

ATENÇÃO

O ORIGINAL DESTE ÍTEM NÃO FORNECE CONDIÇÕES  
PARA OBTER UMA CÓPIA DIGITALIZADA COM  
MELHOR QUALIDADE



**CNEN/SP**

**ipen** Instituto de Pesquisas  
Energéticas e Nucleares

AUTARQUIA ASSOCIADA A UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO

# **APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO À DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS EM AMOSTRAS DE PULMÃO**

**SIZUE OTA ROGERO**

**Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do Grau  
de Mestre em Tecnologia Nuclear.**

**Orientador:  
Dra. Mitiko Saiki**

**São Paulo  
1992**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES  
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO  
À DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS  
EM AMOSTRAS DE PULMÃO

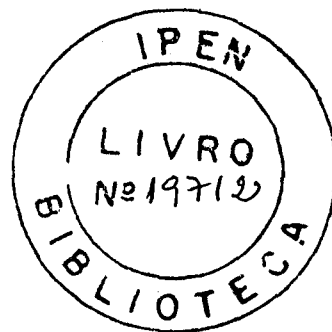
SIZUE OTA ROGERO

Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do grau  
de Mestre em Tecnologia Nuclear.

Orientadora: Dra. Mitiko Saiki

SÃO PAULO

1991



## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Dra. Mitiko Saiki por ter me dado oportunidade de me dedicar à pesquisa científica e à todos que me incentivaram e que direta ou indiretamente me ajudaram a realizar esse sonho!

Meus sinceros agradecimentos:

- ao grupo do Laboratório de Poluição atmosférica Experimental da FMUSP e em especial à Miriam Lemos Daliberto pela coleta das amostras.
- à Rosângela do Roccio Arkatam da TBM do IPEN, pela liofilização das amostras de pulmão.
- à Dra. Carmem Diva Saldiva do Instituto de Matemática e Estatística da USP pela orientação no tratamento dos dados obtidos.
- aos amigos da Divisão de Radioquímica que tão bem me receberam e em especial à Rosemeire Petrauskas e Gerson Palletti pela orientação na digitação desta dissertação.
- aos colegas pós-graduandos pelo incentivo e apoio na horas difíceis.

Este trabalho contou com o apoio financeiro das entidades:

- FAPESP
- CNPq

meus agradecimentos.

# APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO À DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS EM AMOSTRAS DE PULMÃO.

SIZUE OTA ROGERO

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho consistiu em aplicar o método instrumental de análise por ativação com nêutrons à determinação de elementos traços em amostras de pulmão de indivíduos fumantes e não fumantes. Foram analisados de cada indivíduo, amostras de tecido pulmonar e linfonodos do hilo pulmonar, coletadas em autópsias pelos pesquisadores da Faculdade de Medicina da USP.

Foram estabelecidas as condições adequadas para o tratamento e análise das amostras. Esse tratamento prévio consistiu de homogeneização, liofilização e esterilização na fonte de  $^{60}\text{Co}$ . Para a análise, as amostras, juntamente com os padrões sintéticos, foram irradiadas no reator IEA-R1, sob fluxo de  $3,7 \times 10^{11} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , por 30 min, para determinação de Cl, K, Mn e Na e por 16 h, sob fluxo de  $10^{19} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , para determinação de Au, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Rb, Sb, Sc, Se, Th e Zn. As contagens foram realizadas em detetor de Ge hiperpuro ligado a um analisador de raios gama de 4096 canais, acoplado a um microcomputador.

Os resultados das análises de pulmão indicaram uma boa reprodutibilidade, com desvios padrões inferiores a 10,5 % para a maioria dos elementos determinados. A exatidão do método

foi estudada analisando os materiais de referência Animal Muscle H-4 da IAEA; Bovine Liver 1577a do NIST; Bowen's Kale da IUPAC e Vehicle Exhaust Particulates.no.8 do NIES, onde foram obtidos resultados bastante concordantes com os valores da literatura, com porcentagens de erros relativos inferiores a 20 % para os diversos elementos. Os resultados menos satisfatórios na precisão e exatidão foram obtidos para os elementos com concentrações ao nível de  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ .

Na análise dos tecidos pulmonares foram obtidos teores dos elementos dentro do intervalo de valores de referência para indivíduos normais, apresentados na literatura, com exceção do Cl no grupo de não fumantes, o Hf em ambos os grupos e o Sb no grupo de fumantes.

Fazendo uma comparação entre os resultados obtidos em pulmões de indivíduos fumantes e não fumantes foi verificado os elementos Ce, Cr e Sb em níveis mais elevados nos fumantes e os demais elementos em ambos os grupos apresentaram níveis da mesma ordem de grandeza.

A comparação dos resultados obtidos nos pulmões de não fumantes com o do natimorto nos levou a acreditar que há um acúmulo nos pulmões dos elementos provenientes da poluição atmosférica e/ou da fumaça do cigarro, uma vez que no pulmão do natimorto não foram detectados os elementos Ce, Eu, Hf, La e Th e os elementos Co, Cr, Cs, Sb e Sc foram encontrados em níveis mais baixos.

# APPLICATION OF NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS TO TRACE ELEMENT DETERMINATIONS IN LUNG SAMPLES

SIZUE OTA ROGERO

## ABSTRACT

The purpose of this work was to apply the instrumental neutron activation analysis method to determine trace elements in lung samples from smokers and non smokers. Samples of lung tissues and lymphnodes from pulmonar hilum analyzed were collected from autopsies by researchers from Faculdade de Medicina da USP.

Adequate conditions for preparation and analysis of samples were previously established. The preparation of samples consisted of homogenization, lyophilization and sterilization in  $^{60}\text{Co}$  source. The samples and standards were irradiated in the IEA-R<sub>1</sub> reactor under thermal neutron flux of  $3.7 \times 10^{11} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$  for 30 min to determine Cl, K, Mn and Na and for 16 h under flux of  $10^{19} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$  for the determination of Au, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Rb, Sb, Sc, Se, Th and Zn. The countings were carried out with a hiperpure (Ge) detector connected to a 4096 channels analyzer and a microcomputer.

The results obtained for lung sample analyses indicated a good reproducibility of the method for most of the elements determined with relative standard deviations lower than 10.5 %. The accuracy of the method was evaluated by analyzing

reference materials such as IAEA Animal Muscle H-4, NIST Bovine Liver 1577a, IUPAC Bowen's Kale and NIES Vehicle Exhaust Particulates. The results obtained from these analyses agreed with the values of the literature for several elements with relative errors less than 20 %. Less precise and accurate results were obtained for elements with concentrations at the  $\mu\text{g/Kg}$  levels.

Elemental concentrations obtained in the lung tissue analyses were within the range of reference values for normal subjects presented in the literature, except for the Cl concentrations for non smokers, Hf in both groups and Sb for the smokers.

By comparing results obtained for lung samples from smokers and non smokers, the concentrations of Ce, Cr and Sb were higher in lungs from smokers and the others elements were found in the same orders of magnitude in both groups.

The comparison of the results obtained for lungs from non smokers and stillborn indicates that there is an accumulation of elements in the lungs from air pollution and/or cigarette smoke, because in the stillborn sample the elements Ce, Eu, Hf, La and Th were not detected and Co, Cr, Cs, Sb and Sc were found in lower levels.



## INDICE

	Página
CAPITULO I - INTRODUÇÃO .....	1
CAPITULO II - CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE AMOSTRAGEM E TRATAMENTO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS ....	13
CAPITULO III - PARTE EXPERIMENTAL	
III.1 - COLETA DAS AMOSTRAS DE PULMÃO HUMANO ...	24
III.2 - TRATAMENTO PREVIO DAS AMOSTRAS	
III.2.1 - ENSAIOS PRELIMINARES PARA TRATAMENTO PREVIO DAS AMOSTRAS .....	26
III.2.2 - METODOLOGIA ADOTADA PARA O TRATAMENTO PREVIO DAS AMOSTRAS .....	27
III.3 - METODO ANALITICO	
III.3.1 - PREPARAÇÃO DOS PADRÕES SINTÉTICOS ....	30
III.3.2 - ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES PARA ANÁLISE	
III.3.2a - IRRADIAÇÃO CURTA .....	32
III.3.2b - IRRADIAÇÃO LONGA .....	35
III.3.3 - ANÁLISE DO BRANCO .....	37
III.3.4 - METODOLOGIA ADOTADA PARA ANÁLISE INSTRUMENTAL POR ATIVAÇÃO COM NEUTRONS	

III.3.4.1. - ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS E PADRÕES PARA IRRADIAÇÃO NO REATOR ..	37
III.3.4.2. - IRRADIAÇÕES	
III.3.4.2a. - IRRADIAÇÃO CURTA .....	39
III.3.4.2b. - IRRADIAÇÃO LONGA .....	39
III.3.5. - MEDIDAS DA RADIAÇÃO GAMA .....	39
III.3.6. - IDENTIFICAÇÃO DOS RADIOISÓTOPOS .....	41
III.3.7. - CÁLCULO DAS CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS .....	42
III.4. - ESTUDO DA EXATIDÃO DO MÉTODO .....	45
III.5. - LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO .....	47

#### CAPITULO IV. - RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1. - HOMOGENEIDADE DAS AMOSTRAS APÓS TRATAMENTO PRÉVIO .....	49
IV.2. - ANÁLISE DO BRANCO .....	49
IV.3. - VERIFICAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE INTERFERÊNCIAS NA ANÁLISE	
IV.3.1. - INTERFERÊNCIA DO FOTOPICO DE 1120 keV DO $^{46}\text{Sc}$ NA DETERMINAÇÃO DO Zn .....	52
IV.3.2. - INTERFERÊNCIA DA REAÇÃO $^{54}\text{Fe} (n, \alpha) ^{51}\text{Cr}$ NA DETERMINAÇÃO DO Cr. ....	53
IV.4. - EXATIDÃO DO MÉTODO .....	55
IV.5. - LIMITE DE DETECÇÃO .....	60

IV. 6. - ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE PULMÕES	
IV. 6. 1. - TECIDOS PULMONARES DE INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES .....	63
IV. 6. 2. - LINFONODOS DE INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES .....	67
IV. 6. 3. - COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS PARA TECIDOS PULMONARES E LINFONODOS ..	67
CAPÍTULO V. - CONCLUSÕES .....	80
ANEXO 1 .....	83
ANEXO 2 .....	84
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	85

## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO

Atualmente mais de oitenta dos noventa e dois elementos químicos da tabela periódica têm sido identificados em vários tecidos e fluidos do corpo humano. Basicamente os elementos maiores (C, Ca, H, N, O, P, S) fazem parte da estrutura do corpo enquanto que os elementos menores (Cl, K, Mg, Na) são responsáveis pela manutenção do balanço eletrolítico do mesmo. Somente uma quantidade menor que 1% do total de elementos de todo o organismo é representada por elementos traços<sup>(24)</sup>.

Com relação a presença destes elementos traços, nas últimas décadas, um grande número de pesquisas desenvolvidas mundialmente, tem apontado a sua importância em vários processos bioquímicos<sup>(19)</sup>. Esses trabalhos têm demonstrado que o crescimento normal de organismos vivos depende do suprimento contínuo e adequado de certos elementos químicos, os chamados elementos essenciais tais como As, Co, Cr, Cu, F, Fe, I, Mn, Mo, Ni, Se, Sn, V, Zn.

O efeito biológico benéfico de um elemento depende de sua concentração e de sua forma química no organismo. O aumento desta concentração acima de um valor limite, mesmo dos elementos traços considerados essenciais pode resultar em efeitos danosos. Conseqüentemente pesquisam-se os efeitos do desequilíbrio na distribuição dos elementos traços no meio ambiente, visto que a sua ingestão ou inalação através da alimentação, da água e do ar pode atuar sobre o organismo humano.

Dentre os vários tipos de materiais biológicos que podem ser analisados para o estudo dos elementos essenciais e tóxicos à saúde humana, no presente trabalho decidiu-se analisar o tecido dos pulmões.

A análise elementar de tecidos pulmonares tem sido de grande interesse visto que os poluentes transportados pelo ar apresentam perigo não só para o trato respiratório, mas para outros órgãos, uma vez que o pulmão serve como canal pelo qual os materiais tóxicos são dispersados pelo corpo via sistema linfático e circulatório ou ainda pela depuração mucociliar e deglutição.

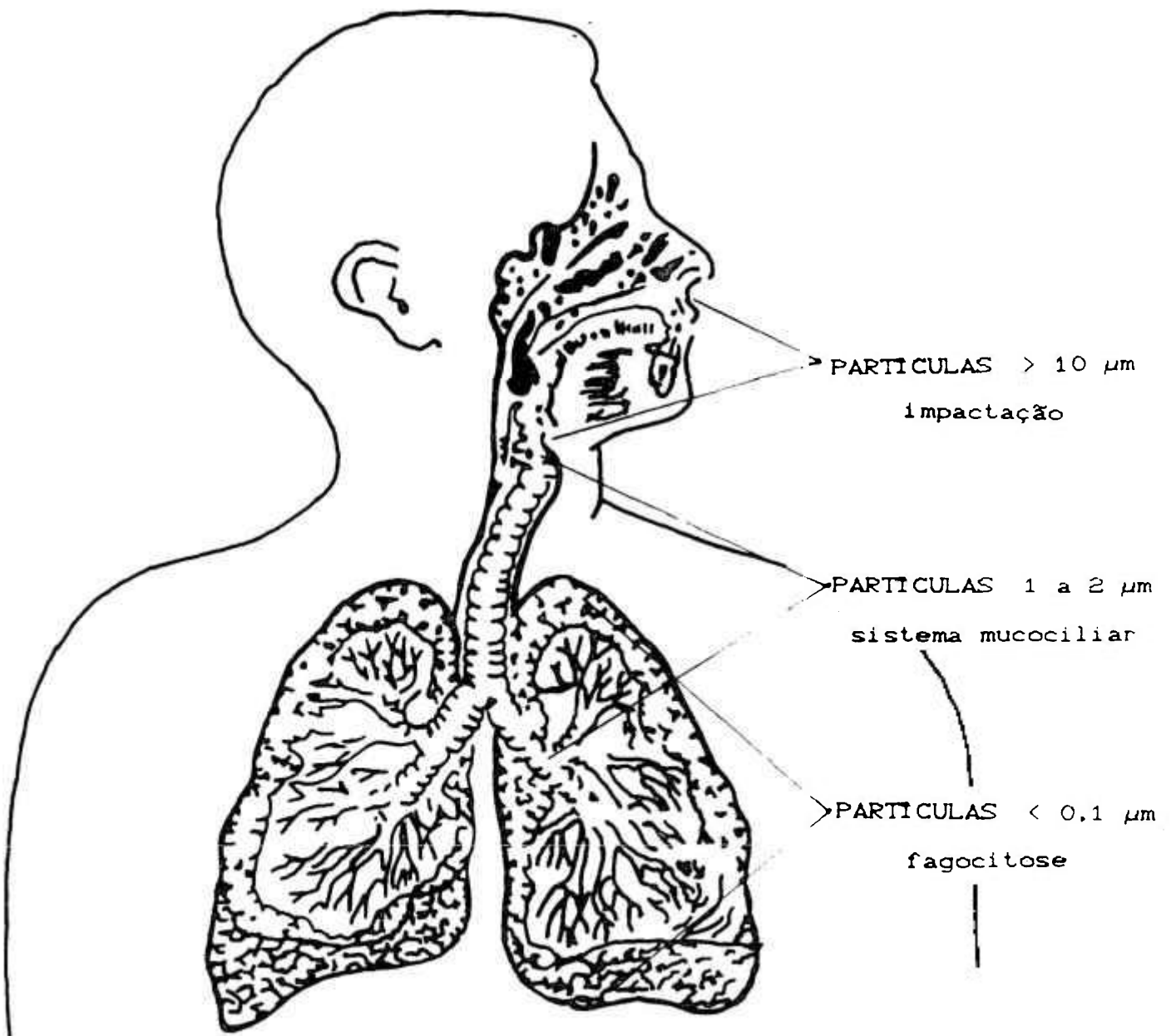
O adulto humano respira, em média, diariamente cerca de 15.000 litros de ar. Apesar da exposição contínua do pulmão aos particulados, as superfícies do trato respiratório são relativamente livres de matéria estranha, devido a um mecanismo complexo de defesa do sistema respiratório que previne a entrada de partículas e remove aquelas que foram depositadas. A eficiência desta depuração depende da carga pulmonar, do tamanho e da natureza das partículas inaladas.

As partículas altamente solúveis e os gases chegam rapidamente ao sangue sendo metabolizadas e excretadas pelas vias normais. As partículas menos solúveis, que se depositam, são levadas pelo sistema mucociliar das vias aéreas pulmonares em direção a faringe podendo ser expelidas ou deglutidas.

Os aerossóis e gases inalados, originários por exemplo do cigarro, intensificam a ação do sistema mucociliar.

Com relação ao tamanho das partículas inaladas<sup>(50)</sup>, a Figura I.1 mostra o esquema de deposição das partículas no aparelho respiratório. Sabe-se que aquelas maiores

Figura I.1 - ESQUEMA DE DEPOSIÇÃO DOS PARTICULADOS NO APARELHO RESPIRATÓRIO.



que 10  $\mu\text{m}$  sofrem impactação e se depositam nos septos nasais e vias aéreas superiores e podem ser removidas mecanicamente pelo espirro ou pelo movimento do muco para a faringe e via esôfago para o estômago. Nesse estágio as partículas são depuradas em minutos.

As partículas de 1 a 2  $\mu\text{m}$  depositadas nas vias aéreas traqueobronquiais, que vão desde a laringe até os bronquíolos terminais ciliados, são removidas pelo sistema mucociliar. Através deste procedimento, as partículas podem ser removidas em horas ou dias.

Já as partículas menores que 0,1  $\mu\text{m}$ , se forem retidas, são depositadas nas pequenas vias aéreas e alvéolos.

As superfícies alveolares são mantidas limpas e estéreis devido a ação de uma grande célula mononuclear fagocítica, chamada macrófago alveolar. Os macrófagos carregados de partículas, se movimentam em direção às vias aéreas ciliadas da árvore traqueobronquial, sendo eliminados pelo sistema mucociliar.

A fagocitose também tem um importante papel na prevenção de entrada de partículas no tecido fixo do pulmão. As partículas que ficam na superfície, são depuradas com meia vida biológica estimada de 24 h em humanos, enquanto que as partículas que penetraram no tecido fixo, são depuradas com meias vidas variando de alguns dias a vários anos. O tipo e o tempo de depuração depende do tamanho, da solubilidade e das propriedades químicas das partículas depositadas, do tempo de exposição e de fatores individuais.

As partículas que não são eliminadas, podem provocar crescimento de tecido reagente ao seu redor, modificando

a propriedade funcional do pulmão.

As enzimas líticas dos macrófagos, matam e digerem as bactérias. Apesar destas enzimas constituírem um importante aspecto na defesa pulmonar, esta capacidade digestiva pode eventualmente provocar dano no tecido pulmonar, se houver dano ou morte do macrófago.

Estudos epidemiológicos provam que os pulmões são muito vulneráveis a agressão por partículas e gases inalados. A deterioração da função pulmonar é uma consequência direta ou indireta das mudanças físicas e fisiológicas nas células, causadas pelo contato com agentes inalados.

O balanço colágeno-elastina é fundamental na estrutura e função pulmonar. O desequilíbrio deste balanço pode causar enfisema e fibrose dos pulmões. A deposição de finas partículas minerais pode resultar em fibrose e pigmentação crônica dos pulmões, doença genericamente conhecida como pneumoconiose. As formas mais comuns são antracose, silicose e asbestose, causadas respectivamente por pó de carvão, óxidos de silício e asbestos. Asbestos, vidro e outras fibras em pó estimulam a síntese de colágeno, sendo que a sílica e asbestos além disso são citotóxicos para os macrófagos alveolares e no caso de haver morte celular teremos liberação de enzimas proteolíticos, levando ao desenvolvimento de enfisema, como resultado da diminuição da elasticidade pulmonar.

Outra reação importante a partículas inaladas é a resposta tumorigênica <sup>(9)</sup>. Embora o tabaco tenha sido considerado a causa primária de carcinogênese, estudos epidemiológicos apontam também vários produtos industriais. A asbestose tem sido correlacionada com o adenocarcinoma de pulmão



assim como com o mesotelioma de pleura e de peritônio. Outros agentes que apresentam um aumento de risco, são os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH), radioisótopos, cromatos, arsênio, compostos envolvidos na refinação do níquel, etc.

Desde a época de 1900, têm sido desenvolvidos experimentos sobre a avaliação da coincidência da alta incidência de câncer de trato respiratório nos indivíduos fumantes. O tratamento estatístico destes estudos indicaram que a fumaça do tabaco tende a provocar câncer nos tecidos diretamente expostos<sup>(16)</sup>.

Na década de 1950, foram realizados exames de controle preventivo em 147.064 trabalhadores pela Unidade de Tratamento da Saúde Ocupacional de Viena. Durante esse *check-up* Neuberger e Kundi<sup>(98)</sup> selecionaram um grupo de indivíduos para verificar se uma exposição ocupacional prolongada a altas concentrações de sílica e partículas inspiráveis inertes, promove mortalidade por câncer pulmonar. Os resultados obtidos nesses estudos permitiram esses autores a sugerir que o PAH do ar das fundições, assim como a fumaça do tabaco adsorvido em partículas, poderiam funcionar como iniciadores do processo de carcinogênese. Sobre mortalidade por doença obstrutiva pulmonar crônica e câncer pulmonar em indivíduos fumantes, Neuberger e Kundi chegaram a conclusão de que o hábito de fumar deve ser o maior responsável pelas doenças citadas além da exposição cumulativa a pó, sílica e asbestos. Além disso, esses autores afirmam que esse risco não pode ser reduzido sem o sucesso do programa de deixar de fumar.

No tabaco, além das substâncias orgânicas consideradas carcinogênicas, há um grande número de constituintes inorgânicos suspeitos de serem tóxicos. Munita e Mazzilli<sup>(95)</sup>,

que analisaram diferentes marcas de cigarros brasileiros afirmam que a transferência do Co e Sb do tabaco para a cinza do cigarro é de particular importância, considerando que esses elementos apresentam propriedades supostamente tóxicas e carcinogênicas.

El-Amri e colaboradores<sup>(15)</sup>, analisando tabaco de cigarro e tabaco de mascar da Líbia verificaram que o cobalto no tabaco pode se tornar altamente tóxico ao se volatilizar formando complexos com compostos orgânicos e ser inalado com a fumaça do cigarro.

Sabe-se que agentes oxidantes podem ser gerados na fumaça do cigarro<sup>(16)</sup>, assim como de poluentes atmosféricos e quando inalados podem promover o surgimento de enfisema pulmonar. A fumaça do cigarro possui uma quantidade considerável de substâncias oxidantes em suas fases gasosa e particulada. Cada baforada de cigarro contém cerca de  $10^{14}$  radicais livres em cada fase. A maioria dos radicais livres da fumaça do cigarro, tem vida média que pode chegar a minutos, tempo suficiente para provocar uma agressão considerável nas estruturas pulmonares.

Outros agentes oxidantes que não estão presentes somente na fumaça do cigarro, são os óxidos de nitrogênio e o ozônio, que são também gerados por atividades industriais e fazem parte de emissões automotivas. O potencial agressor desses agentes pode ser aumentado pela capacidade de se adsorverem ao material particulado, aumentando o grau de penetração e o tempo de permanência nos pulmões. Esses fatos reforçam a necessidade de estudos que visem estabelecer a interação entre poluentes atmosféricos e o tabagismo nas doenças pulmonares.

Outra área de investigação sobre doenças respiratórias é a das doenças alérgicas como a alveolite alérgica

extrínseca, causada pelos produtos industriais como diisocianato de tolueno, pó de algodão, fungos e proteínas.

Numa revisão bibliográfica relativa a alguns trabalhos sobre análise de tecidos pulmonares, verifica-se que estas análises fornecem valiosas informações para estudos toxicológicos de certos elementos e principalmente para a etiologia das doenças pulmonares provocadas pela poluição ambiental e/ou exposição ocupacional aos agentes prejudiciais à saúde humana.

Recentemente, o Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental da Faculdade de Medicina da USP realizou um estudo de campo com o intuito de avaliar as condições da atmosfera do centro da cidade de São Paulo<sup>(47)</sup>. Neste estudo, ratos foram mantidos por períodos de seis meses a um ano no centro de São Paulo, sendo comparados com animais controle, alojados pelo mesmo período de tempo em local com atmosfera "limpa". Os resultados demonstraram que os animais mantidos no centro da cidade, desenvolveram lesões inflamatórias do trato respiratório, que levaram a um prejuízo dos mecanismos de defesa dos pulmões frente a agentes infecciosos no interior dos pulmões. Estas alterações suportam a idéia de que os habitantes dos grandes centros urbanos e núcleos industriais estejam mais propensos ao desenvolvimento de infecções broncopulmonares e tumores malignos do trato respiratório.

Muitos trabalhos <sup>(11,19,29,48,52,58,62,66,67,68,</sup>

<sup>74)</sup> têm sido realizados no sentido de se conhecer os níveis normais de elementos traços em órgãos, tecidos e fluidos do corpo humano, uma vez que é indispensável o conhecimento desses valores para detectar alguma alteração resultante de ingestão

inadequada desses elementos através da dieta alimentar, pela poluição ambiental ou pela alteração do metabolismo nas condições de doença.

Muitos estudos estão sendo desenvolvidos na tentativa de correlacionar o desequilíbrio dos elementos traços com as doenças humanas<sup>(6,14,27,44)</sup>.

O trabalho de Platin<sup>(44)</sup>, faz parte de um projeto conjunto da Organização Mundial de Saúde (WHO) e Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), para verificar se a contaminação do meio ambiente pelo desenvolvimento industrial e a introdução de mais metais e produtos metálicos no estilo de vida da população, resultam numa mudança nas concentrações de elementos traços essenciais nos tecidos humanos. Essa investigação tem sido direcionada para estudo da doença isquêmica do coração.

Brune e colaboradores<sup>(6)</sup>, fizeram análise de 20 elementos em pulmão, fígado e córtex renal de trabalhadores industrialmente expostos e um grupo controle, utilizando Análise por Ativação com Neutrons (NAA) e Espectrometria de Absorção Atômica (AAS). Esses resultados podem ser utilizados para melhor entendimento da distribuição e acúmulo dos vários elementos nos tecidos e as possíveis relações entre si e conseqüentemente estabelecer valores limites de elementos em ambiente de trabalho.

A distribuição do nível de elementos traços no tecido pulmonar humano tem sido amplamente estudada no sentido de se obter valores de referência para o grupo de indivíduos normais para verificar se existe uma relação entre o nível dos elementos traços em pulmão com as doenças pulmonares.

Vanoeteren e colaboradores<sup>(60)</sup>, utilizando NAA e

AAS determinaram 23 elementos em pulmões humanos e seus resultados indicam que todos esses elementos encontram-se distribuídos não homogêneamente no órgão. Após digestão do tecido pulmonar com a enzima proteolítica ficina foi feita análise do pó residual e, a maior parte do Co, Cr, Sb e Sc do tecido foi recuperado nesse pó residual. Comparando os valores das concentrações desses elementos nos pulmões com a concentração no aerossol foi mostrado que os valores de Co, Cr, Fe e Sc estavam dentro do intervalo de valores no aerossol.

Mais tarde, em 1986, Vanoeteren e colaboradores<sup>(64)</sup>, fizeram uma avaliação crítica dos níveis normais de elementos traços e maiores em tecido pulmonar humano. Nesta avaliação, esses autores acharam surpreendente o fato de que a contribuição do tabaco de cigarro para a composição de elementos traços nos pulmões humanos, tenha sido ignorado, exceto nos estudos feitos por:

- Sweet e colaboradores<sup>(54)</sup>, analisando pulmões de 100 residentes urbanos dos USA, concluíram que, em média, os "fortes fumantes" de cigarro apresentam concentrações pulmonares de Pb e Cd maiores do que nos "fracos fumantes" ou nos não fumantes.
- Mc Kenzie e colaboradores<sup>(34)</sup>, analisaram pulmões de 19 indivíduos fumantes e não fumantes de Nova Zelândia e verificaram que os fumantes apresentam concentrações mais altas de Cd que os não fumantes.
- Lewis e colaboradores<sup>(90)</sup>, correlacionando o hábito de fumar com o conteúdo de Cd em vários órgãos de 172 autópsias, verificaram que, a concentração deste elemento era, em média, duas vezes maior nos indivíduos fumantes e além disso os não fumantes tinham os pulmões mais leves, apesar de que nenhum dos

indivíduos tivessem trabalhado em ambiente contaminado com Cd.

Os trabalhos citados acima, são unânicos em suas conclusões: o fumo de cigarro adiciona substancialmente a carga de Cd nos pulmões.

Sabbioni e colaboradores<sup>(46)</sup>, determinaram os valores de referência para quantidades menores e traços de elementos em tecido pulmonar de residentes na região urbana, pelo método de espectrometria de emissão atômica induzida por plasma (ICP-AES) e análise por ativação com nêutrons (NAA). Este trabalho, faz parte da atividade de pesquisa de elementos traços em seres humanos, desenvolvido pelo *Environmental Protection Program at the JRC-Ispra (Italy)* em colaboração com o *Istituto Superiore di Sanità (Rome)* e a *University of Surrey (Guildford, UK)* cujo objetivo é estabelecer valores referência de elementos traços precisos e confiáveis, diminuindo o intervalo de valores reportados na literatura e minimizando as fontes de erros analíticos, para uso subsequente em estudos toxicológicos.

Dentre os trabalhos que relacionam o nível de elementos traços em pulmão com as doenças pulmonares, deve ser lembrado o trabalho de Pietra e colaboradores<sup>(42)</sup>, que analisaram biópsia de pulmão, sangue, urina e unhas de um indivíduo afetado por pneumoconiose por terras raras, pela NAA. Foi encontrado um acúmulo anormal de todas terras raras no pulmão desse indivíduo e verificado que o grau de mobilidade deste grupo de elementos do tecido pulmonar para o resto do corpo é muito baixo, mostrando que sangue, urina e unhas não servem como indicadores de exposição.

Também, Sabbioni e colaboradores<sup>(45)</sup> investigaram a possibilidade do uso do lavado broncoalveolar para a

determinação de traços de metais em pulmões de indivíduos vivos e ocupacionalmente expostos. As exposições ocupacionais a traços de metais podem causar doenças pulmonares e essas doenças podem ser evidenciadas pelo diagnóstico clínico: exame físico, testes de laboratório e exames de raios X. Estes pesquisadores sugerem a inclusão da análise por ativação de elementos traços em lavado broncoalveolar aos exames clínicos para o diagnóstico como doença ocupacional.

Dentre os vários métodos utilizados na análise de elementos traços em materiais biomédicos destaca-se a espectrometria de absorção atômica (AAS) <sup>(6,27,60)</sup>; a espectrometria de emissão atômica induzido por plasma (ICP-AESP) <sup>(27,46)</sup> e o método de análise por ativação <sup>(9,10,11,14, 27,42,44,46,49,51,60,66)</sup>.

A análise instrumental por ativação com nêutrons utilizada no presente trabalho baseia-se na medida da radiação gama emitida pelos nuclídeos radioativos obtidos na reação de captura neutrônica ( $n, \gamma$ ). Esse método tem sido muito utilizado para determinação de elementos traços em amostras biomédicas e ambientais principalmente devido a alta sensibilidade, exatidão e precisão desta técnica, por permitir uma análise multielementar e pelo fato de que o método dispensa, em geral, a análise do branco de reagentes.

No presente trabalho o método instrumental de análise por ativação com nêutrons (INAA) foi aplicado na análise de amostras de pulmão de indivíduos não fumantes e fumantes com o objetivo de obter valores de referência para a concentração de elementos traços em tecidos pulmonares e linfonodos de indivíduos normais, bem como verificar se existe uma correlação entre o

tabagismo e as doenças pulmonares.

São abordados neste trabalho além das condições experimentais adequadas para a INAA, as técnicas utilizadas para o tratamento das amostras de pulmão e dos cuidados necessários para o manuseio deste tipo de material biológico para evitar a sua contaminação e deterioração.

Serão apresentados os resultados das comparações feitas nas concentrações dos elementos encontrados nos tecidos pulmonares e linfonodos dos grupos de indivíduos não fumantes e fumantes, bem como a comparação entre análises de linfonodos e tecidos pulmonares desses dois grupos.

Será feita também uma comparação dos resultados da análise da amostra de pulmão de um natimorto com o grupo de indivíduos normais, os não fumantes.



## CAPÍTULO II

### CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE AMOSTRAGEM E TRATAMENTO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Há evidências de várias fontes que nos levam a concluir que todos os métodos para determinação de elementos traços em materiais biológicos podem estar sujeitos a erros significativos. A obtenção de resultados confiáveis, principalmente para elementos presentes em baixíssimas concentrações é de tal importância, também para o método de análise por ativação que a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) em 1982 organizou um encontro de pesquisadores de vários países pertencentes ao "Advisory Group" para uma discussão sobre o assunto. Esse grupo tinha como finalidade examinar as possíveis fontes de erros analíticos e como evitá-los. O relatório desse encontro<sup>(20)</sup> descreve de maneira bastante detalhada as fontes de erros na amostragem, na preparação de amostras e padrões, na ativação das amostras e padrões no reator, nas separações químicas, na espectrometria de raios gama assim como a aplicação de métodos gerais de controle de qualidade interno e externo.

Também as diversas entidades oficiais como IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry); ACS (American Chemical Society) e IAEA tem proposto relevantes definições e regras para aquisição de dados e controle de garantia de resultados analíticos que, se aplicados

adequadamente devem ajudar muito o analista a identificar e minimizar erros que afetam o trabalho<sup>(41)</sup>.

Deve-se salientar que dentre as várias fontes de erros na análise química de material biológico a amostragem assim como o tratamento adequado das amostras para posterior análise são considerados fatores importantes para garantia de qualidade dos resultados.

## AMOSTRAGEM

A amostragem é a operação para obter uma pequena porção do material e que tenha composição realmente representativa de toda a amostra. Um dos problemas que surge na amostragem de materiais biológicos sólidos é a heterogeneidade devida às concentrações localizadas de composições variadas.

Com relação a análise de elementos traços em tecidos humanos muitos investigadores verificaram que o modelo de distribuição de elementos traços nos tecidos humanos normais não é homogêneo, inclusive nos pulmões<sup>(61)</sup>, visto que os metais provenientes do ar que entram nos pulmões apresentam-se mais concentrados nos ápices do que nas bases dos pulmões<sup>(18)</sup>.

Bartsch e colaboradores<sup>(4)</sup> sugerem a distribuição dos elementos nos pulmões em dois grupos: um grupo constituído de K, Ca, Cu, Zn e Rb que apresentam diferença significativa de concentrações entre as várias áreas analisadas e outro grupo que exhibe gradiente positivo da base para o ápice, constituído de Ti, Cr, Ni e Sr.

Já Vanoeteren e colaboradores<sup>(60,61)</sup> confirmaram

que as concentrações de alguns elementos nos pulmões são mais altas no ápice do que na base. Verificaram também que os indivíduos mais velhos exibem modelo semelhante de distribuição de elementos enquanto que os indivíduos mais jovens (17-33 anos) apresentam modelos diferentes.

Joosting<sup>(25)</sup> sugere uma explicação sobre a ausência de gradiente de concentrações dos elementos nos pulmões de pessoas mais jovens, visto que a deposição de partículas é maior nas partes baixas dos pulmões devido ao modelo de respiração e devido à influência da força de gravidade. Por outro lado a retenção de partículas é maior no lobo superior porque os mecanismos de eliminação nessa região são menos eficientes e tornam-se mais pronunciados com a idade.

A seleção da amostra a ser analisada está diretamente relacionada com a finalidade do estudo a ser realizado.

#### PRE-AMOSTRAGEM

Além do fator amostragem propriamente dito, Iyengar<sup>(29)</sup> ressalta, principalmente para a análise de amostras biomédicas, os fatores que devem ser pré estabelecidos na coleta para obtenção de resultados analíticos confiáveis para uma interpretação correta. Os fatores de pré amostragem podem ser conceituados como aquelas alterações associadas com os espécimes biológicos *in situ* e antes da chegada destas amostras no laboratório para análises.

Uma série de circunstâncias que podem contribuir

na variação dos níveis totais de elementos traços em amostras biomédicas podem ser agrupadas em fatores de pré-amostragem os quais devem ser levados em consideração no estágio de planejamento da análise.

As variações biológicas, mudanças *post mortem* e erros intrínsecos constituem os chamados fatores de pré amostragem.

1- as variações biológicas são as que ocorrem devido a fatores genéticos (raça); a influências fisiológicas de curta e média duração (idade, sexo, fumo, habitat geográfico e fatores ambientais) e a mudanças sazonais (fisiológica ou climática). Diversos trabalhos mostram a importância em considerar as variações biológicas na amostragem, entretanto essas variações são de difícil identificação devido a contribuição do fator ambiental. Para o caso dos espécimes pulmonares o parâmetro idade parece ser importante uma vez que suspeita-se que os elementos traços de origem exógena apresenta contribuição cumulativa com o tempo.

Vanoeteren e colaboradores <sup>(61)</sup> afirmam que não existe uma regra geral de correlação entre a idade do indivíduo e os níveis dos elementos encontrados nos pulmões e concluem que a idade não é o único fator influente nas concentrações dos elementos nos pulmões, visto que muitos outros parâmetros podem estar interrelacionados.

Relativamente ao fator sexo, como o estilo de vida do homem e da mulher diferem, mesmo na sociedade atual moderna, deve-se considerar que existe a possibilidade de diferença na composição de elementos traços nos tecidos pulmonares destes dois

grupos de indivíduos. Vanoeteren e colaboradores<sup>(64)</sup> fazendo uma revisão nos resultados obtidos em diversos estudos sobre análise de elementos traços em pulmões concluíram que não há uma prova concreta de que há diferença dos níveis de certos elementos presentes nos pulmões de indivíduos de diferentes sexos. As concentrações maiores encontradas nos pulmões de homens poderiam ser o resultado de exposições fortuitas a concentrações mais altas no ambiente de trabalho ou do hábito de fumar cigarro mais intensivo.

O hábito de fumar constitui um outro fator que deve ser considerado na amostragem<sup>(90,94,51)</sup>. Foi verificado que os órgãos de indivíduos fumantes apresentam concentrações mais altas de Cd em relação aos não fumantes.

O ambiente geográfico influencia a composição de elementos traços dos pulmões uma vez que há diferença no ar inalado, dependendo do local. Na compilação feita por Vanoeteren e colaboradores<sup>(64)</sup> é apontada uma discreta influência do ambiente geográfico na concentração de alguns elementos traços em tecido pulmonar humano. Em estudos mais recentes elaborados por Tipton e colaboradores<sup>(54,55,56)</sup> eles mencionam outros fatores como "falta de exatidão" devido a sensibilidade insuficiente do método analítico empregado e a algumas deficiências na amostragem e estocagem de amostras.

Há uma correlação entre os elementos traços presentes no pulmão e a composição do ar ambiente, cujo efeito tem sido demonstrado por vários pesquisadores, na tentativa de estabelecer uma correlação entre concentração de elementos traços no pulmão e no ar. Trata-se de um estudo ainda muito complexo, visto que muitos fatores concernentes a inalação, deposição e

limpeza influenciam na relação entre elementos presentes no pulmão e no ar. Somente em casos de exposições excepcionais é permitido fazer correlação entre causa e efeito.

2- Mudanças *post mortem*: sendo as amostras de autopsias coletadas certo tempo após a morte, podem ocorrer mudanças no tecido como inchaço celular, desidratação tecidual, inibição, putrefação e autólise, que causam profundas mudanças na distribuição de elementos traços<sup>(20,22,29)</sup> que podem conduzir à introdução de sérios erros sistemáticos na análise. Esses problemas não podem ser evitados completamente mas seus efeitos podem ser minimizados pela padronização das condições de amostragem, especialmente do fator tempo.

3- Os erros intrínsecos refletem os fatores inerentemente presentes na amostra que podem mascarar os resultados. Estes erros são difíceis de serem detetados pois o analista tem pouco ou nenhum controle sobre eles. Como exemplo de erros intrínsecos podemos citar aqueles decorrentes da contaminação interna das amostras devido a ingestão de medicamentos, devido a hemólise, e da prevalência de condições sub-clínicas e de certas restrições médicas que não podem ser omitidas.

#### COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

O principal requisito na coleta de amostras consiste em manter a matriz biológica intacta em termos do conteúdo dos elementos traços em todas as etapas da amostragem.

Por exemplo, para a análise de elementos traços as

amostras líquidas como sangue e urina devem ser coletadas em tubos de polietileno ou de quartzo de alta pureza e são encaminhadas para o laboratório. No laboratório essas amostras são geralmente levadas para uma sala limpa onde são manuseadas de acordo com a necessidade. Para a análise do soro, o sangue é deixado coagular espontaneamente e o soro é separado por centrifugação, sendo removido com auxílio de pipetas de quartzo.

As amostras sólidas, órgãos ou tecidos como fígado, pulmão, rim, cérebro e outros, logo após a coleta são enviadas aos laboratórios analíticos na forma congelada ou conservadas em solução de formol ou formol + álcool. A preservação de amostras biológicas em conservantes líquidos nem sempre pode ser utilizada devido ao problema de contaminação das amostras com os próprios reagentes.

Os processos mais comuns de tratamento consistem na homogeneização, secagem por liofilização, calcinação seca ou úmida, e todos esses processos de tratamento devem ser executados em sala limpa (classe 100 ou bancada limpa).

O tratamento da amostra depende do elemento a ser determinado e da técnica analítica a ser aplicada. A mais simples consiste em cortar o órgão ou tecido em tamanho adequado utilizando-se faca de titânio ou quartzo. No caso de material esponjoso como o pulmão, deve ser congelado para facilitar o corte<sup>(10,22,92)</sup>. Outra maneira consiste em retirar pedaços do tecido com o auxílio de tubo de quartzo.

Para transformar a amostra biológica bruta em pó fino e homogêneo há uma variedade de artifícios que incluem o uso de um homogeneizador de tubo e pistilo de vidro esmerilhado ou de homogeneizador hidráulico ou de "lâmina" cortante, munido de

diversos tipos de misturadores. Alguns homogeneizadores geram calor e podem alterar a amostra. É o caso do homogeneizador de tecidos de tubo e pistilo esmerilhados, que além de gerar calor só podem ser processadas pequenas quantidades de material por vez. Os homogeneizadores hidráulicos são geralmente construídos de aço inoxidável e ou material plástico variado que podem introduzir traços de contaminantes.

Iyengar e Kaspereck<sup>(21)</sup> introduziram a técnica de homogeneização criogênica (BFT=brittle fractionation technique) para preparação de amostras biológicas que consiste na moagem do tecido em temperatura próxima a do nitrogênio líquido num moinho oscilante de bolas de teflon. Este método produz amostras livres de contaminação, entretanto o modelo idealizado e testado foi para tratamento de pequenas quantidades de amostras desidratadas. Posteriormente Zeisler e colaboradores<sup>(60,70)</sup> do NIST (National Institute of Standards and Technology) adaptando o método descrito por Iyengar e Kaspereck<sup>(21)</sup>, idealizaram um novo moinho de BFT para homogeneização de amostras grandes como órgãos inteiros. Para preservar a integridade das amostras todas as partes do moinho que entram em contacto com a amostra são construídas de teflon PTFE. O material teflon geralmente é muito puro e quimicamente inerte aos processos de limpeza com ácido e solventes orgânicos. Além disso o teflon apresenta propriedades físicas adequadas para ser utilizado a baixa temperatura, mantendo a dureza e firmeza necessárias para fratura e moagem de materiais biológicos congelados.

Os moinhos confeccionados por estes pesquisadores<sup>(70)</sup> foram de dois tipos: um de bola e outro de disco, com capacidade para 50 a 1000 g. Após a homogeneização o



moinho é aberto em caixa gelada para proteger o tecido pulverizado de umidade, contaminação e descongelamento durante a sub amostragem. A desidratação das amostras pode ser feita por secagem, calcinação ou liofilização, sendo a liofilização o processo mais adequado para o caso em que se deseje analisar elementos voláteis.

Para pequenas quantidades de amostras, Donev<sup>(19)</sup> apresenta um aparelho pequeno para homogeneização e secagem de materiais biológicos, que consiste de um homogeneizador e um liofilizador num mesmo conjunto.

#### CONTROLE DE HOMOGENEIZAÇÃO

A condição adequada para homogeneização das amostras biológicas pode ser estabelecida de duas maneiras:

1- adicionando-se traçador radioativo como, por exemplo, o <sup>24</sup>Na ou uma pequena aliquota da amostra irradiada no reator na amostra total a ser homogeneizada. Após a homogeneização, para o exame da homogeneidade, tomam-se diferentes aliquotas das amostras para a medida da atividade.

2- fazendo-se análise por ativação de diversas aliquotas da amostra, verificando-se a reprodutibilidade dos resultados obtidos.

Como exemplos de trabalhos para estudo de homogeneidade das amostras biológicas podem ser citados Zeisler e colaboradores<sup>(20)</sup> que fizeram o teste pela análise

multielementar por INAA e Donev<sup>(48)</sup> pela determinação de sódio por NAA. Esses autores, por meio destes testes chegaram a conclusão de que a homogeneização criogênica é o melhor método de homogeneização para amostras biológicas.

## CONTAMINAÇÃO

A contaminação das amostras durante a sua coleta e a sua preparação é um dos fatores que conduzem à obtenção de resultados falsos na análise. A extensão da contaminação depende da concentração do elemento a ser determinado. Níveis inferiores a nanogramas por grama do material requer inevitavelmente o uso de capelas de fluxo laminar classe 100.

Os problemas de contaminação na coleta de fluidos e tecidos biológicos com instrumentos de aço inoxidável como agulhas hipodérmicas e lâminas de bisturi, são bem conhecidos, particularmente pelos elementos Cr, Co, Mn, Mo e Ni. Tem sido sugerido o uso de cateteres de polipropileno<sup>(41,69)</sup> e facas de Ti ou quartzo<sup>(10,32,69)</sup>. A limpeza prévia das amostras é feita usando-se água bidestilada ou retirando-se finos cortes de toda a superfície do órgão ou tecido com lâmina de titânio.

Ure e colaboradores<sup>(50)</sup> no estudo do efeito da técnica de moagem e dos materiais utilizados nesta operação, em amostras de fígado, verificaram que as contaminações por Cr e Ti são, respectivamente, 20 e 3 vezes maiores quando se utiliza homogeneizador com faca de aço inoxidável ao invés de almofariz e pistilo de ágata.

Para evitar o problema de contaminação, dependendo

do elemento e da sua concentração, é necessário trabalhar em cabine de fluxo laminar, classe 100 onde o fluxo de partículas menores que 0,5  $\mu\text{m}$  é menor que 100 partículas/ $\text{ft}^3$ . Além disso, uma série de cuidados devem ser tomados pelos analistas como o uso de aventais confeccionados com materiais plásticos não adsorventes, toucas ou capuzes para cobrir cabelos e barbas, uso de óculos de proteção, luvas sem talco etc. Para evitar a contaminação de um laboratório classe 100 também não é permitido o uso excessivo de maquilagem, o uso de lapis e borracha, o uso de jóias, que poderiam soltar partículas que podem contaminar o ar.

Além da contaminação, podem ocorrer perdas dos elementos traços durante a estocagem, através da adsorção sobre as paredes do recipiente. A secagem dos tecidos ou fluidos, antes da armazenagem, tem sido muitas vezes aplicada para evitar estes riscos. As perdas através dos recipientes dependem da composição química da amostra (acidéz, estabilidade, forma química, concentração) e da natureza do frasco coletor (material e superfície). Cuidados especiais devem ser tomados para os elementos Hg e Se que podem-se difundir através dos recipientes de polietileno para a atmosfera.

Um outro fator que deve ser salientado quando se trabalha com materiais biomédicos é a precaução que o analista deve tomar para proteção contra doenças infecto-contagiosas como hepatite B, AIDS etc. É de grande importância que seja feita a análise do sangue do doador com relação a essas doenças, antes do envio das amostras para os laboratórios de análise química.

## CAPITULO III

### PARTE EXPERIMENTAL

#### III.1- COLETA DE AMOSTRAS DE PULMÃO HUMANO:

As amostras de pulmão foram coletadas em autópsias na Faculdade de Medicina da USP, de indivíduos fumantes e não fumantes cujas *causa-mortis* não foram por doenças pulmonares crônicas. As autópsias foram realizadas dentro de 6 a 12 horas *post mortem*, tendo sido seccionados e coletados de 10 a 30 g de tecido pulmonar macroscòpicamente normal do lobo inferior direito e linfonodos do hilo pulmonar. O material foi embrulhado em folha de alumínio ou saco de plástico limpos, e imediatamente congelado em nitrogênio líquido para posterior envio ao nosso laboratório, numa caixa de isopor, juntamente com as características individuais dos doadores, relacionadas na Tabela III.1.

No nosso laboratório as amostras foram conservadas em um "freezer" até o seu tratamento prévio, para as análises.

Na coleta, os grupos de indivíduos foram selecionados quanto ao hábito de fumar, sendo todos adultos, com idade variando de 34 a 74 anos. Um grupo era composto de 6 indivíduos não fumantes e outro de 7 fumantes.

Tabela III.1

Identificação das Amostras com as Características dos Indivíduos Doadores

Procedência: Cidade de São Paulo.

Amostra no.	Sexo	Idade	Hábito*	Profissão	<i>causa mortis</i>	Doença
5741/88	M	61 a	NF	- (x)	Edema Agudo Pulmonar	Infarto Agudo Miocárdio
5742/88	M	52 a	F	-	Edema Agudo Pulmonar	Insuficiência Cardíaca Congestiva Descompensada
5744/88	F	64 a	NF	Prendas domésticas	Acidente Vascular Cerebral	Hipertensão Arterial Sistêmica
5767/88	F	43 a	NF	-	Indeterminada	Doença Chagas
5778/88	M	44 a	NF	Mecânico	Edema Cerebral	Acidente Vascular Cerebral
6457/88	F	58 a	NF	Prendas domésticas	Edema Agudo Pulmonar	Infarto Miocárdio
6459/88	F	74 a	NF	-	Infarto Agudo Miocárdio	Cardiopatia Hipertensiva
6468/88	M	53 a	F	Servente pedreiro	Edema Agudo Pulmonar	Broncopneumonia
6464/88	M	48 a	F	Pedreiro	Edema Agudo Pulmonar	Acidente Vascular Cerebral
8042/90	M	34 a	F	-	Peritonite Aguda	Úlcera Crônica Duodenal Perfurada
1475/90	M	69 a	F	Aposentado	Insuficiência Respiratória	Edema Pulmonar-Fibrose Cirrose Hepática
1488/90	M	55 a	F	Aposentado	Infarto Agudo Pulmonar	Arteriosclerose
1778/90	M	59 a	F	Aposentado	Infarto Agudo Pulmonar	Arteriosclerose

\* Hábito de Fumar: NF = Não Fumante

F = Fumante

(x) - Informação não obtida

### III.2- TRATAMENTO PRÉVIO DAS AMOSTRAS DE PULMÃO

Para obtenção do material na forma adequada para análise por ativação com nêutrons, foram realizados ensaios preliminares para o tratamento prévio das amostras.

#### III.2.1- ENSAIOS PRELIMINARES PARA TRATAMENTO PRÉVIO DAS AMOSTRAS DE PULMÃO.

Primeiramente, baseando-se no trabalho de Vanoeteren e colaboradores<sup>(60)</sup>, cerca de 20 g de tecido pulmonar foram submetidos a liofilização por cerca de 48 horas, onde obteve-se uma perda de peso de cerca de 82%. Em seguida este tecido pulmonar seco foi submetido a moagem manual. Entretanto, devido ao tipo de tecido esponjoso, encontrou-se dificuldade para obtenção do material na forma de pó fino e homogêneo, descartando-se portanto a operação de liofilização direta seguida de moagem do material liofilizado.

Tentou-se também utilizar no tratamento das amostras de pulmão um disruptor de células, da marca Sonifier Cell Disruptor modelo W 185 D da Heat Systems - ULTRASONICS INC., muito utilizado para obtenção de homogeneizados de tecidos biológicos. Entretanto devido a impossibilidade de evitar o contato direto da ponteira do aparelho, de aço inoxidável, com a amostra, a homogeneização com este aparelho não foi utilizada. Como já é conhecido, o uso de instrumental cirúrgico de aço inoxidável pode provocar contaminação de amostras biomédicas.

A metodologia empregada para a homogeneização das

amostras de pulmão foi estabelecida adaptando-se os métodos empregados por Iyengar e Kaspereck <sup>(24)</sup>; Zeisler e colaboradores <sup>(25)</sup> e Donev <sup>(26)</sup>. Este processo consiste na homogeneização criogênica seguida de liofilização e esterilização. Detalhes deste processo serão descritos a seguir, no item III.2.2.

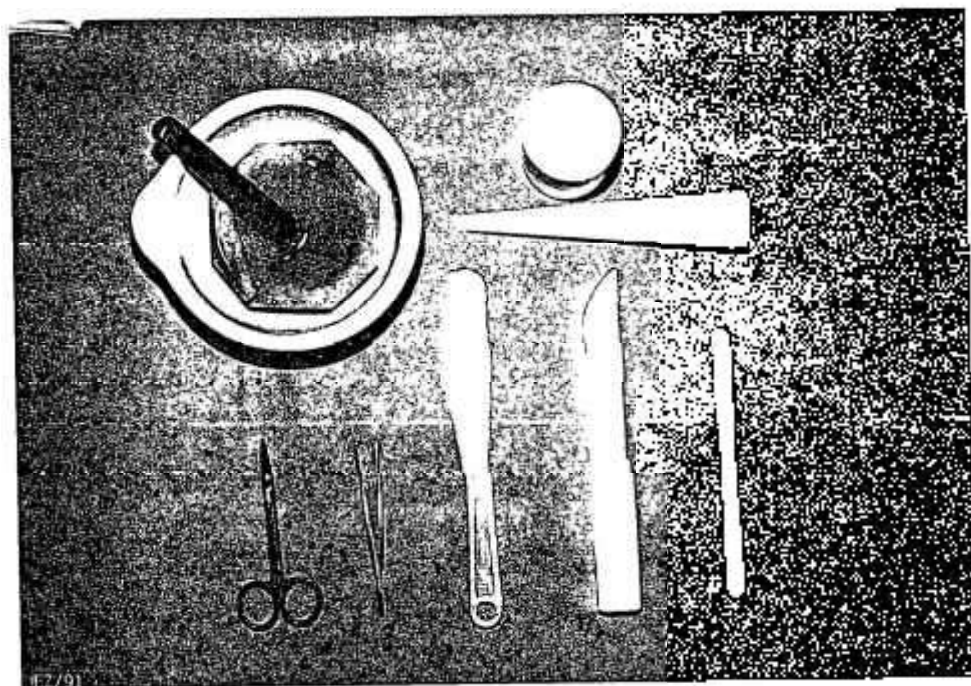
A homogeneidade das amostras de pulmão foi verificada realizando-se pelo menos três determinações de cada elemento, no tecido pulmonar da amostra no. 5471. Os resultados obtidos neste ensaio, serão apresentados no Capítulo IV, referente a Resultados e Discussão.

### III.2.2- METODOLOGIA ADOTADA PARA O TRATAMENTO PRÉVIO DAS AMOSTRAS:

Este procedimento foi realizado dentro de um *glove box*, para evitar a contaminação das amostras com poeiras e gases do laboratório, utilizando-se luvas descartáveis sem talco.

Inicialmente o tecido pulmonar congelado foi fragmentado com auxílio de tubo de quartzo e faca de titânio que foi confeccionada com lâmina de titânio adquirida na IAEA por intermédio do Dr. Eduardo Cortez Toro, em cabo de teflon. A moagem foi feita manualmente em almofariz de ágata ou de teflon imerso em banho de nitrogênio líquido, com auxílio de pistilo de ágata. No caso dos linfonodos, foi removido o tecido adiposo envolvente com auxílio de tesoura e pinça cirúrgicas e depois lavados em água bidestilada. Na Figura III.1 apresentamos a foto dos materiais utilizados neste procedimento.

Figura III.1 - Materiais utilizados no pré-tratamento das amostras de pulmão



Escala aproximada de 1:4



A liofilização foi feita num liofilizador da marca Metal Lux Model 5001, na temperatura de  $-40$  a  $-50$  °C e pressão de vácuo de  $4 \times 10^{-2}$  mm Hg durante cerca de 30 horas<sup>(43)</sup>. A seguir o material foi colocado em frasco de polietileno com auxílio de espátula de plástico. Para conservação da amostra, esta foi esterilizada num irradiador de  $^{60}\text{Co}$  GAMMA CELL 220 da Atomic Energy of Canada Limited com taxa de dose de  $9,51 \times 10^2$  Gy/h, por um período de 20 horas. As amostras secas e esterilizadas acondicionadas em frascos de polietileno foram mantidas em um dessecador a temperatura ambiente.

No processo de liofilização verificou-se uma porcentagem de perda de peso, de cerca de 82,7% para amostras de tecido pulmonar e de 81,7% para os linfonodos

### III.3- METODO ANALITICO:

A determinação de elementos traços em amostras de pulmão foi feita utilizando-se o método instrumental de ativação com nêutrons comparativa. Este método consiste na irradiação simultânea de amostras e padrões sintéticos dos elementos de interesse com nêutrons do reator seguida de medida da radioatividade gama induzida para posterior identificação dos radioisótopos formados e comparação das taxas de contagens dos radioisótopos formados na amostra e padrão para análise quantitativa.

### III.3.1- PREPARAÇÃO DOS PADRÕES SINTÉTICOS:

As soluções padrões primárias foram preparadas de acordo com a Tabela III.2, dissolvendo-se com reagentes apropriados os elementos na forma de metais ou compostos de composição química bem conhecida e com alto grau de pureza. A água utilizada para diluição foi a destilada em aparelho de quartzo. Estas soluções estoques foram acondicionadas em frascos de polietileno e as concentrações das soluções estoques de cada um dos elementos foram superiores a 1 mg/ml, para evitar contaminação ou perda por adsorção.

O exame da pureza radioativa das soluções padrões primárias foi feito irradiando-se alíquotas destas soluções, secas num suporte de papel de filtro Whatman 42 e, fazendo-se as medidas das atividades gama, num detetor de Ge hiperpuro. Uma vez comprovada a pureza destas soluções estoques, as mesmas foram diluídas, ou preparadas soluções mistas dos elementos com concentrações adequadas para a medida das contagens.

Os padrões sintéticos foram preparados pipetando-se alíquotas das soluções padrões dos elementos sobre tiras de 20x10 mm de papel de filtro Whatman 42 e secando-as, em seguida, sob uma lâmpada de raios infra vermelhos ou num dessecador. Na Tabela III.2 também são apresentadas as massas de cada um dos elementos irradiados, bem como o conjunto de elementos que constituíram os padrões mistos C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>4</sub> e L<sub>5</sub>. Convém ressaltar que a massa de cada elemento no padrão variou de 1 a 600 vezes a massa do elemento presente em 50 mg de amostra.

Tabela III.2  
Preparação das Soluções Padrões

Padrão	Elemento	Composto utilizado Tratamento prévio	Dissolução	Concentração em ng/ml solução estoque	Massa irradiada ( $\mu\text{g}$ )
C <sub>1</sub>	Cl	NaCl p.a. Merck fusão 800 °C, 2 h	água	15,602	780,099
	Na			10,117	505,860
C <sub>2</sub>	K	KNO <sub>3</sub> p.a. Merck	água	9,998	999,827
	Mn	MnO <sub>2</sub> p.a. Merck	gotas HNO <sub>3</sub> conc. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> a quente	0,512	5,119
L <sub>1</sub>	Au	Au metálico	HNO <sub>3</sub> conc. + HCl conc. a quente	0,230	0,023
	Co	Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> JMC	HNO <sub>3</sub> conc. quente	1,56	0,312
	La	La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> espectroscó- picamente puro BDH 800 °C, 2h	gotas HNO <sub>3</sub> diluíd a quente	0,879	0,088
	Sb	Sb metálico JMC	água régia. ácido tartárico 10%	1,004	0,402
	Zn	Zn metálico p.a. Merck	gotas HNO <sub>3</sub> conc.	0,986	98,6
L <sub>2</sub>	Cr	K <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub> p.a. Reagen	água	1,006	2,0
	Cs	CsCl p.a. BDH	água	0,489	0,049
	Rb	RbCl p.a. 98,5% Carlo Erba	água	0,482	24
	Sc	Sc <sub>2</sub> O <sub>3</sub> p.a. JMC	gotas HNO <sub>3</sub> conc. a quente	0,216	0,022
L <sub>3</sub>	Eu	Eu <sub>2</sub> O <sub>3</sub> JMC espectroscó- picamente puro 800 °C, 2 h	HNO <sub>3</sub> dil. ligeiro aquecimento	0,966	0,099
	Fe	Fe metálico p.a. Merck pré-lavagem HNO <sub>3</sub> dil.	gotas HNO <sub>3</sub> conc. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	15,422	771,1
	Se	Se metálico p.a. Rhiedel	água régia	0,994	3,976
L <sub>4</sub>	Ce	CeO <sub>2</sub> JMC, 800 °C, 2h	HF+HCl+HNO <sub>3</sub> quente	1,000	2,00
	Hf	HfO <sub>2</sub> JMC	HF+HCl+HNO <sub>3</sub> quente	1,000	0,50
	Th	ThO <sub>2</sub> JMC, 800 °C, 2h	HF+HCl+HNO <sub>3</sub> quente	1,000	1,00
L <sub>5</sub>	Br	KBr p.a. Merck	água	5,41	10,082

JMC = Johnson Mattheys Chemicals Limited

BDH = The British Drug Houses Ltd

Volume de cada solução = 25 ml. Diluição feita com água desionizada e destilada em aparelho de quartzo.

### III.3.2- ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES DE IRRADIAÇÃO PARA ANÁLISE.

Para estabelecer as condições adequadas para irradiação das amostras de pulmão foram realizados ensaios preliminares para duas condições de irradiação: curta e longa.

#### III.3.2.a- IRRADIAÇÃO CURTA

Foram feitos testes no sentido de obter as condições adequadas para a determinação de um maior número de elementos. Estes testes consistiram de análises qualitativas de uma determinada amostra de pulmão. Foram pesadas quatro alíquotas de cerca de 50 mg de uma mesma amostra de tecido pulmonar e de linfonodos previamente homogeneizadas e secas. Estas amostras foram submetidas a irradiações no reator e foram feitas medidas das atividades induzidas para identificação dos radioisótopos formados.

As condições empregadas nestes ensaios, bem como os radioisótopos obtidos nas contagens em detetor de Ge hiperpuro ligado a um multianalisador de raios gama são dados na Tabela III.3.

No ensaio número 3 foram feitas contagens para diferentes tempos de decaimento para identificação do  $^{98}\text{Cl}$  e  $^{56}\text{Mn}$ . Fazendo o gráfico do logaritmo das taxas de contagens em função do tempo de decaimento para o pico de energia gama de 1642

Tabela III.3

Ensaio Realizados para Identificação de Radioisótopos de Meias-vidas Curtas - Estabelecimento das Condições para Determinação em Amostras de Pulmão.

Ensaio numero	Tempo Irradiação	Fluxo nêutrons (n.cm <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	Tempo Decaimento	Radioisótopos Identificados
1	5 min	1,69 x 10 <sup>12</sup>	90 min	<sup>24</sup> Na; <sup>38</sup> Cl
2	30 min	1,69 x 10 <sup>12</sup>	2,5 h	<sup>24</sup> Na; <sup>42</sup> K; <sup>38</sup> Cl
3	10 min	3,72 x 10 <sup>11</sup>	5 min	<sup>24</sup> Na; <sup>42</sup> K; <sup>38</sup> Cl; <sup>56</sup> Mn
4	30 min	3,72 x 10 <sup>11</sup>	35 min	<sup>24</sup> Na; <sup>42</sup> K; <sup>38</sup> Cl; <sup>56</sup> Mn; <sup>27</sup> Ni
			90 min	<sup>24</sup> Na; <sup>42</sup> K; <sup>38</sup> Cl; <sup>56</sup> Mn
			17 h	<sup>24</sup> Na; <sup>42</sup> K; <sup>82</sup> Br

keV obteve-se o valor de meia vida de cerca de 37 minutos, correspondendo ao pico do  $^{38}\text{Cl}$  cuja meia vida é 37,29 minutos. Para o fotopico de energia de 846 keV, que corresponde ao  $^{56}\text{Mn}$ , o gráfico obtido foi aquele característico de curva de decaimento misto. Após análise verificou-se que essa curva era composta de decaimento do  $^{27}\text{Mg}$ , cuja meia vida é de 9,45 minutos e do decaimento do  $^{56}\text{Mn}$  cuja meia vida é de 2,58 horas. Portanto para se determinar o Mn utilizando o fotopico de 846 keV de energia, livre da interferência do  $^{27}\text{Mg}$ , a contagem foi feita após um tempo de decaimento de cerca de 90 minutos.

A partir destes ensaios estabeleceram-se as seguintes condições para análise de Cl, K, Mn e Na nas amostras de tecido pulmonar e linfonodos:

1- massa da amostra de cerca de 50 mg em invólucro de plástico medindo cerca de 15x15 mm. Soluções de padrões sintéticos mistos C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>.

2- Irradiação por 30 minutos, na Estação Pneumática no.4 sob fluxo de nêutrons de  $3,7 \times 10^{14} \text{ n. cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

3- Contagem das amostras após tempo de decaimento de cerca de 90 minutos no detetor de Ge hiperpuro acoplado a um multianalisador de raios gama e a um minicomputador da Hewlett Packard.

4- Tempo de contagem das amostras, para o elemento cloro foi de 10 minutos, sendo que para os demais elementos foram feitas contagens de 15 a 20 minutos, dependendo da atividade da amostra.

### III.3.2.b- IRRADIAÇÃO LONGA

Os testes consistiram na análise qualitativa de elementos em 50 mg de amostra de tecido pulmonar, acondicionada em envelope duplo de plástico e embrulhada em folha de alumínio. As medidas das taxas de contagens destas amostras foram feitas no detetor de Ge(Li), trocando-se somente a folha de alumínio envolvente, deixando o invólucro de plástico devido a aderência da amostra em alguns casos.

As condições empregadas nestes ensaios bem como os radioisótopos obtidos nas irradiações são apresentados na Tabela III.4.

A partir destes ensaios estabeleceram-se as seguintes condições para análise de elementos de meias vidas longas em amostras de tecido pulmonar e linfonodos.

1- massa da amostra de cerca de 50 mg em invólucro duplo de plástico medindo cerca de 15x15mm. Soluções padrões mistas Li, L2, L3, L4 e L5.

2- Irradiação por 16 horas na posição 268 do núcleo do reator, sob fluxo de nêutrons da ordem de  $10^{19} \text{ n}^{-2} \text{ s}^{-1}$

3- Contagem das amostras por cerca de 3000 segundos, após tempo de decaimento de cerca de 5 dias para determinação dos seguintes elementos: Au, Br, La e Sb.

4- Contagem das amostras por cerca de 40000 segundos após tempo

Tabela III.4

Ensaio Realizados para Identificação de Radioisótopos de Meias-Vidas Longas -  
Estabelecimento das Condições para Determinação em Amostras de Pulmão.

Fluxo nêutrons	$10^{12} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$				$10^{13} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$
Tempo Irradiação	8 h	16 h	24 h	32 h	16 h
Tempo Decaimento					
cerca 5 dias	$^{198}\text{Au}$ ; $^{82}\text{Br}$ ; $^{141}\text{Ce}$ ; $^{56}\text{Fe}$ ; $^{24}\text{Na}$ ; $^{122}\text{Sb}$ ; $^{65}\text{Zn}$	$^{82}\text{Br}$ ; $^{42}\text{K}$ ; $^{140}\text{La}$ ; $^{24}\text{Na}$ ; $^{122}\text{Sb}$			$^{198}\text{Au}$ ; $^{82}\text{Br}$ ; $^{141}\text{Ce}$ ; $^{60}\text{Co}$ ; $^{59}\text{Fe}$ ; $^{140}\text{La}$ ; $^{24}\text{Na}$ ; $^{122}\text{Sb}$ ; $^{65}\text{Zn}$
cerca 10 dias				$^{198}\text{Au}$ ; $^{141}\text{Ce}$ ; $^{60}\text{Co}$ ; $^{51}\text{Cr}$ ; $^{134}\text{Cs}$ ; $^{152}\text{Eu}$ ; $^{56}\text{Fe}$ ; $^{181}\text{Hf}$ ; $^{86}\text{Rb}$ ; $^{46}\text{Sc}$ ; $^{122}\text{Sb}$ ; $^{124}\text{Sb}$ ; $^{75}\text{Se}$ ; $^{233}\text{Pa}$ ; $^{65}\text{Zn}$	
cerca 15 dias	$^{141}\text{Ce}$ ; $^{82}\text{Br}$ ; $^{134}\text{Cs}$ ; $^{86}\text{Rb}$ ; $^{122}\text{Sb}$ ; $^{46}\text{Sc}$ ; $^{65}\text{Zn}$	$^{198}\text{Au}$ ; $^{82}\text{Br}$ ; $^{60}\text{Co}$ ; $^{51}\text{Cr}$ ; $^{152}\text{Eu}$ ; $^{59}\text{Fe}$ ; $^{24}\text{Na}$ ; $^{86}\text{Rb}$ ; $^{122}\text{Sb}$ ; $^{46}\text{Sc}$	$^{82}\text{Br}$ ; $^{60}\text{Co}$ ; $^{141}\text{Ce}$ ; $^{51}\text{Cr}$ ; $^{134}\text{Cs}$ ; $^{152}\text{Eu}$ ; $^{59}\text{Fe}$ ; $^{140}\text{La}$ ; $^{181}\text{Hf}$ ; $^{86}\text{Rb}$ ; $^{122}\text{Sb}$ ; $^{124}\text{Sb}$ ; $^{46}\text{Sc}$ ; $^{75}\text{Se}$ ; $^{65}\text{Zn}$		$^{141}\text{Ce}$ ; $^{60}\text{Co}$ ; $^{51}\text{Cr}$ ; $^{134}\text{Cs}$ ; $^{152}\text{Eu}$ ; $^{59}\text{Fe}$ ; $^{181}\text{Hf}$ ; $^{86}\text{Rb}$ ; $^{46}\text{Sc}$ ; $^{75}\text{Se}$ ; $^{233}\text{Pa}$ ; $^{65}\text{Zn}$
cerca 20 dias				$^{141}\text{Ce}$ ; $^{60}\text{Co}$ ; $^{51}\text{Cr}$ ; $^{134}\text{Cs}$ ; $^{152}\text{Eu}$ ; $^{59}\text{Fe}$ ; $^{181}\text{Hf}$ ; $^{86}\text{Rb}$ ; $^{122}\text{Sb}$ ; $^{124}\text{Sb}$ ; $^{46}\text{Sc}$ ; $^{75}\text{Se}$ ; $^{233}\text{Pa}$ ; $^{65}\text{Zn}$	



de decaimento de cerca de 15 dias para determinação de Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, Rb, Sc, Se, Th e Zn.

As condições para análise foram estabelecidas visando determinar o maior número de elementos possível, em menor tempo de irradiação e de decaimento, para obtenção de taxas de contagens com desvios padrões menores e sem o risco de ruptura do invólucro da amostra.

Os resultados obtidos nas análises das amostras de pulmões serão apresentados no Capítulo IV, referente a Resultados e Discussão.

### III.3.3- ANÁLISE DO BRANCO

Consistiu da análise do invólucro de plástico para determinar as possíveis impurezas nele existentes e que pudessem interferir na análise das amostras de pulmão.

No invólucro de plástico foram detectados os elementos Br, Ce, Co, Cr, Sc, Th e Zn em quantidades desprezíveis em relação à massa destes elementos em 50 mg de amostra de pulmão, como será mostrado no Capítulo de Resultados e Discussão.

### III.3.4- METODOLOGIA ADOTADA PARA ANÁLISE INSTRUMENTAL POR ATIVAÇÃO COM NEUTRONS.

#### III.3.4.1- ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS E PADRÕES PARA IRRADIAÇÃO NO REATOR:

Com a finalidade de analisar o maior número de elementos presentes nas amostras de pulmão, foram realizadas duas séries de irradiações: curtas e longas. Para cada tipo de irradiação foram pesados cerca de 50 mg de cada amostra em invólucro de plástico, medindo cerca de 15x15 mm. Este invólucro de plástico foi confeccionado com auxílio de um ferro elétrico de solda e papel celofane, tendo sido o plástico previamente limpo com solução de ácido nítrico p.a. diluído 1:10 ou com álcool etílico p.a. e água bidestilada. Para irradiação por um período longo a amostra foi colocada em dois invólucros de plástico os quais foram embrulhados em folha de alumínio de uso doméstico.

Os padrões sintéticos secos em tiras de papel de filtro foram dobrados e colocados em invólucros de plástico e acondicionados da mesma maneira que as amostras: um invólucro simples para irradiação curta e invólucro duplo de plástico embrulhado em folha de alumínio para irradiações longas, previamente limpos com álcool etílico p.a.

As amostras, juntamente com os padrões foram colocadas em dispositivos apropriados chamados de coelhos, para irradiação no reator nuclear. Os coelhos de polietileno foram para ativação curta e os de alumínio para irradiações longas.

### III.3.4.2- IRRADIAÇÕES:

As amostras foram irradiadas no reator nuclear de pesquisas IEA-R1 do IPEN, CNEN/SP, em duas séries:

### III.3.4.2a- IRRADIAÇÃO CURTA

As irradiações curtas foram realizadas no sistema pneumático de irradiação ( Estação 4 ) sob fluxo de nêutrons da ordem de  $3,7 \times 10^{14} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , durante 30 minutos. Os padrões sintéticos utilizados nesta série de ativação foram C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>. As medidas de atividades foram feitas após cerca de 90 minutos de decaimento, tendo sido determinados os elementos Cl, K, Mn e Na.

### III.3.4.2b- IRRADIAÇÃO LONGA

As irradiações longas foram feitas no núcleo do reator, na posição 26B, sob fluxo de nêutrons da ordem de  $10^{19} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$  durante 16 horas. As contagens foram feitas após 5 dias de decaimento para determinação de Au, Br, La e Sb e após cerca de 15 dias, sendo determinados Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, Rb, Sc, Se, Th e Zn.

### III.3.5- MEDIDAS DA RADIAÇÃO GAMA

As amostras e os padrões irradiados foram montados em pranchetas de aço inoxidável com três centímetros de diâmetro. No caso das amostras obtidas na irradiação longa a embalagem de folha de alumínio foi trocada e a contagem foi feita com a embalagem dupla de plástico.

No presente trabalho foram usados dois sistemas de contagens: o sistema número 1 constituído de

- detetor de Ge hiperpuro série Pop Top da EG & G Ortec
- analisador de 4096 canais, Hewlett Packard (HP) modelo 5422B
- fonte de alta tensão modelo 459 EG & G Ortec
- gerador de pulsos Modelo 419, EG & G Ortec
- amplificador modelo 572 EG & G Ortec
- minicomputador 2100 A da Hewlett Packard
- impressora da Hewlett Packard

A resolução deste sistema foi de 1,35 keV para o pico de 121,97 keV do  $^{57}\text{Co}$  e de 2,0 keV para 1332,49 keV do  $^{60}\text{Co}$ .

Este sistema foi utilizado para determinação de elementos de meias vidas curtas e a análise dos espectros de raios gama foram realizadas utilizando-se programa de computação FALA<sup>(91)</sup> em linguagem BASIC desenvolvido na Divisão de Radioquímica do IPEN.

É o sistema número 2 denominado de " Sistema Enertec " constituído de:

- detetor de Ge hiperpuro marca ENERTEC
- analisador multicanal de 4096 canais modelo 7450 da EG & G Ortec
- microcomputador Nyda 200 Plus da linha IBM/PC
- Impressora Amélia PC
- Acessórios ( fonte de alta tensão, amplificador )

A resolução deste sistema foi de 2,4 keV para o pico de 1332 keV do  $^{60}\text{Co}$  e 1,15 keV para 122 keV do  $^{57}\text{Co}$ .

As análises dos espectros de raios gama neste caso foram realizadas utilizando-se programa de computação TFR, nova versão do programa FALA em linguagem Pascal. Este programa fornece

as energias e as áreas dos picos correspondentes e seus desvios padrões calculados pelo método de Covell<sup>(12)</sup>.

Este sistema também possibilita o processamento dos espectros pelo programa VISPENB2, em linguagem TURBOBASIC, que utiliza a técnica da transcorrelação<sup>(5)</sup> para a resolução dos picos e obtenção das áreas e energia dos raios gama. A aplicação deste programa permite a determinação, pelo método instrumental de ativação com nêutrons, de um grande número de elementos, devido a possibilidade de resolução de picos sobrepostos.

O uso do sistema número 1 ou 2 dependeu da sua disponibilidade na ocasião da contagem das amostras. Foram realizadas comparações entre os resultados dos espectros processados pelos dois programas de computação TFR e VISPENB2, utilizados neste trabalho e os resultados obtidos estão apresentados no Capítulo IV.

### III.3.6- IDENTIFICAÇÃO DOS RADIOISÓTOPOS

Obtendo-se as energias exatas dos picos, torna-se necessária a consulta a uma tabela de energias de raios gama para identificação dos radioisótopos. São encontradas na literatura tais tabelas contendo valores das energias dos raios gama dos radionuclídeos produzidos por captura neutrônica e suas meias vidas. A identificação dos radioisótopos, no presente trabalho, foi feita consultando a tabela de energia de raios gama e de meias vidas dos radioisótopos formados na reação  $(n, \gamma)$  compilada por Adams e Dams<sup>(1)</sup>.

As principais características nucleares dos

radioisótopos utilizados são apresentadas na Tabela III.5.

### III.3.7- CÁLCULO DAS CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS

Uma vez que cada radioisótopo formado na ativação possui características de emissão próprias como meia vida e energias de radiações gama emitidas, irradiando-se padrão e amostra nas mesmas condições e fazendo-se contagens na mesma geometria, podemos determinar a massa de cada elemento comparando as atividades das radiações gama emitidas na amostra e no padrão. Sendo a radioatividade induzida proporcional à massa do elemento, obtendo-se as taxas de contagens da amostra e do padrão e conhecendo-se a massa do elemento em estudo no padrão, podemos calcular a massa do elemento na amostra por uma simples comparação, isto é, aplicando a relação:

$$m_a = \frac{A_{0a}}{A_{0p}} \times m_p \quad (III. 1)$$

sendo  $m$  = massa do elemento em estudo

$A_0$  = taxa de contagem para tempo de decaimento  $t=0$

os índices  $a$  e  $p$  referem-se aos dados da amostra e do padrão, respectivamente.

Consequentemente a concentração do elemento na amostra será:

$$C_a = \frac{A_{0a}}{A_{0p}} \times \frac{m_p}{M_a} \quad (III. 2)$$

Tabela III.5

Principais Características Nucleares dos Radioisótopos Analisados (1)

Elemento	Radioisótopo Identificado	Energia (keV)	Meia vida	Abundância Isotópica (%)	Seccão de Choque (Barns)
Au	$^{198}\text{Au}$	411	2,7 d	100	98,8
Br	$^{82}\text{Br}$	777	35,87 h	49,46	3,3
Ce	$^{141}\text{Ce}$	145	32,5 d	88,48	0,31
Cl	$^{38}\text{Cl}$	1642	37,29 min	24,47	0,6
Co	$^{60}\text{Co}$	1173	5,24 a	100	16
Cr	$^{51}\text{Cr}$	320	27,8 d	4,31	16
Cs	$^{134}\text{Cs}$	795	2,07 a	100	30
Eu	$^{152}\text{Eu}$	1407	12,2 a	47,82	$7,8 \cdot 10^3$
Fe	$^{59}\text{Fe}$	1099	45,1 d	0,33	1,01
Hf	$^{181}\text{Hf}$	482	44,6 d	35,24	10
K	$^{42}\text{K}$	1542	12,52 h	6,48	1,24
La	$^{140}\text{La}$	1596	40,27 h	99,911	8,2
Mn	$^{56}\text{Mn}$	846	2,58 h	100	13,2
Na	$^{24}\text{Na}$	1368	15,0 h	100	0,536
Rb	$^{86}\text{Rb}$	1077	18,66 d	72,15	0,91
Sb	$^{122}\text{Sb}$	564	2,75 d	57,25	7
Sc	$^{46}\text{Sc}$	889	83,9 a	100	22
Se	$^{75}\text{Se}$	265	121 d	0,27	26
Th	$^{233}\text{Th} \xrightarrow{\beta^-} ^{233}\text{Pa}$	312	27 d	100	7,2
Zn	$^{65}\text{Zn}$	1115	245 d	48,89	0,47

onde  $M_a$  é a massa de amostra utilizada para análise.

$$\text{Sabendo-se que } A = A_0 \times e^{-\lambda t} \text{ e que}$$

$$\lambda = 0,693/T_{1/2} \text{ e } t = \text{tempo de decaimento,}$$

substituindo-se em (III. 2), teremos:

$$C_a = \frac{A_a}{A_p} \times \frac{m_p}{M_a} \times e^{\frac{0,693}{T_{1/2}} (t_{Ra} - t_{Rp})} \quad (\text{III. 3})$$

sendo:

$C_a$  = concentração do elemento na amostra

$A_a$  = taxa de contagem do radioisótopo formado na amostra

$A_p$  = taxa de contagem do radioisótopo formado no padrão

$M_a$  = massa da amostra

$m_p$  = massa do elemento no padrão

$t_{Ra}$  e  $t_{Rp}$  = tempo de decaimento da amostra e do padrão

$T_{1/2}$  = meia vida do radioisótopo formado

Como se vê na relação (III.3), para o cálculo das concentrações dos elementos, deve-se levar em consideração os tempos de decaimento da amostra e padrão. No caso dos radioisótopos de meias vidas curtas, deve-se considerar também o decaimento durante a contagem e nesse caso, foi considerado como tempo de decaimento o tempo decorrido entre a saída da amostra do reator e o início da contagem somado à metade do tempo de contagem. Para os radioisótopos de meias vidas longas o tempo de decaimento foi calculado em relação ao início da medida, visto que o decaimento dos radioisótopos de meias vidas longas durante



a contagem é desprezível.

#### III.4- ESTUDO DA EXATIDÃO DO MÉTODO

Para examinar a exatidão do método foram analisados os seguintes materiais de referência:

- Animal Muscle - H-4 da International Atomic Energy Agency (IAEA).
- Bovine Liver - SRM 1577a do National Institute of Standards and Technology ( NIST ).
- Bowen's Kale da International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).
- Vehicle Exhaust Particulates do National Institute for Environmental Studies (NIES).

As secagens dos materiais de referência utilizados foram realizadas de acordo com os procedimentos recomendados nos seus respectivos certificados<sup>(37,99,64)</sup>, utilizando-se em cada secagem cerca de 200 mg de material pesado em pesa filtro. Os valores das porcentagens de perda de peso e as condições utilizadas para as secagens acham-se relacionados na Tabela III.6.

As análises foram feitas de acordo com a metodologia adotada para a análise de amostras de pulmão.

No cálculo das concentrações dos elementos nesses materiais de referência foram consideradas as perdas de peso obtidas nas secagens.

Os resultados das análises desses materiais de referência serão apresentados no capítulo referente a Resultados

Tabela III.6

Valores das Porcentagens de Perda de Peso e as Condições de Secagem dos Materiais de Referência

Material	Tempo de Secagem(h)	Temperatura °C	Porcentagem de Perda
Bovine Liver 1577a (NIST)	2	85	5.48
Animal Muscle H-4 (IAEA)	2	85	6.95
Vehicle Exhaust Particulate no.8 (NIES)	2	85	1.35
Bowen's Kale (IUPAC)	20	90	12.77

e Discussão.

### III.5- LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO

Para a determinação de elementos a nível de traços é importante saber quais os valores mínimos detectáveis pelo método utilizado para análise. Esses valores são expressos geralmente em termos de seus limites de detecção.

O limite de detecção pode ser definido como sendo um número expresso em unidade de massa ou de concentração, que descreve a quantidade mínima do elemento de interesse que pode ser estatisticamente diferente do branco analítico<sup>(99)</sup>.

Há várias maneiras de estimar o valor de limite de detecção. No presente trabalho foi utilizado o método recomendado pela IUPAC<sup>(65)</sup>. Em 1976 a IUPAC convencionou que o limite de detecção é obtido quando o número de ftons do sinal líquido é igual a três vezes o desvio padrão das contagens da radiação de fundo (*back ground*), num determinado intervalo de tempo. Então, o número de contagens para uma quantidade mínima detectável  $N$  é dado pela relação:

$$N = 3 \times \sqrt{BG} \quad (III.4)$$

sendo  $N$  = número de contagens correspondente a quantidade mínima detectável

$BG$  = integral das contagens de fundo obtida no espectro de raios gama da amostra (área sob o pico).

No presente trabalho, a determinação do limite de detecção dos elementos analisados foi feita irradiando-se amostra de pulmão juntamente com os padrões, nas mesmas condições empregadas para a análise de amostras de pulmão.

Tendo o valor da taxa de contagem da amostra (área líquida do fotopico)  $A$ , o teor do elemento na amostra  $C_a$  em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  e o valor de  $N$  da relação III.4, o limite de detecção  $LD$  foi calculado usando a relação:

$$LD = C_a \times N / A \quad (\text{III.5})$$

Os resultados obtidos serão apresentados no Capítulo IV.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados dos ensaios preliminares realizados, bem como das análises das amostras de pulmões, pelo método instrumental de análise por ativação com nêutrons.

#### IV.1- HOMOGENEIDADE DAS AMOSTRAS APÓS TRATAMENTO PRÉVIO

Para verificar a homogeneidade do material após o pré-tratamento foram feitas análises de pelo menos três aliquotas da amostra do tecido pulmonar no. 5741 e os seus resultados estão apresentados na Tabela IV.1. Verifica-se nessa Tabela que os desvios padrões relativos dos resultados obtidos variam de 1,1 a 10,5 % para os elementos analisados com exceção do Au que foi de 14,5 %. A reprodutibilidade dos resultados mostra que o procedimento adotado para a homogeneização das amostras de pulmão foi adequado.

#### IV.2- ANÁLISE DO BRANCO

Os resultados das análises do invólucro duplo de plástico, de 15x15 mm, utilizado na irradiação das amostra e padrões, são apresentados na Tabela IV.2, juntamente com as

Tabela IU.1

Verificação da Homogeneidade da Amostra.

Tecido Pulmonar no.5741

Elemento	Média Aritmética +- D.P. ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ )	Desvio Padrão Relativo (%)
Au (4)	0,00540 +- 0,00080	14,8
Br (4)	16,8 +- 1,5	8,9
Cl (5)	17285 +- 1818	10,5
Co (4)	0,1021 +- 0,0073	7,1
Cs (4)	0,961 +- 0,011	1,1
Fe (4)	2423 +- 73	3,0
K (6)	8219 +- 460	5,6
Mn (3)	1,46 +- 0,15	10,3
Na (5)	14255 +- 1438	10,1
Rb (4)	32,85 +- 0,73	2,2
Sb (4)	0,299 +- 0,022	7,4
Sc (4)	0,001387 +- 0,000066	4,8
Se (4)	0,657 +- 0,029	4,4
Zn (4)	69,3 +- 2,2	3,2

Concentração em  $\mu\text{g/g}$  de material desidratado.  
número entre parenteses indica número de determinações.

Tabela IV.2

Análises do Invólucro Duplo de Plástico

Elemento	$\mu\text{g}/\text{invólucro}(15 \times 15\text{m})$	$\mu\text{g}/\text{amostra} *$
Au	0,00034	0,00678
Br	1,388	27,76
Ce	0,0157	0,3145
Co	0,0068	0,1361
Cr	0,06745	1,349
Fe	117	2343
Sc	0,00094	0,01879
Th	0,00163	0,0326
Zn	3,28	65,67

\* As massas dos elementos em 50 mg de tecido pulmonar foram calculadas usando-se os valores das medianas

massas dos elementos presentes em 50 mg da amostra de pulmão, para comparação. Pode-se verificar que não há interferência dos elementos contaminantes, encontrados no plástico, na análise das amostras de pulmão. As quantidades dos elementos presentes no invólucro foram inferiores a 5 % daquelas presentes nas amostras analisadas.

#### IV.3- VERIFICAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE INTERFERÊNCIAS NA ANÁLISE.

Estudos preliminares foram feitos para algumas possíveis interferências, como:

##### IV.3.1- INTERFERÊNCIA DO FOTOPICO DE 1120 keV DO $^{46}\text{Sc}$ NA DETERMINAÇÃO DO Zn.

Em algumas amostras de linfonodos foi verificada interferência do pico de 1120 keV do  $^{46}\text{Sc}$  no pico de 1115 keV do  $^{65}\text{Zn}$ , devido ao fato de nestas amostras os teores de Sc serem muito altos houve a sobreposição de picos de energias dos raios gama bastante próximos. Este problema foi contornado satisfatoriamente utilizando-se o programa de computação VISPENB3 que permite a resolução de picos sobrepostos.

Foi feita também uma comparação entre os resultados obtidos usando programas de computação TFR e VISPENB3, usados no presente trabalho. Para isso o espectro obtido no mesmo sistema de contagens foi processado tanto no programa TFR e



VISPENB2. Os resultados das análises apresentados na Tabela IV.3 indicam que existe uma boa concordância entre os resultados obtidos pelos dois programas. Verifica-se entretanto uma diferença nos resultados dos desvios padrões calculados devido as diferentes maneiras de se calcular as áreas dos picos. O programa TFR utiliza-se de um método digital para o cálculo da área do pico, baseando-se no trabalho de Covell<sup>(42)</sup>, enquanto que o programa VISPENB2 faz o ajuste de uma função aos dados obtidos e calcula-se a área do pico pelo método de transcorrelação<sup>(5)</sup>.

#### IV.3.2- INTERFERÊNCIA DA REAÇÃO $^{54}\text{Fe} (n,\alpha) ^{51}\text{Cr}$ NA DETERMINAÇÃO DO Cr.

Como as amostras de pulmão apresentaram uma concentração relativamente alta de ferro, foi verificada a ocorrência da interferência da reação  $^{54}\text{Fe} (n,\alpha) ^{51}\text{Cr}$  na determinação do cromo pela medida do  $^{51}\text{Cr}$  obtido na reação nuclear  $^{50}\text{Cr} (n,\gamma) ^{51}\text{Cr}$ .

O nível de interferência ou o fator para correção desta interferência pode ser determinado experimentalmente ou calculado teoricamente quando são conhecidos com boa exatidão todos os parâmetros da irradiação como fluxos de nêutrons térmicos e rápidos, secções de choque, porcentagem isotópica etc.

No presente trabalho o exame da ocorrência da reação de interferência foi feita experimentalmente por meio da irradiação de 997,1  $\mu\text{g}$  de Fe de alta pureza (padrão de Fe) juntamente com um padrão de Cr ( 2  $\mu\text{g}$  ) nas mesmas condições de análise já estabelecidas para análise das amostras. O padrão de

Tabela IV.3

Comparação dos Programas de Computação TRF e VISPENB2.

Concentração em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de material não desidratado.

Amostra no. Elemento	5741	6460	AM-1	AM-2
Co TFR	$0,0865 \pm 0,0036$	$0,0193 \pm 0,0011$	$0,0623 \pm 0,0074$	$0,0590 \pm 0,0063$
VISPENB2	$0,0923 \pm 0,0017$	$0,01773 \pm 0,00058$	$0,0609 \pm 0,0035$	$0,0624 \pm 0,0031$
Cr TFR	$1,438 \pm 0,021$	$0,3577 \pm 0,0091$		
VISPENB2	$1,411 \pm 0,016$	$0,3611 \pm 0,0068$		
Cs TFR	$0,0612 \pm 0,0046$	$0,0295 \pm 0,0020$	$0,149 \pm 0,013$	$0,166 \pm 0,013$
VISPENB2	$0,0577 \pm 0,0026$	$0,0287 \pm 0,0011$	$0,1587 \pm 0,0079$	$0,1643 \pm 0,0077$
Eu TFR	$0,00539 \pm 0,00062$	$0,00094 \pm 0,00021$		
VISPENB2	$0,00494 \pm 0,00024$	$0,000755 \pm 0,000088$		
Fe TFR	$823 \pm 6$	$82,2 \pm 1,3$	$47,9 \pm 4,5$	$51,6 \pm 4,6$
VISPENB2	$810 \pm 3$	$80,68 \pm 0,61$	$48,6 \pm 1,9$	$54,9 \pm 2,1$
Rb TFR	$4,410 \pm 0,080$	$1,146 \pm 0,036$	$20,43 \pm 0,56$	$21,27 \pm 0,42$
VISPENB2	$4,405 \pm 0,042$	$1,162 \pm 0,018$	$20,21 \pm 0,20$	$21,00 \pm 0,20$
Sb TFR	$0,559 \pm 0,010$	$0,1848 \pm 0,0039$		
VISPENB2	$0,5883 \pm 0,0084$	$0,1988 \pm 0,0044$		
Sc TFR	$0,1152 \pm 0,0014$	$0,01820 \pm 0,00025$		
VISPENB2	$0,11496 \pm 0,00073$	$0,01794 \pm 0,00014$		
Se TFR	$0,205 \pm 0,020$	$0,0754 \pm 0,0005$		
VISPENB2	$0,207 \pm 0,013$	$0,0819 \pm 0,0058$		
Zn TFR			$90,7 \pm 1,0$	$95,19 \pm 0,98$
VISPENB2	$11,686 \pm 0,078$	$5,198 \pm 0,035$	$95,02 \pm 0,45$	$95,27 \pm 0,51$

- Desvios padrões relativos a erros nas contagens

- AM-1 = Animal muscle H-4, Amostra no.1

- AM-2 = Animal muscle H-4, Amostra no.2

Fe irradiado apresentou pico de  $^{51}\text{Cr}$  com uma atividade induzida correspondente a que seria obtida na ativação de uma massa de 0,04636  $\mu\text{g}$  de Cr. Portanto o nível de interferência do Fe é de 46,49  $\mu\text{g}$  de Cr/g de Fe, ou seja, para cada grama de ferro ter-se á atividade em  $^{51}\text{Cr}$  correspondente a aquela obtida na irradiação de 46,49  $\mu\text{g}$  de Cr.

A quantidade máxima de Fe encontrada em 1g de amostra de pulmão é igual a 2346  $\mu\text{g}$  e esta quantidade de Fe produzirá a mesma atividade em  $^{51}\text{Cr}$  daquela produzida por 0,109  $\mu\text{g}$  de Cr por g de amostra. Sendo o teor mínimo de Cr nas amostras igual a 1,43  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , cerca de 14 vezes maior que a quantidade proveniente da reação de interferência do  $^{54}\text{Fe}$ , no presente trabalho esta contribuição foi desprezada.

#### IV.4- EXATIDÃO DO MÉTODO

Para avaliar a precisão e a exatidão do método foram utilizados os materiais de referência Animal Muscle H-4, Bovine Liver 1577a, Bowen's Kale e Vehicle Exhaust Particulate e os resultados obtidos, assim como os valores de seus certificados são apresentados respectivamente nas Tabelas IV.4, IV.5, IV.6 e IV.7. Fazendo uma comparação dos nossos resultados com os valores dos certificados verifica-se que existe uma boa concordância para a maioria dos elementos analisados. Para os elementos Br, Cl, Cs, Fe, K, Mn, Na, Rb, Se e Zn as porcentagens de erros relativos obtidos foram inferiores a 20 %. O Zn no material de referência Vehicle Exhaust Particulates apresentou um erro relativo de 18,3 % devido provavelmente a interferência do  $^{46}\text{Sc}$  na medida do  $^{65}\text{Zn}$ .

Tabela IV.4

Análise do Material de Referência Animal Muscle H-4 da IAEA

Concentração em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de material seco.

Elemento	Presente Trabalho Média $\pm$ D.P.(a)	D.P.Rel. %	Erro Relat. %	Muranatsu e Parr <sup>(36)</sup> C $\pm$ D.P.
Br	4,46 $\pm$ 0,44 (4)	9,9	8,1	4,1 $\pm$ 0,6
Cl	2019 $\pm$ 55 (4)	2,7	6,4	1890 $\pm$ 83
Co	0,0428 $\pm$ 0,0068 (4)	15,8	-	
Cs	0,135 $\pm$ 0,013 (5)	9,7	11,1	0,12 $\pm$ 0,01
Fe	51,7 $\pm$ 4,6 (6)	8,9	5,2	49 $\pm$ 2
K	15586 $\pm$ 1283 (3)	8,2	1,4	15800 $\pm$ 585
Mn	0,70 $\pm$ 0,30 (4)	42,9	25,7	0,52 $\pm$ 0,04
Na	2073 $\pm$ 87 (4)	4,2	0,6	2060 $\pm$ 126
Rb	19,5 $\pm$ 1,6 (6)	8,0	2,3	19,0 $\pm$ 1,5
Se	0,322 $\pm$ 0,055 (4)	17,1	15,0	0,28 $\pm$ 0,03
Zn	89,7 $\pm$ 5,8 (6)	6,5	4,1	86 $\pm$ 3

(a) = número de determinações

C = valor certificado

Tabela 10.5

Análise do Material de Referência Bovine Liver no.1577a - NIST

Concentração em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de material seco

Elemento	Presente Trabalho	D.P.Rel. %	Erro Relat. %	Toro e col. (57)
	Média $\pm$ D.P. (a)			C $\pm$ D.P.
Au	0,0043 $\pm$ 0,0013 (4)	28,9	-	
Br	9,20 $\pm$ 0,64 (4)	6,9	2,6	9 *
Cl	2769 $\pm$ 141 (6)	5,1	1,1	2800 $\pm$ 98
Co	0,264 $\pm$ 0,023 (5)	8,7	20,5	0,21 $\pm$ 0,05
Cr	0,84 $\pm$ 0,19 (5)	22,6		
Cs	0,018565 $\pm$ 0,000078 (2)	0,4		
Fe	194 $\pm$ 12 (5)	6,1	0,1	194 $\pm$ 19
K	9921 $\pm$ 632 (8)	6,4	0,4	9960 $\pm$ 70
Mn	10,74 $\pm$ 0,80 (9)	7,5	7,8	9,9 $\pm$ 0,8
Na	2447 $\pm$ 154 (9)	6,3	0,7	2430 $\pm$ 129
Rb	12,12 $\pm$ 0,39 (5)	3,2	3,1	12,5 $\pm$ 0,1
Se	0,720 $\pm$ 0,070 (5)	9,7	1,4	0,71 $\pm$ 0,07
Zn	127,5 $\pm$ 4,1 (5)	3,2	3,6	123 $\pm$ 8

(a) = número de determinações

\* = valor informativo

Tabela IV.6

## Análise do Material de Referência Bowen's Kale

Concentração em  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de material seco

Elemento	Presente Trabalho	D.P.Rel. %	Erro Relat. %	Irono e col. (57)
	Média $\pm$ D.P. (a)			C $\pm$ D.P.
Au	0,0035 $\pm$ 0,0011 (5)	31,1		0,00205 *
Br	26,68 $\pm$ 1,65 (6)	6,2	6,7	24,9 $\pm$ 2,5
Ce	0,205 $\pm$ 0,019 (5)	9,2		0,210 *
Cl	4443 $\pm$ 453 (8)	10,2	19,9	3560 $\pm$ 427
Co	0,118 $\pm$ 0,022 (8)	18,7	46,6	0,0632 $\pm$ 0,0107
Cr	0,89 $\pm$ 0,14 (4)	16,4		0,369 *
Cs	0,095 $\pm$ 0,010 (8)	10,8	19,4	0,0763 $\pm$ 0,0059
Eu	0,0042 $\pm$ 0,0032 (4)	75,7		0,00665 *
Fe	120,4 $\pm$ 11,9 (9)	9,9	0,9	119,3 $\pm$ 14,3
K	26403 $\pm$ 1621 (7)	6,1	7,7	24360 $\pm$ 1463
La	0,007 $\pm$ 0,0020 (8)	23,1	0,4	0,0064 $\pm$ 0,0130
Mn	14,3 $\pm$ 3,2 (7)	22,1		14,82 *
Na	2583 $\pm$ 258 (8)	10	8,4	2366 $\pm$ 284
Rb	54,0 $\pm$ 6,0 (9)	11,2	1,2	53,4 $\pm$ 5,3
Sb	0,070 $\pm$ 0,018 (4)	25,5		0,0685 *
Sc	0,0151 $\pm$ 0,0010 (9)	6,9		0,00948 *
Th	0,0122 $\pm$ 0,0022 (5)	18,1		0,0104 *
Zn	33,7 $\pm$ 2,3 (9)	6,8	4,2	32,26 $\pm$ 2,74

(a) = número de determinações

\* = valor informativo

Tabela 10.7

Análise do Material de Referência Vehicle Exhaust Particulate NIES-no.8

Concentração em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de material seco.

Elemento	Presente Trabalho Média $\pm$ D.P. (a)	D.P.Rel. %	Erro Relat. %	Toro e col. (57) C $\pm$ D.P.
Br	67,3 $\pm$ 12,2 (5)	18,1		56 *
Ce	2,75 $\pm$ 0,12 (4)	4,2		3,1 *
Co	3,20 $\pm$ 0,44 (4)	13,8	20,3	3,3 $\pm$ 0,3
Cr	23,5 $\pm$ 1,3 (4)	5,4	8,7	25,5 $\pm$ 1,5
Cs	0,2457 $\pm$ 0,0072 (4)	2,9		0,24 *
Eu	0,02418 $\pm$ 0,00072 (5)	3,0		0,05 *
Fe	4510 $\pm$ 687 (4)	15,1		
Hf	0,1941 $\pm$ 0,0041 (4)	2,1		
La	1,188 $\pm$ 0,046 (5)	3,9		1,2 *
Rb	3,99 $\pm$ 0,23 (5)	5,7		4,6 *
Sb	5,99 $\pm$ 0,26 (4)	4,3	0,2	6 $\pm$ 0,4
Sc	0,564 $\pm$ 0,021 (4)	3,7		0,55 *
Se	1,453 $\pm$ 0,041 (5)	2,8		1,3 *
Th	0,3441 $\pm$ 0,0083 (4)	2,4		0,35 *
Zn	879 $\pm$ 99 (5)	11,3	18,3	1040 $\pm$ 50

(a) = número de determinações

\* = valor informativo

pelo fotopico de 1115 keV. O Mn no material de referência Animal Muscle também apresentou um erro relativo de 25,7 % e desvio padrão de 42,9 % devido ao seu baixo teor na amostra.

Quanto a precisão, os resultados obtidos para a maioria dos elementos indicaram uma precisão adequada, com desvios padrões relativos variando de 2,7 a 23,1 %.

Os resultados menos satisfatórios com relação a exatidão e precisão foram obtidos para Au, Cr, Eu, Sb, Sc e Th, devido a baixa concentração desses elementos nesses materiais levando a problemas de interferências espectrais e erro associado à baixa estatística de contagens. Verifica-se que nos certificados também são apresentados somente os valores especulativos para análise desses elementos, devido à dificuldade nas determinações.

#### IV.5- LIMITE DE DETECÇÃO

Na Tabela IV.8 apresentamos os valores dos limites de detecção que foram calculados de acordo com o critério estabelecido pela IUPAC<sup>(65)</sup> e nas condições analíticas pré estabelecidas neste trabalho. Esses valores variaram de 0,002  $\mu\text{g. g}^{-1}$  para o Sc a 10  $\mu\text{g. g}^{-1}$  para o Fe. Esses resultados mostram a alta sensibilidade do método INAA para análise das amostras de pulmão.

#### IV.6- ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE PULMÕES



Tabela IV.8

Limite de Detecção (LD) para Elementos Traços  
Amostras de Pulmões - Método INAA.

Elemento	LD ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )
Au	0,004
Ce	0,07
Co	0,01
Cr	0,2
Cs	0,02
Eu	0,003
Fe	10
Hf	0,01
La	0,4
Rb	0,4
Sb	0,06
Sc	0,002
Se	0,2
Th	0,01
Zn	0,5

Tempo irradiação: 16h

Fluxo:  $10^{13}\text{n}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Tempo decaimento: 20 dias

Os resultados das análises de amostras de pulmões de cada um dos indivíduos são apresentados nos Anexos 1 e 2, respectivamente para tecido pulmonar propriamente dito e linfonodos. A partir desses resultados foram obtidos os parâmetros estatísticos como, a média aritmética e a média geométrica com seus desvios padrões; a mediana e os valores mínimo e máximo obtidos, que são apresentados nas Tabelas IV.9 e IV.11. Os valores das médias aritméticas foram colocados em gráficos, nas Figuras IV.1 a IV.8, para facilitar a comparação dos resultados obtidos.

#### IV.6.1- TECIDOS PULMONARES DE INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES

O sumário estatístico dos resultados obtidos é apresentado na Tabela IV.9 e para a comparação destes resultados com os valores de literatura, apresentamos na Tabela IV.10, os intervalos de concentrações dos elementos presentes em tecido pulmonar humano normal, apresentado por Vanoeteren e colaboradores<sup>(61)</sup>

Verifica-se nesta comparação que as médias de todos os resultados obtidos estão dentro dos limites de valores mínimo e máximo de concentrações apresentados na literatura, com exceção do resultado do Cl no grupo de não fumantes e do resultado do Hf em ambos os grupos que, ultrapassaram os limites de valores máximos da literatura.

Os teores de Mn obtidos para tecido pulmonar nos dois grupos estão dentro dos valores limite apresentados na literatura, entretanto próximos ao limite inferior (vide Anexos 1

Tabela IV.9

Sumário estatístico dos resultados obtidos em tecidos pulmonares de indivíduos não fumantes (NF) e fumantes (F), em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de tecido desidratado

Elemento	Hábito Fumar	Número Amostras	Média Aritmética $\pm$ Desvio Padrão	Média Geométrica $\times$ Desvio Padrão	Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo
Au	NF	6	0,0071 $\pm$ 0,0035	0,0063 $\times$ 1,73	0,0068	0,0030	0,0118
	F	6	0,0098 $\pm$ 0,0048	0,0089 $\times$ 1,66	0,0084	0,0043	0,0161
Br	NF	6	28,98 $\pm$ 10,96	27,29 $\times$ 1,46	27,76	17,08	45,77
	F	7	28,77 $\pm$ 7,63	27,93 $\times$ 1,30	26,87	19,00	39,74
Ce	NF	2	0,31 $\pm$ 0,21	0,28 $\times$ 2,05	0,31	0,17	0,46
	F	5	1,08 $\pm$ 0,84	0,79 $\times$ 2,55	0,86	0,28	2,09
Cl	NF	6	13630 $\pm$ 4078	13156 $\times$ 1,33	12170	9955	19526
	F	7	10780 $\pm$ 2426	10582 $\times$ 1,22	9775	8938	15873
Co	NF	6	0,22 $\pm$ 0,17	0,18 $\times$ 1,81	0,14	0,12	0,54
	F	7	0,20 $\pm$ 0,12	0,18 $\times$ 1,80	0,17	0,07	0,44
Cr	NF	6	1,60 $\pm$ 0,97	1,40 $\times$ 1,76	1,35	0,65	3,40
	F	7	1,43 $\pm$ 0,69	1,27 $\times$ 1,72	1,16	0,49	2,52
Cs	NF	6	0,288 $\pm$ 0,072	0,279 $\times$ 1,33	0,306	0,165	0,353
	F	7	0,185 $\pm$ 0,046	0,1798 $\times$ 1,29	0,179	0,124	0,241
Eu	NF	2	0,004550 $\pm$ 0,000064	0,004555 $\times$ 1,01	0,0046	0,0045	0,0046
	F	0					
Fe	NF	6	2195 $\pm$ 857	2015 $\times$ 1,64	2343	828	3181
	F	7	1740 $\pm$ 767	1615 $\times$ 1,50	1381	1029	3202
Hf	NF	6	0,0217 $\pm$ 0,0085	0,0206 $\times$ 1,41	0,0196	0,0151	0,0379
	F	4	0,0237 $\pm$ 0,0172	0,0201 $\times$ 1,87	0,0169	0,0118	0,0491
K	NF	6	9342 $\pm$ 1458	9254 $\times$ 1,16	8669	8195	11790
	F	7	9528 $\pm$ 2003	9346 $\times$ 1,24	9480	6991	12487
La	NF	6	0,29 $\pm$ 0,13	0,270 $\times$ 1,48	0,25	0,16	0,52
	F	6	0,276 $\pm$ 0,089	0,261 $\times$ 1,48	0,289	0,127	0,378
In	NF	6	1,27 $\pm$ 0,27	1,25 $\times$ 1,24	1,20	1,00	1,63
	F	7	1,28 $\pm$ 0,43	1,21 $\times$ 1,44	1,23	0,67	1,81
Na	NF	6	10280 $\pm$ 3568	9807 $\times$ 1,39	9702	6320	16482
	F	7	9852 $\pm$ 2748	9639 $\times$ 1,31	9586	6475	14713
Rb	NF	6	31,7 $\pm$ 5,5	31,3 $\times$ 1,19	30,9	26,0	39,4
	F	7	27,5 $\pm$ 7,3	26,7 $\times$ 1,30	23,0	19,2	37,2
Sb	NF	6	0,292 $\pm$ 0,071	0,284 $\times$ 1,29	0,311	0,202	0,356
	F	7	0,71 $\pm$ 0,47	0,53 $\times$ 2,52	0,87	0,14	1,19
Sc	NF	6	0,031 $\pm$ 0,026	0,025 $\times$ 1,97	0,019	0,014	0,080
	F	7	0,019 $\pm$ 0,017	0,013 $\times$ 2,71	0,017	0,003	0,049
Se	NF	6	0,62 $\pm$ 0,13	0,61 $\times$ 1,22	0,59	0,50	0,86
	F	7	0,62 $\pm$ 0,13	0,61 $\times$ 1,22	0,56	0,48	0,82
Th	NF	6	0,033 $\pm$ 0,011	0,032 $\times$ 1,41	0,033	0,020	0,048
	F	7	0,037 $\pm$ 0,035	0,027 $\times$ 2,29	0,024	0,011	0,104
Zn	NF	6	72,9 $\pm$ 20,6	71,0 $\times$ 1,28	65,7	58,3	113,3
	F	7	57,3 $\pm$ 4,4	57,2 $\times$ 1,08	57,6	51,8	65,4

Tabela IV.10

Valores de referência para elementos traços e maiores em tecido pulmonar humano normal. Dados apresentados por Vanoeteren e colaboradores (61).

Elementos	Intervalo de Valores das Concentrações	
	em peso úmido	em peso seco
Au	(0,0001 - 0,01)	(0,0005 - 0,005)
Br	0,4 - 24	2 - 120
Ce	(0,001 - 0,4)	(0,005 - 2)
Cl	1000 - 2200	5000 - 11000
Co	0,002 - 0,1	0,01 - 0,5
Cr	0,002 - 0,5	0,01 - 2,5
Cs	0,003 - 0,3	0,015 - 1,5
Eu	(0,0001 - 0,004)	(0,0005 - 0,02)
Fe	40 - 500	200 - 2500
Hf	(0,002)	(0,01)
K	500 - 2000	2500 - 10000
La	(0,001 - 0,2)	(0,005 - 1)
Mn	(0,01 - 3)	(0,05 - 15)
Na	1000 - 3000	5000 - 15000
Rb	0,5 - 10	2,5 - 50
Sb	(0,002 - 0,1)	(0,01 - 0,5)
Sc	(0,0001 - 0,007)	(0,0005 - 0,035)
Se	0,05 - 5,0	0,25 - 25
Th	(0,001 - 0,02)	(0,005 - 0,1)
Zn	1 - 30	5 - 150

- números entre parenteses = valores especulativos.

- concentrações dadas em  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . A transformação dos valores para peso seco foi feita considerando-se perda de peso, na desidratação, de 80%.

e 2. Nesses anexos o espaço em branco indica que o elemento não foi determinado.)

Fazendo uma comparação entre os resultados obtidos para estes dois grupos de indivíduos, verifica-se que as médias dos resultados obtidos para o Ce e Sb são mais altas no grupo de fumantes, vide Tabela IV.9 e Figuras IV.4 e IV.6. O elemento Eu não foi detectado em nenhuma das amostras de tecido pulmonar dos indivíduos fumantes e as concentrações dos elementos Cl, Cs, Fe, Rb, Sc e Zn foram ligeiramente superiores no grupo dos não fumantes. Para os demais elementos como Br, Co, Cr, Hf, K, La, Mn, Na, Se e Th as concentrações encontradas foram praticamente idênticas nos dois grupos de indivíduos, vide Tabela IV.9 e Figuras IV.1 a IV.7. Discutindo este fato com o Professor Dr. Paulo Hilário Nascimento Saldiva<sup>(47)</sup>, tomamos conhecimento de que os tecidos pulmonares de indivíduos fumantes apresentam um aumento na sua permeabilidade, favorecendo a depuração e conseqüentemente diminuindo a meia vida biológica dos particulados nos pulmões.

Analisando a Tabela IV.9, o que realmente nos chama a atenção são os valores de concentrações do Sb encontrados no grupo de indivíduos fumantes, cujas médias ultrapassam cerca de duas vezes as respectivas médias do grupo de não fumantes, vide Figura IV.8. Além disso, em quatro dos sete indivíduos analisados o nível de concentração desse elemento ultrapassou o limite de valor máximo apresentado na literatura, como pode ser verificado no Anexo 2 e Tabela IV.10.

O aumento do Sb nos pulmões de indivíduos fumantes se deve, provavelmente ao fato de que esse elemento é transferido do tabaco do cigarro para a fumaça, como foi verificado por

Munita e Mazzilli<sup>(95)</sup>. Estes autores calcularam a porcentagem de transferência de alguns elementos químicos do tabaco para a cinza do cigarro e concluíram que somente uma pequena fração da maioria dos elementos analisados são transferidos para a fumaça e que o Sb e o Rb foram os elementos que apresentaram menor porcentagem de transferência para a cinza. A quantidade de Sb inalada através do fumo é estimada em 20 % da quantidade presente no cigarro. Além desse fator o Sb pode ter também a sua depuração diminuída em relação aos outros elementos, sendo portanto concentrado nesse órgão.

Church e colaboradores<sup>(9)</sup> analisando tecido pulmonar pigmentado de indivíduos fumantes encontraram que há um acúmulo de Fe nesse material, devido a alta concentração de radicais oxidantes, produzidos na fumaça do cigarro, numa micro-região, levando a uma micro-hemorragia do tecido pulmonar. Esses autores acreditam que o aumento da concentração de Fe devida a hemorragia catalisa posteriores danos oxidativos, levando a um acúmulo adicional de Fe e que o pigmento observado consiste de fragmentos oxidativos que contêm Fe no seu estado reduzido, num ambiente semelhante ao do Fe na ferritina e hemossiderina.

No presente trabalho foram obtidas médias das concentrações maiores de Fe nos pulmões de indivíduos não fumantes, contrariando as observações acima mencionadas. Sabe-se que o Fe é um elemento essencial e é um dos metais mais abundantes presente no corpo humano e no tecido pulmonar este elemento está presente em altas concentrações, variando de 155 a 7050  $\mu\text{g. g}^{-1}$  <sup>(61)</sup>. No tecido pulmonar a concentração do Fe pode ser consideravelmente influenciada pela quantidade de sangue

residual deixada no instante da morte.

#### IV.6.2- LINFONODOS DE INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES

Na Tabela IV.11 é apresentado o sumário estatístico dos resultados das análises de linfonodos.

Foi feita uma comparação dos resultados do grupo de indivíduos não fumantes com os de fumantes e para os linfonodos não foram encontrados dados de literatura para um estudo comparativo.

Observa-se também para as amostras de linfonodos que as concentrações dos elementos no grupo de não fumantes foram ligeiramente mais altas ou praticamente da mesma ordem de grandeza. Entretanto verificou-se que os elementos Cr e Sb, apresentaram médias mais elevadas no grupo dos fumantes, vide Tabela IV.11 e Figura IV.4. É conhecido que o tabaco do cigarro contém 0,5  $\mu\text{g}$  de Co e 0,1  $\mu\text{g}$  de Sb por grama de tabaco desidratado e que 0,5 % do Co e 20 % do Sb são arrastados na fumaça do cigarro<sup>(61)</sup>.

#### IV.6.3. - COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS PARA TECIDO PULMONAR E LINFONODOS

A comparação entre resultados obtidos para tecido pulmonar e linfonodos pode ser feita através das Tabelas IV.9 e IV.11 e Figuras IV.1 a IV.8.

Os elementos menores como o Br, Cl, K, Na e Rb

Tabela IV.11

Sumário estatístico dos resultados obtidos em linfonodos de indivíduos não fumantes (NF) e fumantes (F), em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de tecido desidratado

Elemento	Hábito Fumar	Número Amostras	Média Aritmética $\pm$ Desvio Padrão	Média Geométrica $\times$ Desvio Padrão	Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo
Au	NF	6	0,037 $\pm$ 0,029	0,025 $\times$ 2,86	0,034	0,005	0,077
	F	7	0,019 $\pm$ 0,016	0,013 $\times$ 2,74	0,015	0,003	0,046
Br	NF	6	16,7 $\pm$ 5,6	16,0 $\times$ 1,37	14,0	11,9	24,9
	F	7	10,5 $\pm$ 7,2	9,1 $\times$ 1,73	8,1	4,9	26,1
Ce	NF	6	2,34 $\pm$ 0,97	2,13 $\times$ 1,68	2,23	0,82	3,47
	F	7	2,00 $\pm$ 1,9	1,40 $\times$ 2,66	1,7	0,3	5,9
Cl	NF	6	8917 $\pm$ 1138	8853 $\times$ 1,14	8806	7090	10240
	F	7	6520 $\pm$ 2117	6129 $\times$ 1,51	6759	2605	8824
Co	NF	6	0,34 $\pm$ 0,15	0,31 $\times$ 1,67	0,34	0,13	0,53
	F	7	0,151 $\pm$ 0,073	0,137 $\times$ 1,62	0,133	0,067	0,267
Cr	NF	6	5,9 $\pm$ 1,5	5,8 $\times$ 1,28	5,6	4,2	8,2
	F	7	8,8 $\pm$ 11,1	5,3 $\times$ 2,82	6,6	1,7	33,2
Cs	NF	6	0,49 $\pm$ 0,25	0,44 $\times$ 1,72	0,40	0,20	0,82
	F	7	0,210 $\pm$ 0,076	0,194 $\times$ 1,60	0,213	0,076	0,293
Eu	NF	6	0,022 $\pm$ 0,012	0,020 $\times$ 1,82	0,020	0,008	0,042
	F	5	0,018 $\pm$ 0,011	0,015 $\times$ 2,09	0,019	0,006	0,029
Fe	NF	6	2346 $\pm$ 1494	1930 $\times$ 2,05	2094	650	4702
	F	7	1469 $\pm$ 765	1317 $\times$ 1,66	1299	567	2977
Hf	NF	6	0,63 $\pm$ 0,86	0,35 $\times$ 3,15	0,33	0,10	2,36
	F	7	0,13 $\pm$ 0,15	0,07 $\times$ 3,51	0,06	0,01	0,45
K	NF	6	7020 $\pm$ 1758	6808 $\times$ 1,33	7730	4214	8923
	F	7	5889 $\pm$ 1869	5632 $\times$ 1,39	5646	3280	8430
La	NF	6	1,50 $\pm$ 0,53	1,39 $\times$ 1,56	1,49	0,60	2,20
	F	6	1,10 $\pm$ 0,82	0,84 $\times$ 2,29	0,89	0,37	2,18
Mn	NF	6	7,1 $\pm$ 3,4	6,4 $\times$ 1,68	7,1	3,4	10,6
	F	7	5,0 $\pm$ 3,5	3,8 $\times$ 2,39	5,0	0,9	11,7
Na	NF	6	9330 $\pm$ 1038	9280 $\times$ 1,12	9879	7943	10212
	F	7	6922 $\pm$ 2081	6611 $\times$ 1,41	7335	3594	9356
Rb	NF	6	22,7 $\pm$ 7,2	21,8 $\times$ 1,37	21,7	14,5	33,8
	F	7	17,5 $\pm$ 7,2	16,1 $\times$ 1,59	18,7	7,9	26,0
Sb	NF	6	1,7 $\pm$ 1,1	1,3 $\times$ 2,37	1,7	0,3	3,2
	F	7	5,7 $\pm$ 8,5	2,6 $\times$ 3,68	2,2	0,5	24,1
Sc	NF	6	0,43 $\pm$ 0,25	0,36 $\times$ 1,98	0,45	0,14	0,66
	F	7	0,17 $\pm$ 0,16	0,09 $\times$ 4,09	0,13	0,01	0,42
Se	NF	6	0,94 $\pm$ 0,23	0,92 $\times$ 1,31	1,03	0,57	1,17
	F	7	0,78 $\pm$ 0,29	0,74 $\times$ 1,44	0,70	0,46	1,28
Th	NF	6	0,35 $\pm$ 0,14	0,33 $\times$ 1,56	0,37	0,18	0,50
	F	7	0,20 $\pm$ 0,17	0,13 $\times$ 3,02	0,12	0,03	0,45
Zn	NF	6	67,3 $\pm$ 6,7	67,0 $\times$ 1,10	67,0	57,5	77,5
	F	7	67,6 $\pm$ 50,0	57,8 $\times$ 1,73	58,8	35,9	178,2



encontram-se em níveis ligeiramente mais elevados nos tecidos pulmonares (Figuras IV.2 e IV.7). Isso se deve ao fato desses elementos eletrolíticos fazerem parte dos fluidos do organismo e o tecido pulmonar apresentar quantidade maior de fluidos (sangue) do que os linfonodos.

Os elementos Ce, Cr, Cs, Eu, Hf, La, Mn, Sb, Sc e Th apresentaram níveis mais elevados nos linfonodos. Isto ocorre provavelmente devido ao fato de que os elementos não solúveis ou os impregnados em particulados serem depurados dos pulmões através da fagocitose e levados pelo sistema linfático aos linfonodos. Foi postulado que a maioria dos elementos essenciais são transportados pelos sistemas sanguíneos e linfáticos, sendo controlados por mecanismos homeostáticos<sup>(61)</sup>. Porém esta regra é válida somente para um curto intervalo de tempo e pequena quantidade de material inalado. Há um enriquecimento dos elementos essenciais nos pulmões no caso de exposições crônicas e inalação de quantidade muito alta desses elementos.

Os aerossóis constituídos de sais de lantanídeos (Ce, Eu e La) são bem absorvidos pelo tecido pulmonar e acumulados no fígado e esqueleto. Entretanto altas quantidades destes compostos são retidas nos pulmões por longo tempo e depuradas lentamente pelo sistema linfático<sup>(61)</sup>. As concentrações dos elementos Co, Cr, Mn, Sb e Sc estão relacionadas com a qualidade do ar inalado (poluição atmosférica e fumaça de cigarro).

Foi realizada também a análise da amostra n.º 5766, de um indivíduo natimorto de cerca de nove meses, cujos resultados são apresentados na Tabela IV.12. Comparando estes resultados com as médias dos resultados apresentados nas Tabelas

IV.9 e IV.11, para o grupo de não fumantes, verifica-se que os elementos Ce, Eu, Hf, La, Sb (nos linfonodos) e Th não foram detectados nas amostras do natimorto. Os níveis dos elementos Co, Cr, Cs, Sb e Sc encontram-se mais baixos, tanto no tecido pulmonar como nos linfonodos da amostra do natimorto, assim como os do Fe e Mn dos linfonodos do natimorto, ou seja, num indivíduo que não chegou a ter repiração pulmonar, reforçando o fato de que existe uma correlação direta entre o conteúdo dos elementos traços na atmosfera e naquele encontrado no tecido pulmonar e linfonodos dos indivíduos.

No presente trabalho foi verificada para o elemento Au, uma grande variação nos valores obtidos para indivíduos do mesmo grupo, sendo que em alguns casos as concentrações encontradas foram muito próximas do seu limite de detecção. Na literatura<sup>(61)</sup> é apresentada somente uma estimativa de um intervalo para valores normais também devido as discrepâncias encontradas entre os resultados reportados para este elemento.

Tabela IV.12

## Resultados das Análises da Amostra no.5766

- natimorto cerca 9 meses -

Elemento	Tecido Pulmonar	Linfonodo
Au	0,01239 +- 0,00079	0,0070 +- 0,0020
Br	22,23 +- 0,41	13,81 +- 0,47
Cl	14587 +- 365	10340 +- 466
Co	0,0943 +- 0,0074	0,1066 +- 0,0071
Cr	0,62 +- 0,10	0,624 +- 0,082
Cs	0,154 +- 0,013	0,096 +- 0,011
Fe	1058 +- 15	726 +- 10
K	8628 +- 1236	6463 +- 398
Mn	1,21 +- 0,50	0,15 +- 0,05
Na	11965 +- 143	8670 +- 57
Rb	33,88 +- 0,49	22,37 +- 0,43
Sb	0,042 +- 0,010	
Sc	0,00225 +- 0,00070	0,00420 +- 0,00065
Se	0,62 +- 0,12	0,485 +- 0,075
Zn	67,70 +- 0,83	68,34 +- 0,36

Concentração em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de tecido desidratado

FIGURA IV.1: Concentração de Au e Eu  
Tecido Pulmonar e Linfonodo de NF e F

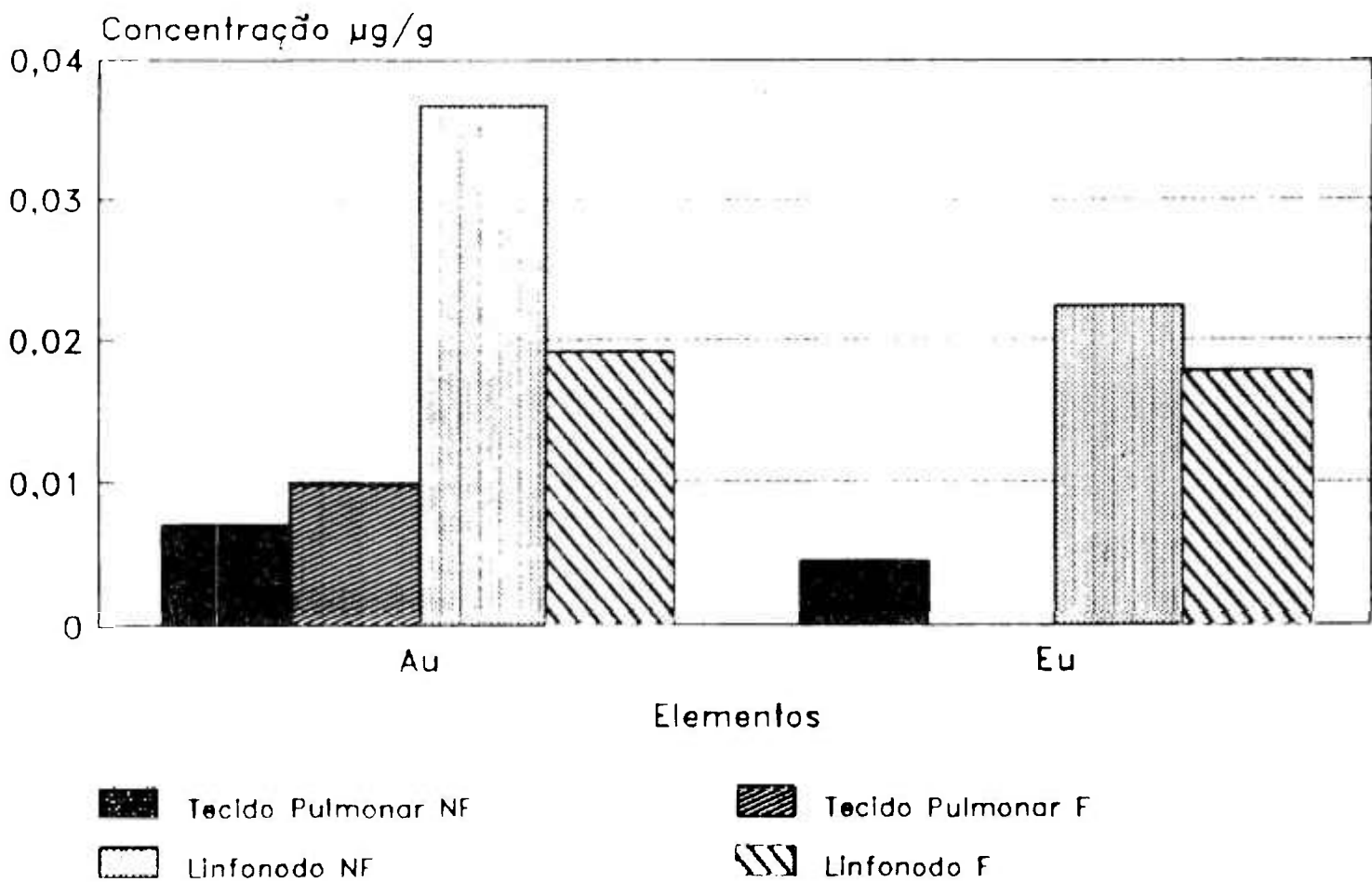


FIGURA IV.2: Concentração de Cl, K, Na e Fe—Tecido Pulmonar e Linfonodo de NF e F

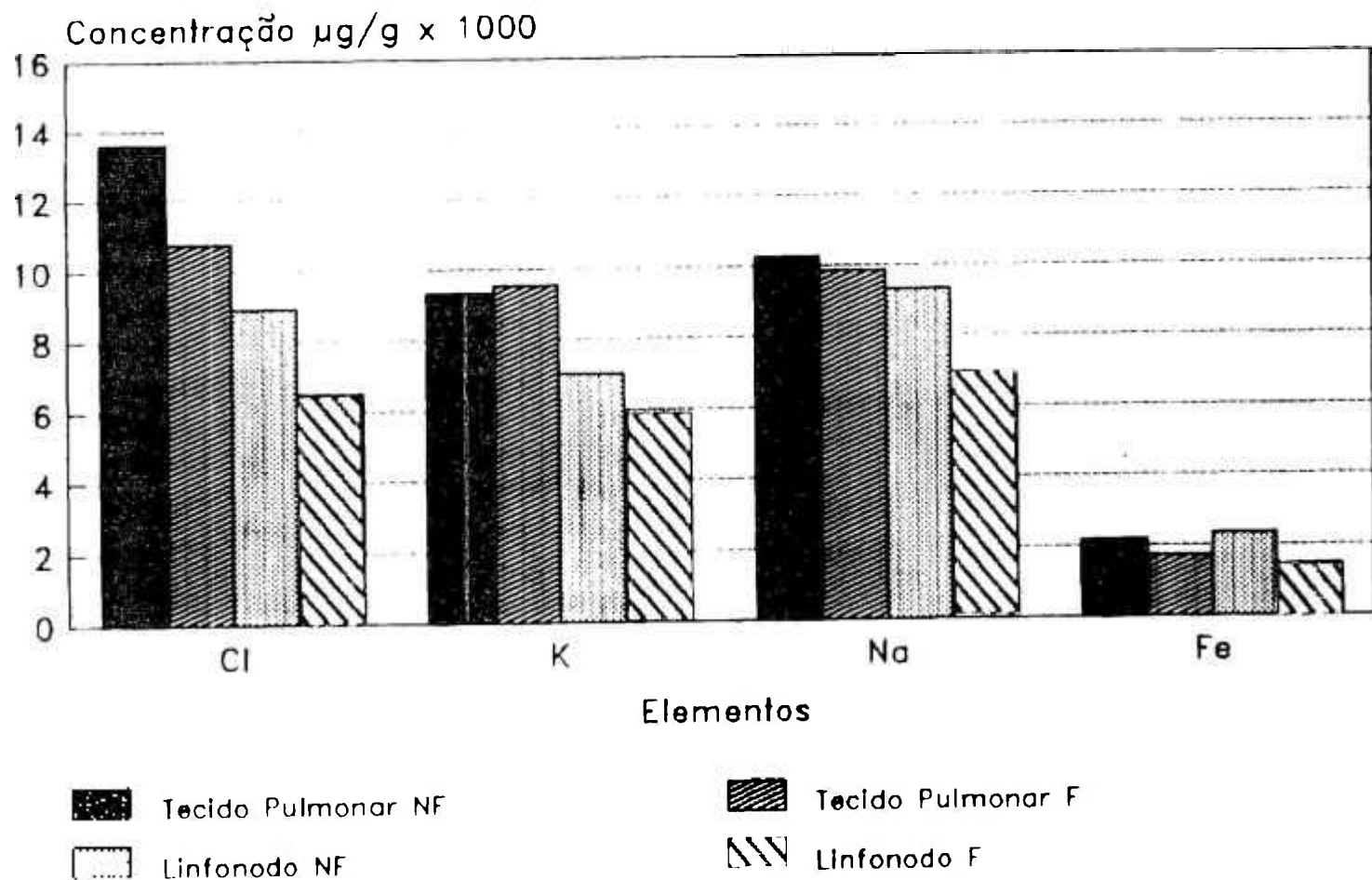


FIGURA IV.3: Concentração de La e Se  
Tecido Pulmonar e Linfonodo de NF e F

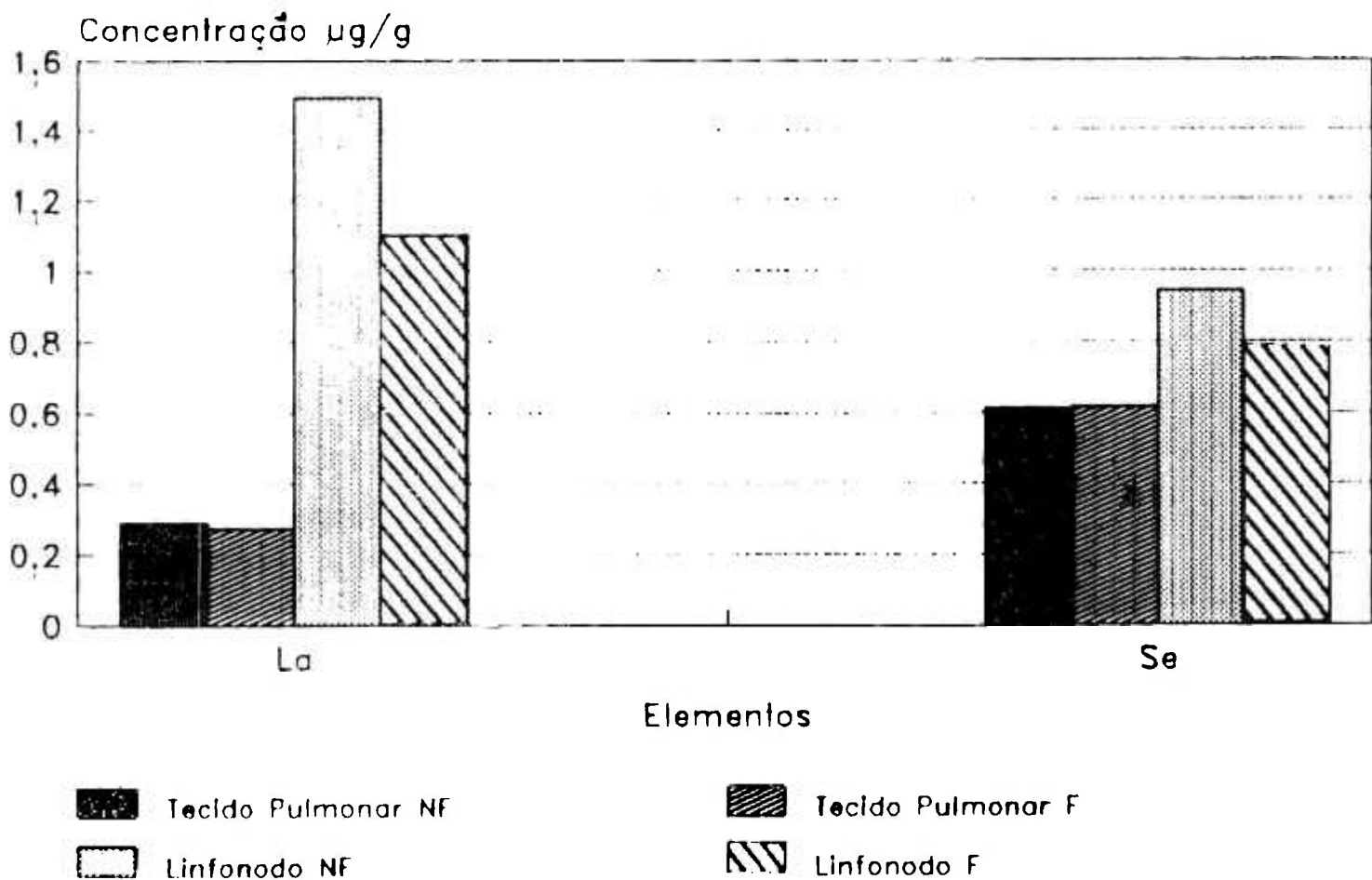


FIGURA IV.4: Concentração de Cr, Mn e Sb  
 Tecido Pulmonar e Linfonodo de NF e F

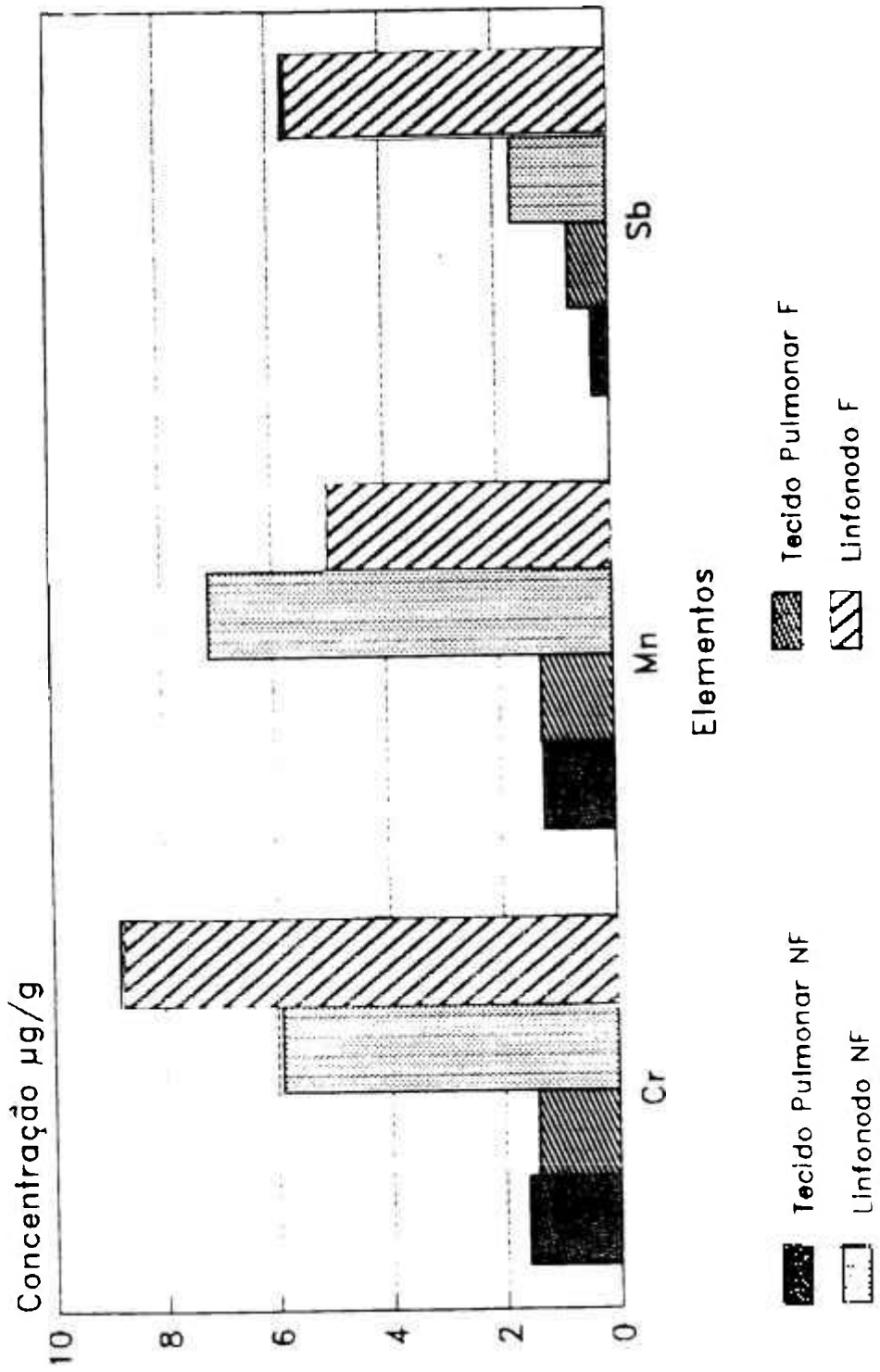


FIGURA IV.5: Concentração de Hf, Sc e Th  
 Tecido Pulmonar e Linfonodo de NF e F

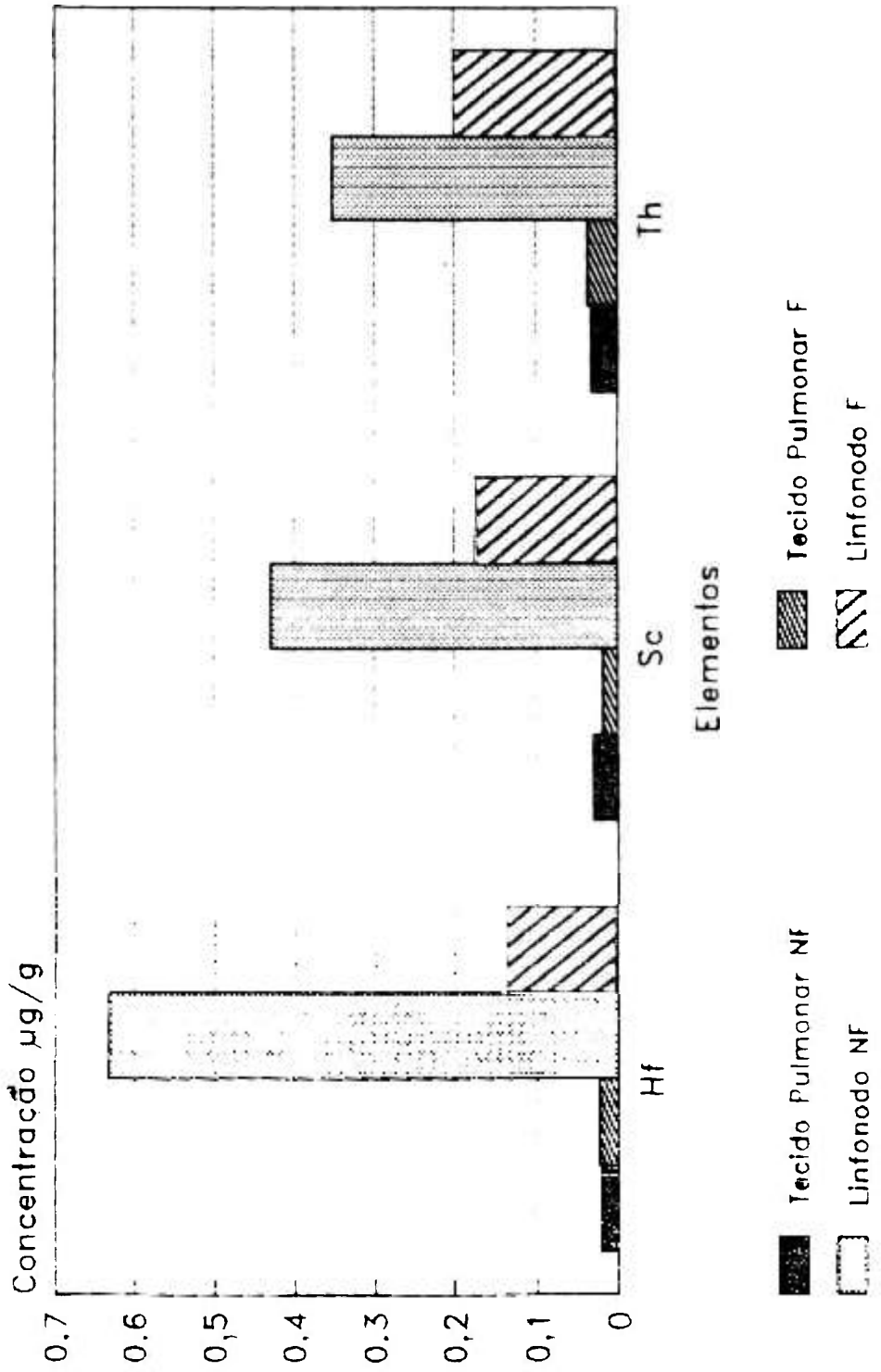




FIGURA IV.6: Concentração de Ce, Co e Cs  
Tecido Pulmonar e Linfonodo de NF e F

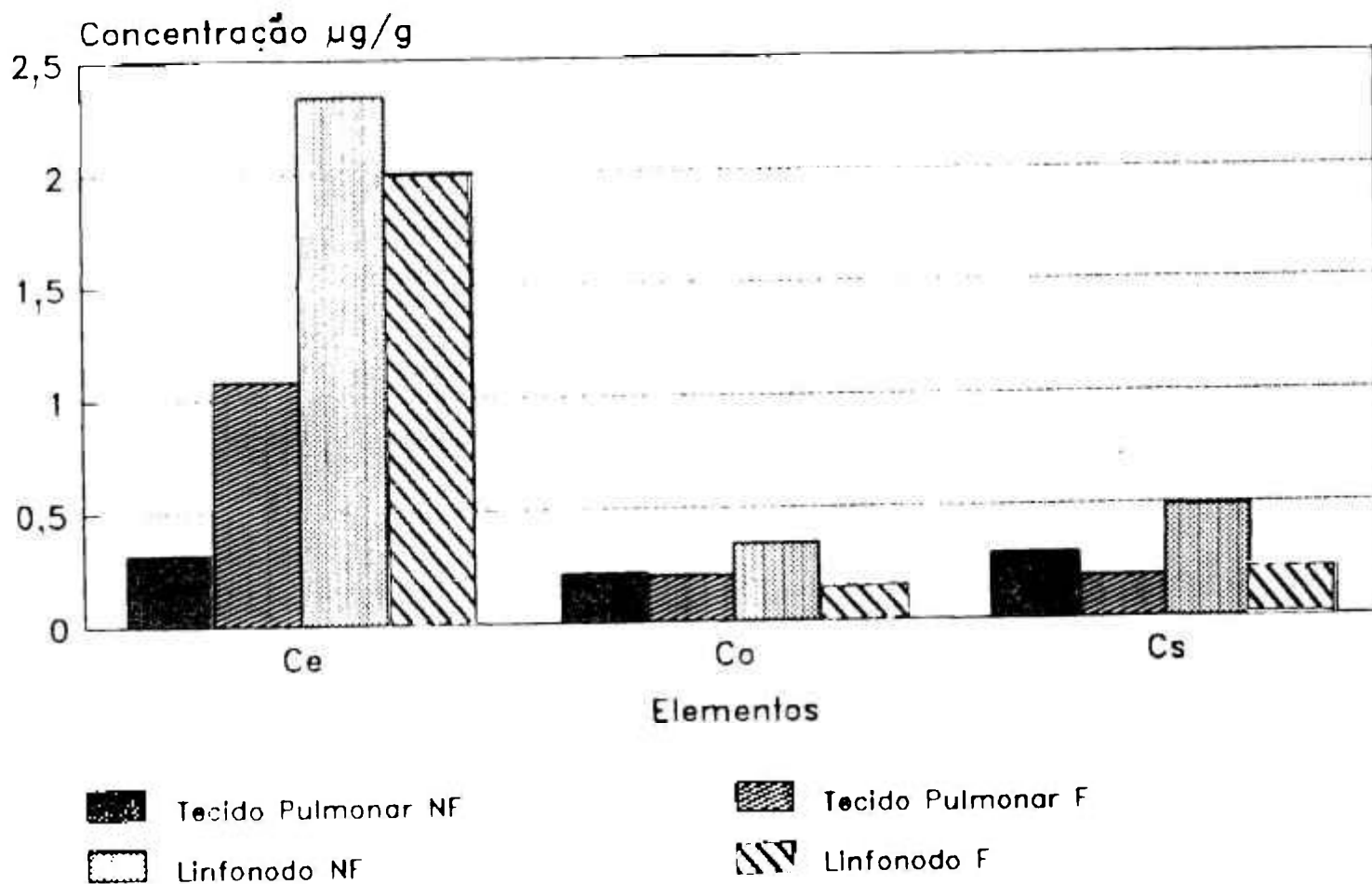


FIGURA IV.7: Concentração de Br, Rb e Zn  
 Tecido Pulmonar e Linfonodo de NF e F

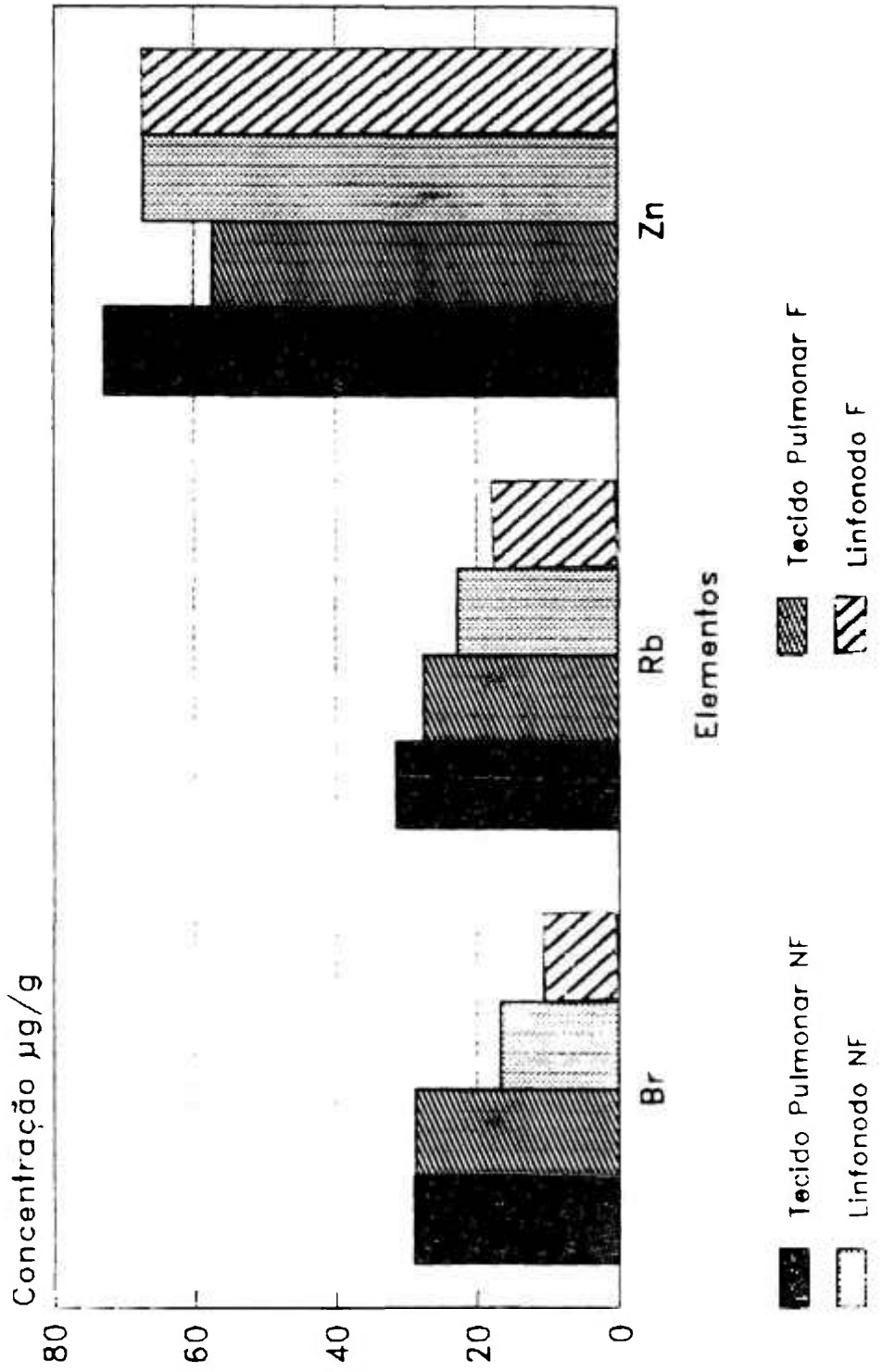
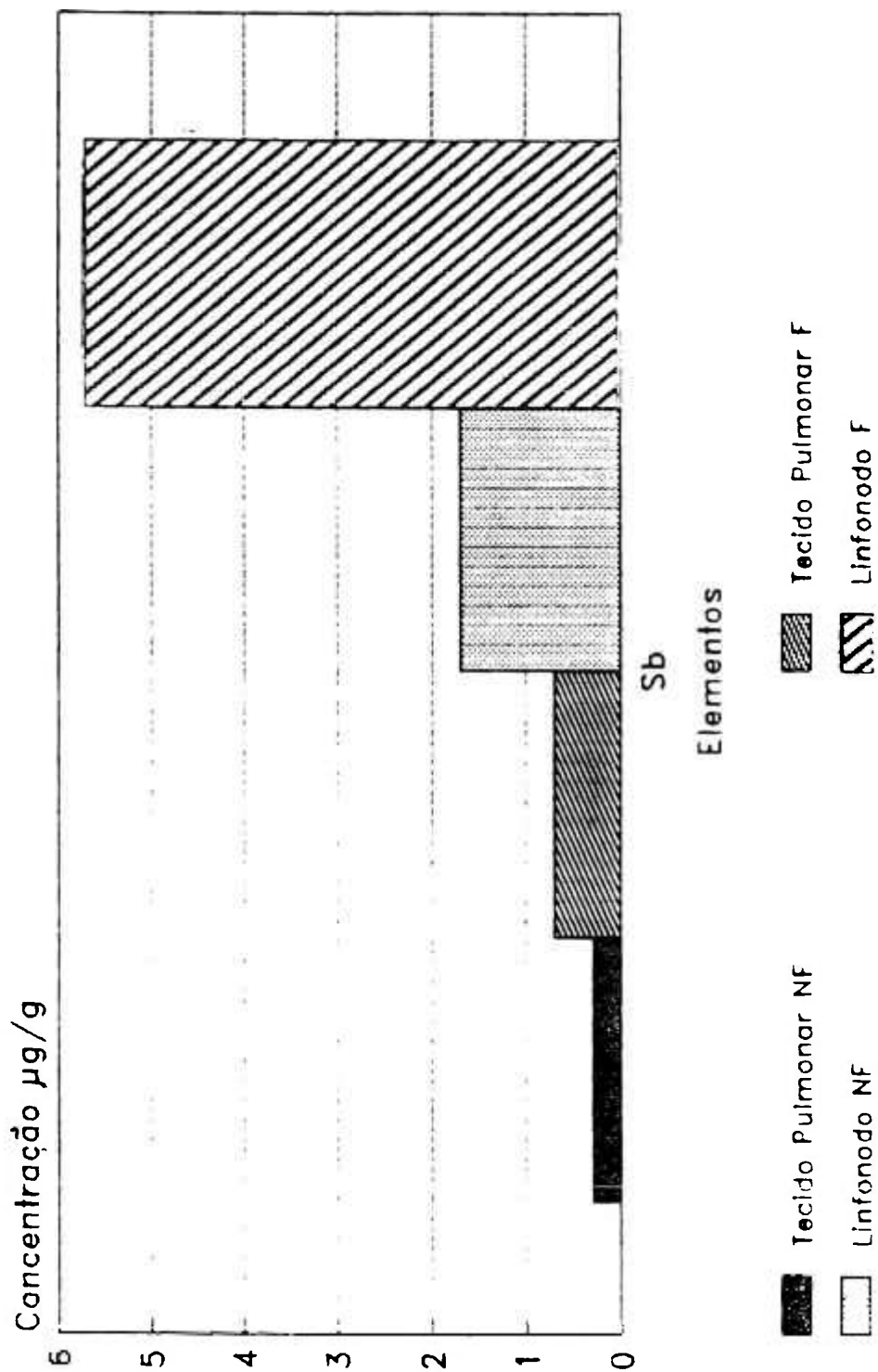


FIGURA IV.8: Concentração de Sb em Tecido Pulmonar de NF e F



## CAPITULO V

### CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram concluir que o método instrumental de análise por ativação com nêutrons é adequado para análise de pulmões, para determinação de um grande número de elementos como Br, Ce, Cl, Cs, Eu, Fe, Hf, K, La, Mn, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Th e Zn e a alta sensibilidade desta técnica possibilitou a determinação de diversos elementos em concentrações da ordem de  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ .

A análise de uma amostra em réplicas mostrou a eficiência do método de homogeneização bem como a reprodutibilidade dos resultados com desvios padrões relativos inferiores a 14,5 % e as análises dos materiais de referência indicaram boa exatidão do método empregado para grande número de elementos. Em geral, os resultados menos precisos e menos exatos foram aqueles obtidos para elementos em concentrações da ordem de  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ .

Os elementos tóxicos como o As, Cd, Cu e Hg não foram determinados no presente trabalho devido a interferência da alta atividade produzida pelos radioisótopos formados principalmente pelos elementos Na, P, Cl e Br que mascaram as atividades menos intensas desses elementos tóxicos que estão em baixas concentrações. Para a determinação desses elementos é necessário realizar uma separação radioquímica. A determinação de Cd nesse tipo de matriz apresenta grande interesse visto que este elemento encontra-se, segundo diversos trabalhos da

literatura<sup>(30,34,51)</sup>, em níveis elevados em órgãos de indivíduos fumantes. A determinação de Pb também apresenta grande interesse, entretanto os seus isótopos não apresentam características nucleares (secção de choque, meia vida, porcentagem isotópica etc.) apropriadas para análise por ativação.

As análises de pulmões de indivíduos não fumantes resultaram no estabelecimento de intervalos de concentrações de elementos traços em indivíduos normais que residiram na cidade de São Paulo. A obtenção destes valores de referência no tecido pulmonar e linfonodos, separadamente, foi uma contribuição do presente trabalho e acredita-se que estes dados poderão fornecer valiosas informações quando se deseja realizar comparações com os dados obtidos para populações expostas a poluentes atmosféricos, indivíduos portadores de doenças pulmonares ou correlatas.

Por outro lado, fazendo uma análise dos resultados obtidos para cada grupo de indivíduos verifica-se que há uma grande flutuação das concentrações de alguns elementos de até dezenas de ordens de grandeza. Por exemplo, as concentrações de Zn nos linfonodos de fumantes variaram de 35,6 a 178,17  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Estas variações nas concentrações de um determinado elemento nos pulmões, dentro de um mesmo grupo de indivíduos, se deve aos fatores biológicos como idade, sexo, metabolismo individual, intensidade do hábito de fumar, assim como do fator geográfico e profissão do indivíduo. Diante desses fatos conclue-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 selecionar rigorosamente o grupo de indivíduos normais dentro dos parâmetros pré estabelecidos, descrito no

Capítulo II deste trabalho.

A comparação das concentrações dos elementos encontrados nos pulmões de indivíduos fumantes e não fumantes mostrou que os elementos Ce, Cr e Sb apresentaram níveis mais elevados no grupo de fumantes.

Apesar das amostras de pulmão de fumantes serem de coloração escura em comparação com as de não fumantes, não houve grande diferença com relação aos teores dos componentes inorgânicos presentes, o que nos leva a concluir que esses componentes provenientes da fumaça do cigarro, são facilmente eliminados dos pulmões e que os compostos orgânicos, também provenientes da fumaça do cigarro, ficam retidos ou são mais dificilmente eliminados, sendo portanto os responsáveis pela pigmentação dos pulmões.

Com relação ao número de amostras analisadas, que no presente trabalho foi de sete indivíduos fumantes, seis não fumantes e um natimorto, consideramos de grande interesse estender estas análises para um número maior de amostras para um exame estatístico dos resultados.

ANEXO 1

Resultados das Análises de Amostras de Pulmão pela INAA de Indivíduos Não Fumantes, em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de material desidratado.

Amostra no.		5741/88	5744/88	5766/88	5767/88	5770/88	6457/88	6459/88
Elemento	Tecido							
Au	pulmonar	0,00686±0,00095	0,00301±0,00066	0,01239±0,00079	0,0118 ± 0,0012	0,00366±0,00047	0,0106 ± 0,0012	0,00669±0,0006
	linfonodo	0,0487 ± 0,0030	0,0054 ± 0,0026	0,0070 ± 0,0020	0,0587 ± 0,0026	0,0109 ± 0,0018	0,0768 ± 0,0061	0,0202 ± 0,002
Br	pulmonar	23,50 ± 0,44	35,96 ± 0,40	22,23 ± 0,41	17,08 ± 0,19	19,53 ± 0,30	32,01 ± 0,28	45,77 ± 0,37
	linfonodo	11,89 ± 0,34	22,50 ± 0,40	13,81 ± 0,47	12,98 ± 0,29	15,04 ± 0,31	12,97 ± 0,58	24,89 ± 0,27
Ce	pulmonar					0,462 ± 0,059	0,167 ± 0,046	
	linfonodo	2,258 ± 0,067	1,974 ± 0,077		0,821 ± 0,116	3,466 ± 0,084	3,334 ± 0,072	2,209 ± 0,059
Cl	pulmonar	19526 ± 1407	11496 ± 654	14587 ± 365	12843 ± 382	10142 ± 503	9955 ± 225	17817 ± 952
	linfonodo	10014 ± 638	7090 ± 542	10340 ± 466	8897 ± 392	10240 ± 438	8544 ± 410	8714 ± 490
Co	pulmonar	0,138 ± 0,012	0,543 ± 0,015	0,0943 ± 0,0074	0,1216 ± 0,0095	0,1346 ± 0,0084	0,1211 ± 0,0094	0,241 ± 0,010
	linfonodo	0,494 ± 0,021	0,534 ± 0,019	0,1066 ± 0,0071	0,233 ± 0,013	0,1335 ± 0,0098	0,345 ± 0,018	0,3291 ± 0,007
Cr	pulmonar	1,879 ± 0,097	1,459 ± 0,098	0,622 ± 0,104	0,996 ± 0,090	3,397 ± 0,076	0,648 ± 0,063	1,239 ± 0,081
	linfonodo	8,215 ± 0,119	4,171 ± 0,111	0,624 ± 0,082	4,914 ± 0,107	5,881 ± 0,116	6,991 ± 0,142	5,270 ± 0,083
Cs	pulmonar	0,253 ± 0,019	0,353 ± 0,021	0,154 ± 0,013	0,348 ± 0,019	0,165 ± 0,013	0,329 ± 0,017	0,282 ± 0,018
	linfonodo	0,350 ± 0,026	0,820 ± 0,047	0,096 ± 0,011	0,450 ± 0,027	0,199 ± 0,019	0,779 ± 0,047	0,337 ± 0,015
Eu	pulmonar		0,0046 ± 0,0015				0,00451±0,00013	
	linfonodo	0,0308 ± 0,0035	0,0204 ± 0,0023		0,0075 ± 0,0017	0,0197 ± 0,0024	0,0417 ± 0,0036	0,0142 ± 0,001
Fe	pulmonar	2643 ± 28	2403 ± 20	1058 ± 15	2786 ± 26	3181 ± 26	1688 ± 18	828 ± 12
	linfonodo	4702 ± 37	2390 ± 25	726 ± 10	650 ± 9	3367 ± 29	1798 ± 21	1170 ± 7
Hf	pulmonar	0,0153 ± 0,0054	0,0378 ± 0,0069	0,0289 ± 0,0052	0,0228 ± 0,0052	0,0151 ± 0,0052	0,0215 ± 0,0048	0,0176 ± 0,005
	linfonodo	0,5503 ± 0,0091	0,3562 ± 0,0099		0,0968 ± 0,0109	0,1261 ± 0,0088	0,2990 ± 0,0096	2,3631 ± 0,014
K	pulmonar	8498 ± 674	8195 ± 625	8628 ± 1236	8279 ± 923	11790 ± 1081	10450 ± 397	8839 ± 580
	linfonodo	7901 ± 443	5588 ± 465	6463 ± 398	7934 ± 453	7559 ± 478	8923 ± 595	4214 ± 351
La	pulmonar	0,246 ± 0,064	0,320 ± 0,061		0,521 ± 0,047	0,240 ± 0,044	0,253 ± 0,060	0,157 ± 0,055
	linfonodo	1,827 ± 0,087	1,368 ± 0,070		0,602 ± 0,063	1,562 ± 0,070	2,198 ± 0,243	1,420 ± 0,063
Mn	pulmonar	1,63 ± 0,61	1,58 ± 0,45	1,21 ± 0,50	1,21 ± 0,47	1,01 ± 0,16	1,19 ± 0,35	1,00 ± 0,44
	linfonodo	10,63 ± 0,53	9,80 ± 0,70	0,15 ± 0,05	3,43 ± 0,37	4,31 ± 0,58	10,18 ± 0,67	4,41 ± 0,38
Na	pulmonar	16482 ± 144	11088 ± 104	11965 ± 143	6320 ± 50	8252 ± 78	8316 ± 54	11233 ± 102
	linfonodo	9760 ± 63	8065 ± 62	8670 ± 57	10212 ± 65	9998 ± 68	10003 ± 73	7943 ± 56
Rb	pulmonar	33,14 ± 0,51	26,57 ± 0,42	33,88 ± 0,49	36,17 ± 0,52	25,96 ± 0,34	39,44 ± 0,50	28,71 ± 0,43
	linfonodo	25,20 ± 0,46	18,00 ± 0,50	22,37 ± 0,43	26,67 ± 0,43	18,19 ± 0,42	33,83 ± 0,58	14,46 ± 0,22
Sb	pulmonar	0,348 ± 0,014	0,202 ± 0,010	0,043 ± 0,010	0,274 ± 0,022	0,3534 ± 0,0080	0,356 ± 0,026	0,218 ± 0,010
	linfonodo	3,197 ± 0,057	0,295 ± 0,042		1,352 ± 0,075	0,886 ± 0,031	2,348 ± 0,094	2,065 ± 0,040
Sc	pulmonar	0,01416±0,00088	0,0004 ± 0,0014	0,00225±0,00070	0,0179 ± 0,0010	0,01966±0,00081	0,0372 ± 0,0010	0,01460±0,0007
	linfonodo	0,6583 ± 0,0078	0,6557 ± 0,0079	0,00420±0,00065	0,2111 ± 0,0030	0,1403 ± 0,0021	0,6473 ± 0,0085	0,2624 ± 0,002
Se	pulmonar	0,636 ± 0,106	0,495 ± 0,093	0,624 ± 0,118	0,611 ± 0,086	0,862 ± 0,079	0,569 ± 0,081	0,524 ± 0,085
	linfonodo	1,172 ± 0,112	0,766 ± 0,097	0,489 ± 0,079	1,071 ± 0,089	1,082 ± 0,120	0,996 ± 0,121	0,574 ± 0,075
Th	pulmonar	0,0195 ± 0,0065	0,0476 ± 0,0056		0,0355 ± 0,0058	0,0296 ± 0,0057	0,0429 ± 0,0042	0,0239 ± 0,004
	linfonodo	0,3652 ± 0,0073	0,3683 ± 0,0087	0,0355 ± 0,0058	0,1799 ± 0,0097	0,1996 ± 0,0074	0,5010 ± 0,0079	0,4904 ± 0,007
Zn	pulmonar	60,58 ± 0,73	63,25 ± 0,60	65,70 ± 0,83	113,31 ± 0,97	68,09 ± 0,85	74,02 ± 0,89	58,28 ± 0,61
	linfonodo	66,80 ± 0,46	63,80 ± 0,40	68,34 ± 0,36	77,52 ± 0,42	67,19 ± 0,46	70,63 ± 0,50	57,53 ± 1,29

ANEXO 2

Resultados das Análises de Amostras de Pulmão pela INAA de Indivíduos Funantes, em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de material desidratado.

Amostra no.		5742/88	6460/88	6464/88	8042/90	1475/90	1488/90	1778/90
Elemento	Tecido							
Au	pulmonar	$0,0081 \pm 0,0029$		$0,0066 \pm 0,0020$	$0,00429 \pm 0,00044$	$0,0161 \pm 0,0021$	$0,0151 \pm 0,0021$	$0,0088 \pm 0,0021$
	linfonodo	$0,0080 \pm 0,0018$	$0,0032 \pm 0,0011$	$0,0047 \pm 0,0023$	$0,0260 \pm 0,0023$	$0,0310 \pm 0,0018$	$0,0151 \pm 0,0021$	$0,0464 \pm 0,0025$
Br	pulmonar	$27,36 \pm 0,47$	$25,10 \pm 0,40$	$24,65 \pm 0,38$	$39,74 \pm 0,35$	$38,64 \pm 0,34$	$19,00 \pm 0,24$	$26,87 \pm 0,28$
	linfonodo	$9,53 \pm 0,24$	$4,90 \pm 0,14$	$11,81 \pm 0,28$	$26,10 \pm 0,31$	$5,89 \pm 0,17$	$8,06 \pm 0,20$	$7,51 \pm 0,23$
Ce	pulmonar		$0,278 \pm 0,045$	$0,331 \pm 0,067$	$1,832 \pm 0,058$	$2,893 \pm 0,055$		$0,855 \pm 0,061$
	linfonodo	$0,296 \pm 0,057$	$0,760 \pm 0,050$	$2,011 \pm 0,062$	$1,736 \pm 0,072$	$2,592 \pm 0,063$	$0,759 \pm 0,077$	$5,853 \pm 0,111$
Cl	pulmonar	$15873 \pm 1372$	$9378 \pm 474$	$8938 \pm 250$	$9142 \pm 402$	$11126 \pm 536$	$9775 \pm 406$	$11229 \pm 460$
	linfonodo	$8824 \pm 391$	$2605 \pm 169$	$8706 \pm 321$	$7063 \pm 372$	$5521 \pm 236$	$6759 \pm 330$	$6163 \pm 476$
Co	pulmonar	$0,1499 \pm 0,0097$	$0,4356 \pm 0,0135$	$0,1115 \pm 0,0082$	$0,0733 \pm 0,0070$	$0,292 \pm 0,012$	$0,174 \pm 0,011$	$0,192 \pm 0,011$
	linfonodo	$0,0667 \pm 0,0038$	$0,1328 \pm 0,0077$	$0,2319 \pm 0,0080$	$0,1069 \pm 0,0084$	$0,146 \pm 0,011$	$0,105 \pm 0,011$	$0,267 \pm 0,026$
Cr	pulmonar	$1,091 \pm 0,082$	$2,517 \pm 0,076$	$1,158 \pm 0,078$	$0,485 \pm 0,067$	$1,621 \pm 0,065$	$1,045 \pm 0,078$	$2,085 \pm 0,073$
	linfonodo	$2,859 \pm 0,061$	$2,467 \pm 0,063$	$7,69 \pm 0,11$	$1,699 \pm 0,073$	$6,621 \pm 0,089$	$7,90 \pm 0,11$	$33,25 \pm 0,25$
Cs	pulmonar	$0,124 \pm 0,012$	$0,179 \pm 0,012$	$0,241 \pm 0,016$	$0,230 \pm 0,013$	$0,148 \pm 0,011$	$0,221 \pm 0,014$	$0,151 \pm 0,011$
	linfonodo	$0,0758 \pm 0,0063$	$0,204 \pm 0,014$	$0,240 \pm 0,014$	$0,154 \pm 0,013$	$0,289 \pm 0,016$	$0,213 \pm 0,014$	$0,293 \pm 0,023$
Eu	pulmonar							
	linfonodo	$0,00690 \pm 0,00063$	$0,0065 \pm 0,0015$	$0,0292 \pm 0,0014$		$0,0189 \pm 0,0025$		$0,0278 \pm 0,0076$
Fe	pulmonar	$2844 \pm 22$	$1330 \pm 14$	$3282 \pm 29$	$1381 \pm 14$	$1118 \pm 13$	$2876 \pm 19$	$1029 \pm 12$
	linfonodo	$1299 \pm 6$	$567 \pm 9$	$1456 \pm 8$	$1075 \pm 13$	$1801 \pm 18$	$1110 \pm 13$	$2977 \pm 30$
Hf	pulmonar	$0,0147 \pm 0,0049$	$0,0118 \pm 0,0043$	$0,0191 \pm 0,0064$		$0,0491 \pm 0,0060$		
	linfonodo	$0,0128 \pm 0,0050$	$0,0597 \pm 0,0057$	$0,4470 \pm 0,0071$	$0,0209 \pm 0,0073$	$0,1633 \pm 0,0070$	$0,0572 \pm 0,0076$	$0,183 \pm 0,014$
K	pulmonar	$9480 \pm 486$	$12487 \pm 635$	$10352 \pm 817$	$8704 \pm 378$	$6991 \pm 365$	$11270 \pm 486$	$7409 \pm 409$
	linfonodo	$4841 \pm 421$	$3280 \pm 208$	$8277 \pm 430$	$5762 \pm 372$	$5646 \pm 331$	$8430 \pm 389$	$4986 \pm 443$
La	pulmonar	$0,297 \pm 0,075$	$0,281 \pm 0,060$	$0,231 \pm 0,047$	$0,378 \pm 0,050$	$0,343 \pm 0,053$	$0,127 \pm 0,049$	
	linfonodo		$0,434 \pm 0,034$	$1,341 \pm 0,071$	$0,365 \pm 0,057$	$1,895 \pm 0,062$	$0,406 \pm 0,049$	$2,179 \pm 0,067$
Mn	pulmonar		$1,81 \pm 0,30$	$1,01 \pm 0,32$	$0,67 \pm 0,25$	$1,12 \pm 0,32$	$1,70 \pm 0,57$	$1,34 \pm 0,44$
	linfonodo	$0,87 \pm 0,38$	$4,83 \pm 0,34$	$11,65 \pm 0,49$	$1,62 \pm 0,30$	$5,57 \pm 0,42$	$4,95 \pm 0,54$	$5,55 \pm 0,42$
Na	pulmonar	$14713 \pm 89$	$11740 \pm 83$	$6475 \pm 79$	$8895 \pm 60$	$9586 \pm 65$	$7471 \pm 49$	$10087 \pm 67$
	linfonodo	$8397 \pm 61$	$3594 \pm 27$	$9356 \pm 63$	$8619 \pm 61$	$5038 \pm 34$	$6212 \pm 41$	$7335 \pm 59$
Rb	pulmonar	$22,48 \pm 0,39$	$22,65 \pm 0,33$	$37,23 \pm 0,52$	$32,96 \pm 0,39$	$19,20 \pm 0,34$	$34,89 \pm 0,39$	$22,96 \pm 0,32$
	linfonodo	$10,35 \pm 0,14$	$7,93 \pm 0,28$	$26,03 \pm 0,22$	$22,05 \pm 0,35$	$12,74 \pm 0,30$	$24,04 \pm 0,38$	$18,71 \pm 0,47$
Sb	pulmonar	$0,183 \pm 0,051$	$1,049 \pm 0,013$	$0,347 \pm 0,35$	$0,1384 \pm 0,0063$	$0,873 \pm 0,035$	$1,172 \pm 0,035$	$1,187 \pm 0,035$
	linfonodo	$0,515 \pm 0,033$	$1,275 \pm 0,027$	$2,210 \pm 0,046$	$1,091 \pm 0,039$	$2,877 \pm 0,036$	$0,187 \pm 0,058$	$24,07 \pm 0,11$
Sc	pulmonar	$0,00550 \pm 0,00078$	$0,03411 \pm 0,00079$	$0,01911 \pm 0,00085$	$0,00319 \pm 0,00057$	$0,04854 \pm 0,00002$	$0,00703 \pm 0,00071$	$0,01688 \pm 0,00071$
	linfonodo	$0,01183 \pm 0,00040$	$0,1255 \pm 0,0017$	$0,4198 \pm 0,0031$	$0,01757 \pm 0,00081$	$0,2587 \pm 0,0030$	$0,0766 \pm 0,0012$	$0,3892 \pm 0,0031$
Se	pulmonar	$0,819 \pm 0,088$	$0,633 \pm 0,074$	$0,769 \pm 0,083$	$0,533 \pm 0,080$	$0,543 \pm 0,076$	$0,560 \pm 0,065$	$0,482 \pm 0,078$
	linfonodo	$0,458 \pm 0,063$	$0,520 \pm 0,058$	$1,277 \pm 0,109$	$0,704 \pm 0,083$	$0,659 \pm 0,074$	$0,812 \pm 0,094$	$1,041 \pm 0,159$
Th	pulmonar	$0,0160 \pm 0,0049$	$0,0418 \pm 0,0046$	$0,0154 \pm 0,0064$		$0,1035 \pm 0,0053$	$0,0110 \pm 0,0028$	$0,0328 \pm 0,005$
	linfonodo	$0,0252 \pm 0,0051$	$0,1171 \pm 0,0047$	$0,2867 \pm 0,0059$	$0,0399 \pm 0,0050$	$0,3574 \pm 0,0065$	$0,1077 \pm 0,0074$	$0,448 \pm 0,012$
Zn	pulmonar	$54,50 \pm 0,70$	$57,62 \pm 0,66$	$58,26 \pm 0,66$	$54,49 \pm 0,59$	$65,41 \pm 0,80$	$59,21 \pm 0,71$	$51,82 \pm 0,60$
	linfonodo	$37,84 \pm 0,25$	$35,86 \pm 0,28$	$60,54 \pm 0,71$	$178,17 \pm 1,32$	$40,78 \pm 0,82$	$58,77 \pm 0,67$	$61,24 \pm 0,51$



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, F. & DAMS, R.. A compilation of precisely determined gamma-transition energies of radionuclides produced by reactor irradiation. *J. Radioanal. Chem.*, 3: 99-125, 1969.
2. ALIMONTI, A.; CONI, E.; CAROLI, S.; SABBIONI, E.; NICOLAOU, G.E.; PIETRA, R.. Critical comparison of performances of inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and neutron activation analysis for the determination of elements in human lungs. *J. Anal. At. Spectrosc.*, 4(7): 577-80, 1989.
3. AVERBACH, O.; STOUT, A.P.; HAMMOND, E.C.; GARFINKEL, L.. Changes in bronchial epithelium in relation to cigarette smoking and in relation to lung cancer. *N. Engl. J. Med.*, 265 (6): 253-67, 1961.
4. BARTSCH, P.; COLLIGNON, A.; WEBER, G.; ROBAYE, G.; DELBROUCK, J.M.; ROELANDTS, J.; YUJIE, J.. Distribution of metals in human lung: analysis by particle induced X-ray emission. *Arch. Environ. Hlth.* 37: 111-7, 1982. apud VANOETERN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue.* Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
5. BLACK, W.W.. Application of correlation techniques to isolate structure in experimental data. *Nucl. Instr. Methods.* 71: 317-27, 1969.
- 6- BRUNE, D.; NORDBERG, G.F.; WESTER, P.O.; BIVERED, B.. Accumulation of heavy metals in tissues of industrially exposed workers. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Nuclear activation techniques in the life sciences: International Symposium on ... held in Vienna, 22-26 May, 1978.* Vienna, 1979. p. 643-55. (IAEA - SM 227/12).
- 7- BYRNE, A.R.; CAMARA-RICA, C.; CORNELIS, R.; GOEIJ, J.J.M.; IYENGAR, G. V.; KIRKBRIGHT, G.; KNAPP, G.; PARR, R. M.; STOEPLER, M.. Results of a co-ordinated research programme to improve the certification of IAEA milk powder A-11 and animal muscle H-4 for eleven "difficult" trace elements. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 326: 723-9, 1987.
8. CHISELA, F.; GAWLIK, D.; BRÄTTER, P.. Instrumental determination of some trace elements in biological materials by epithermal and thermal neutron activation analysis. *Analyst*, 111: 405,10, 1986.

9. CHURCH, D.F.; BURKLEY, T.J.; PRYOR, W.A.. Preparation of human lung tissue from cigarette smokers for analysis by electron spin resonance spectroscopy. *Methods Enzymol.* 186: 665-9, 1990.
10. CORNELIS, R.. Sample handling of clinical specimens for ultratrace element analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, 112 (1): 141-50, 1987.
11. CORNELIS, R.; SPEECKE, A.; HOSTE, J.. Neutron activation analysis for bulk and trace elements in urine. *Anal. Chim. Acta*, 78: 317-27, 1975.
12. COVELL, D.F.. Determination of gamma-ray abundance directly from the total absorption peak. *Anal. Chem.*, 31: 1785-90, 1959.
13. DONEV, I.Y.. Rapid homogenization and drying of biological materials. *J. Radioanal. Chem.*, 39: 317-22, 1977.
14. DONEV, I.; RADONOV, S.; STOEV, S.; MARICHKOVA, L.; DAMIANOVA, A.; GOTSEV, G.. Multi - element analysis of some tissues from patients with endemic nephropathy. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Nuclear activation techniques in the life sciences: international symposium on ... held in Vienna, 22-26 May, 1978*. Vienna, 1979. p. 293-305. (IAEA - SM 227/86).
15. EL-AMRI, F.A.; SALEH, A.I.; EL-GNIDY, B.A.. Determination of trace element concentrations of Libyan chewing and cigarette tobacco by instrumental neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters* 135(4): 273-9, 1989.
16. ERMALA, P. & HOLSTI, L.R.. Distribution of tobacco tar in the organs of the respiratory tract. *Cancer*, 8(4): 673-8, 1955.
17. FRIELANDER, G.; KENNEDY, J.W.; MILLER, J.M.. *Nuclear and Radiochemistry*. New York, John Willey, 1964. p.535.
18. GIBBS, G.W.; BOGDANOVIC, E.. Trace elements in lung and hair. Recent advances in the assessment of the health effects of environmental pollution, Paris (1974). *Proc. Symp., Paris, 1974*. p.2271-83. apud VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue*. Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR

- 10440 END.

19. INGRAO, G.; BELLONI, P.; DI PIETRO, S.; SANTARONI, G.P.. Levels of some trace elements in selected autopsy organs, and in hair and blood samples from adult subjects of the Italian population. In: SCHRAUZER, G. N. Biological trace element research. s.l.p., Humana Press, 1990. p.699-708.
20. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY ADVISORY GROUP. Quality assurance in biomedical neutron activation analysis. *Anal.Chim.Acta*, 165:1-29, 1984
21. IYENGAR, G. V. & KASPERECK, K.. Application of the brittle fracture technique (BGT) to homogenise biological samples and some observations regarding the distribution behavior of the trace elements at different levels in a biological matrix. *J.Radioanal.Chem.*, 39: 301-6, 1977.
22. IYENGAR, G.V.. Post mortem changes of the elemental composition of autopsy specimens: variation of K, Na, Mg, Ca, Cl, Fe, Zn, Cu, Mn and Rb in rat liver. *Sci.Total Environ.* 15: 217-36, 1980.
23. IYENGAR, G.V.. Presampling factors. *J.Research NBS*, 91(2): 67-74, 1986.
24. IYENGAR, G.V.. Biological, environmental, compositional, and methodological aspects of trace elements. In: IYENGAR, G.V.. Elemental analysis of biological systems. Boca Raton, Florida, CRC Press, Inc., 1990. p.9.
25. JOOSTING, P. E.. Depositie van aerosolen in de ademhalingswegen. *De Veiligheid* 5: 419-425, 1979. apud VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue. Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 END).
26. KIEM, J.; RUMPF, G.; BEYER, K.H.; KOSLOWSKI, G.. Weight loss as error source in neutron activation analysis of biological samples. *Frenesius Z. Anal. Chem.*, 326: 221-5, 1987.
27. KRISHNAN, S.S.; HARRISON, J.E.; JERVIS, R.E.; HITCHMAN, A.J.W.; DOWLATI, R.; LUI, S.M.W.; KRISHNAN, B.. Studies of skeletal cadmium assay and toxicity. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, 124 (1): 79-84, 1988.
28. KOSTA, L. Contamination as a limiting parameter in trace

analysis. *Talanta*, 29: 985-92, 1982

29. LAVI, N. & ALFASSI, Z.B.. Determination of trace amounts of cadmium, cobalt, chromium, iron, molybdenum, nickel, selenium, titanium, vanadium and zinc in blood and milk by neutron activation analysis. *Analyst*, 115: 817-22, 1990.
30. LEWIS, G.P.; JUSKO, W.J.; COUGHLIN, L.L. Cadmium accumulation in man: influence of smoking, occupation, alcoholic habit and disease. *J.Chronic Dis.*, 25: 717-26, 1972. apud VANOETEREN, C.; CORNELLIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue*. Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
31. LIMA, F. W. & ATALLA, L.T.. A simple program in "basic" language for analysis of gamma spectra using an on-line minicomputer. *J.Radioanal.Chem.*, 20: 769-77, 1974.
32. LUX, F.; BEREZNAI, T.; TREBERT HAEBERLIN, S.. Minimization of the blank values in the neutron activation analysis of biological samples considering the whole procedure. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, 112 (1): 161-8, 1987.
33. MAIHARA, V.A.. *Aplicação do método de análise por ativação com nêutrons à determinação multielementar de amostras de alimentos*. São Paulo, 1985 (Dissertação de Mestrado, IPEN, CNEN/SP).
34. MCKENZIE, J.M.. Tissue concentration of cadmium, zinc and copper from autopsy samples. *NZ. Med. J.*, 12: 1016-9, 1974. apud VANOETEREN, C.; CORNELLIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue*. Brussels,, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
35. MUNITA, C. S. & MAZZILLI, B. P.. Determination of trace elements in brazilian cigarette tobacco by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, 108: 217-27, 1986.
36. MURAMATSU, Y. & PARR, R.M.. *Survey of currently available reference materials for use in connection with the determination of trace elements in biological and environmental materials*. Vienna, IAEA, Dec. 1985. (IAEA/RL/128).
37. NATIONAL BUREAU OF STANDARDS. Certificate of analysis standard reference material 1577a - bovine liver. Washington, D. C., 1982. (Revision of Certificate 315/82)

38. NEUBERGER, M. & KUNDI, M. Occupational dust exposure and cancer mortality - results of a prospective cohort study. *Arch. Geschwulstforsch.*, 61 (1): 47-53, 1991.
39. OKAMOTO, K. Certified reference material program at National Institute for Environmental Studies. *Anal. Sci.* 1: 206-7, 1985.
40. OKAMOTO, K. A new certified reference material: Vehicle Exhaust Particulates. *Anal. Sci.*, 3: 191-2, 1987.
41. PARR, R. M. Technical consideration for sampling and sample preparation of biomedical samples for trace element analysis. *J. Research NBS*, 91(2): 51-7, 1986.
42. PIETRA, R.; SABBIONI, E.; UBERTALLI, L.; ORVINI, E.; VOCATURO, G.; COLOMBO, F.; ZANONI, M. Trace elements in tissues of a worker affected by rare earths pneumoconiosis. A study carried out by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, 92 (2): 241-59, 1985.
43. PITOMBO, R.N.M. A liofilização como técnica de conservação de material de pesquisa. *Cienc. Cult.*, 41 (5): 427-31, 1989.
44. PLATIN, L.O. Trace elements in cardiovascular diseases. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY *Nuclear activation techniques in the life sciences: international symposium on ... held in Vienna, 22-16 May, 1978.* Vienna, 1979. p. 321-31. (IAEA - SM. 227/95).
45. SABBIONI, E.; PIETRA, R.; MOUSTY, F.; COLOMBO, F.; RIZZATO, G.; SCANSETTI, G. Trace metals in human lung as determined by neutron activation analysis of bronchoalveolar lavage. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, 110(2): 595-601, 1987.
46. SABBIONI, E.; NICOLAOU, G.R.; PIETRA, R.; BECCALONI, E.; CONI, E.; ALIMONTI, A.; CAROLI, S. Inductively coupled atomic emission spectrometry and neutron activation analysis for the determination of element reference values in human lung tissue. In: SCHRAUZER, G.N. *Biological trace element research.* s.l.p., Humana Press, 1990. p. 767-768.
47. SALDIVA, P.H.N. Comunicação pessoal.

48. SARMANI, S.. A study of trace elements in human hair of some local population in Malaysia. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, 110(2): 627-32, 1987.
49. SATO, T. & KATO, T.. Determination of trace elements in various organs of rats by thermal neutron activation analysis. *J. Radioanal. Chem.* 53(1/2): 181-90, 1979.
50. STAHLFEN, W.. Aerosols: Research, risk assessment and control strategies. In: *Proceedings of the second U.S.-Dutch International Symposium, Williamsburg, Virginia, The United States, May 19-25, 1985.* p.520.
51. SWEET, D.V.; CROUSE, W.E.; CRABLE, J.V.. Chemical and statistical studies of contaminants in urban lungs. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 39: 515-26, 1978. apud VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue.* Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
52. TASKAEV, E.; PENEV, I; KINOVA, L.. Radiochemical determination of mercury, arsenic, cadmium, zinc and copper in biological materials. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, 120 (1): 83-8, 1988.
53. TERAJ, M.; AKABANE, A.; MATSUMOTO, M.; HASHIMOTO, K.. An application of neutron activation analysis to biological materials. III Natural abundance of small and micro amounts of elements and their interactions on human tissues. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 52(10): 2892-6, 1979.
54. TIPTON, I.H.; COOK, M.J.; STEINER, R.L.; BOYE, C.A.; PERRY, H.M.; SCHROEDER, H.A.: Trace elements in human tissue. Part I Methods. *Health Phys.* 9: 89-101, 1963. apud VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue.* Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
55. TIPTON, I.H.; COOK, M.J.: Trace elements in human tissue. Part II. Adult subjects from the United States. *Health Phys.* 9: 103-145, 1963. apud VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue.* Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
56. TIPTON, I.H.; SCHROEDER, H.A.; PERRY, H.H.; COOK, M.J.. Trace elements in human tissue. Part III. Subjects from Africa, the near and far east and Europe. *Health Phys.* 11: 403-51,

1965. apud VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue*. Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
57. TORO, E.C.; PARR, R.M.; CLEMENTS, S.A.. Biological and environmental reference materials for trace elements and organic microcontaminants. Vienna, IAEA, 1990. (IAEA/ RL/ 128) (Rev.1)
58. URE, A.M.; SHAND, C.A.; AGGETT, P.J.. 2nd Intern. Workshop trace elemental analytical chemistry in medicine and biology. apud VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. *Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue*. Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
59. VALCOVIC, V.. Application of nuclear analytical techniques in the study of trace element role in biology and medicine. *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res.*, 40/41: 848-52, 1989.
60. VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; VERSIECK, J.; HOSTE, J.; De ROOSE, J.. Trace element pattern in human lung tissue. *J. Radioanal. Chem.*, 70(1/2): 219-38, 1982.
61. VANOETEREN, C.; CORNELIS, R.; SABBIONI, E.. Critical evaluation of normal levels of major and trace elements in human lung tissue. Brussels, Commission of the European Communities, Mar. 1986. (EUR - 10440 EN).
62. VERSIECK, J. & CORNELIS, R.. Normal levels of trace elements in human blood plasma or serum. *Anal. Chim. Acta*, 116: 217-254, 1980.
63. VERSIECK, J.; BARBIER, F.; CORNELIS, R.; HOSTE, J.. Sample contamination as a source of error in trace element analysis of biological samples. *Talanta*, 29: 973-84, 1982.
64. WAINERDI, R.E.. Reference material for trace analysis by radioanalytical methods: Bowen's Kale. *Pure Appl. Chem.*, 51 (5): 1183-93, 1979.
65. WOBRAUSCHEK, P. & AIGINGER, H. X-ray total reflection fluorescence analysis. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Measurement, detection and control of environmental pollutants: proceedings of a symposium on the development of nuclear-based techniques for the ... held in Vienna, 15-19 March, 1976*. Vienna, 1976.

66. XILEI, L.; VAN RENTERGHEM, D.; CORNELIS, R.; MEES, L.. Radiochemical neutron activation analysis for thirteen trace metals in human blood serum by using inorganic ion-exchangers. *Anal. Chim. Acta*, 211: 231-41, 1988.
67. YAMAGUCHI, K.; BANDO, M.; NAKAJIMA, A.; TERAJ, M.; SUZUKI-YASUMOTO, M.. An application of neutron activation analysis to biological materials. IV. Approach to simultaneous determination of trace elements in human eye tissues with non-destructive neutron activation analysis. *J. Radioanal. Chem.* 57(1): 169-183, 1980.
68. YUKAWA, M.; SUZUKI-YASUMOTO, M.; AMANO, K.; TERAJ, M.. Distribution of trace elements in the human body determined by neutron activation analysis. *Arch. Environ. Health*, 35(1): 36-44, 1980.
69. ZEISLER, R. ; LANGLAND, J. K.; HARRISON, S.H.. Criogenic homogenization of biological tissues. *Anal. Chem.*, 55: 2431-4, 1983.
70. ZEISLER, R.; HARRISON, S.H.; WISE, S.A.. The pilot national environmental specimen bank - analysis of human liver specimens. Washington, D.C., NATIONAL BUREAU OF STANDARDS, Aug. 1983. p. 5-18.
71. ZHUK, L.I.; KIST, A.A.; MIKHOLSKAYA, I.N.; OSINSKAYA, N.S.; TILLYEV, T.; TURSUNBAYEV, S.I.; AGZAMOVA, S.V.. Elemental blood composition of the inhabitants of UZBEKISTAN. *J. Radioanal. Nucl. Chem, Articles*, 120 (2): 369-77, 1988.