iremos fornecer dois saquinhos de plástico para guardar as suas unhas dos pés e das mãos, separadamente.

Desconforto e riscos e benefícios

Não haverá nenhum desconforto ao doador e risco mínimo ou nenhum. As unhas poderão ser cortadas pelo próprio doador ou pela sua manicure e portanto o sua corte não causará nenhum dano ou desconforto ao sujeito da pesquisa. Os benefícios que termos com o desenvolvimento desta pesquisa são de grande interesse uma vez que as análises de unhas poderão fornecer

informações sobre os elementos traço acumulados no organismo ao longo do tempo. Além disso, como as unhas são tecidos bastante estáveis a temperatura ambiente, elas poderão ser enviadas com facilidade para diferentes laboratórios de análises. Portanto as análises de unhas poderão ser usadas como uma complementação a outros tipos de exames e contribuir para a identificação dos elementos presentes em teores não apropriados para a saúde humana.

5. ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO PESQUISADO

Após receber e ter as explicações sobre a pesquisa, os participantes têm o direito de obter informações adicionais bem como quaisquer perguntas e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa. Assim como o participante da pesquisa tem a liberdade de retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo. É importante que o sujeito da pesquisa saiba que as informações obtidas nesta entrevista aparecerão na pesquisa apenas como um número. O seu nome não aparecerá de nenhum modo em qualquer apresentação pública e nem em nenhum tipo de publicação. A participação no estudo não acarretará custos bem como não será disponível nenhuma compensação financeira pelo fornecimento das amostras de unhas.

6. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA PARA CONTATO

Se tiver dúvidas sobre esta pesquisa ou sobre a sua participação solicitamos para procurar:

- 6.1. Pesquisador Orientador: Mitiko Saiki pelo Telefone: (011) 3133 9967 ou (011) 3064 5583 ou pelo email: mitiko@ipen.br

Endereço: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN-CNEN/SP Avenida Professor Lineu Preste, No. 2242, CEP 05508-000, Cidade Universitária, São Paulo, SP, ou

6.2. Pesquisador Estudante de Pós Graduação: Thalita Pinheiro Sanches, pelo Telefone (011) 3133 9961 ou (011)7261 2377 ou pelo email: tpsanches@ipen.br

6.3. Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Tel (11) 3061-7779, Avenida Dr Arnaldo, 715, Cerqueira César, São Paulo, SP.

7. CONSENTIMENTO PÓS ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de _____

Nome	Assinatura do Participante	Data
------	----------------------------	------

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

Anexo B**FORMULÁRIO PARA COLETA DE AMOSTRAS DE UNHA**

1. Código da amostra: _____
2. Período de coleta: __/__/__ à __/__/__
3. Nome (opcional): _____
4. Idade: _____ anos
5. Gênero: () Masculino () Feminino [menopausa? () sim () não]
6. Atividade profissional: _____
7. Residência (ex:Cidade, estado): _____
8. Peso: _____ kg altura: _____ m
9. Hábito alimentar nos últimos 6 meses:

Verduras	() muito () razoável () pouco () não come
----------	--

Frutas	() muito () razoável () pouco () não come
--------	--

Legumes	() muito () razoável () pouco () não come
---------	--

Carne vermelha () muito () razoável () pouco
() não come

Carne branca () muito () razoável () pouco
() não come

Frutos do mar () muito () razoável () pouco
() não come

Sementes () muito () razoável () pouco
() não come

Grãos () muito () razoável () pouco
() não come

Castanhas () muito () razoável () pouco
() não come

10. Fumante: () sim () não

Há quanto tempo?: _____(anos/meses)

11. Faz ou fez alguma dieta nos últimos 6 meses? () sim () não

Qual? _____

12. Pratica algum tipo de exercício físico? () sim () não

Quais?: _____

13. Toma algum medicamento ou suplemento vitamínico:

() sim () não

Quais? _____

14. Sofreu, ou sofre de alguma doença? () sim () não

Quais? _____

15. Fez algum exame de imagem (RM/TC) com administração de contraste nos últimos 6 meses? () sim () não

16. Nos últimos 6 meses notou algum problema como queda de cabelo, unhas fracas, amolecimento dos dentes, problema de pele?

() sim () não

Qual? _____