



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO

**ANÁLISE DE MERCÚRIO E SELÊNIO EM MATERIAIS  
BIOLÓGICOS PELO MÉTODO DE ANÁLISE  
POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS**

**MARÍLIA GABRIELA MIRANDA CATHARINO**

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

Orientadora:  
Dra. Marina Beatriz Agostini Vascon-  
cellos.

**São Paulo  
2002**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

**Autarquia Associada à Universidade de São Paulo**

**ANÁLISE DE MERCÚRIO E SELÊNIO EM MATERIAIS  
BIOLÓGICOS PELO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM  
NÊUTRONS**



**MARÍLIA GABRIELA MIRANDA CATHARINO**

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

**Orientadora:**

Dra. Marina Beatriz Agostini Vasconcellos

**São Paulo**

**2002**

*Aos meus pais e irmãos*  
*Ao Gedival*

## AGRADECIMENTOS

À Dra. Marina Beatriz, Agostini Vasconcellos, pela orientação dada a este trabalho, e pela confiança em mim depositada.

À Dra. Déborah Fávaro do IPEN - Supervisão de Radioquímica, pela coleta de amostras de cabelo no Amapá.

Ao Dr. Danilo e a Dra. Roseli Cipriano da Faculdade de Odontologia da USP e da Universidade de Santo Amaro (UNISA) pelas amostras cedidas.

À CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Ao IPEN/CNEN-SP, pela oportunidade de realizar este trabalho, nos laboratórios da Supervisão de Radioquímica.

Aos Drs. Roberto G. Baruzzi e Douglas A. Rodrigues, da UNIFESP, pela coleta de amostras de cabelo no Parque Indígena do Xingu.

À Dra. Mitiko Saiki, pelo auxílio e apoio que contribuíram para realização deste trabalho, e aos demais integrantes da Supervisão de Radioquímica do IPEN, Dras. Ana, Déborah, Vera, Maria José (Tata) e Rosemeire e Casimiro, pelo apoio e incentivo.

Aos amigos Amilton, Lena, Makoto, Regina e Edson Moreira, pela amizade e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Marcelo, Fábio Toledo, Mário, Renato, Claudia, Daniela C., Sheila, Carlinha, Cláudio, Tony, Suzana, Edson Alves e Irene pela amizade e convivência.

Às amigas Luciana e Sila pela amizade, apoio e convívio.

Ao Ricardo, Roberto e Andreza pelo incentivo, amizade e sugestões para conclusão deste trabalho.

Em especial

Ao Rubens C. L. Figueira pelas discussões, apoio e esclarecimentos para a realização deste trabalho.

# **ANÁLISE DE MERCÚRIO E SELÊNIO EM MATERIAIS BIOLÓGICOS PELO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS**

**Marília Gabriela Miranda Catharino**

## **RESUMO**

No presente trabalho foram analisadas amostras de cabelos de populações sob suspeita de contaminação por mercúrio, provenientes da Serra do Navio, Vila Nova e Tartarugalzinho, no estado do Amapá. Foram analisadas também amostras de cabelos de crianças em tratamento odontopediátrico, para a verificação da transferência do mercúrio do amálgama dentário e também para a obtenção de dados para uma população controle de crianças. Uma outra etapa do trabalho foi o desenvolvimento do método para a determinação de selênio, por meio do radioisótopo  $^{77m}\text{Se}$ , de meia-vida curta. Após a certificação do método, este foi aplicado às matrizes unhas e suplemento vitamínico. Foi feita uma comparação com os resultados obtidos por meio do radioisótopo de meia-vida longa,  $^{75}\text{Se}$ . Os resultados obtidos para a determinação de mercúrio nas regiões analisadas, no Estado do Amapá, mostraram que as médias de concentração para o elemento são mais altas do que as médias obtidas para a população controle analisada. Para as amostras de cabelos das crianças em tratamento odontopediátrico não se observou nenhum aumento significativo da concentração de mercúrio nos cabelos, após o tratamento, sendo que esse estudo foi muito importante para a obtenção de dados de uma população controle de crianças. Com os resultados obtidos para o teor de selênio, podemos dizer que o método estabelecido, por meio do radioisótopo  $^{77m}\text{Se}$ , demonstrou ser bastante aplicável às matrizes estudadas, obtendo-se resultados comparáveis aos encontrados usando-se o método usual de AANI, com o radioisótopo  $^{75}\text{Se}$ .

# **ANALYSIS OF MERCURY AND SELENIUM IN BIOLOGICAL SAMPLES BY NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS**

**Marília Gabriela Miranda Catharino**

## **ABSTRACT**

In the present work, hair samples from populations suspected of contamination by mercury, in the localities of Serra do Navio, Vila Nova and Tartarugalzinho, in the State of Amapá, were analyzed. Hair samples of children under odontopediatric treatment were also analyzed for mercury, in order to study the possibility of transfer of mercury from the dental amalgam and also to obtain data of hair mercury in a control population of children. Another step of the work was the development of a method for the determination of selenium, by using the short-lived radioisotope  $^{77m}\text{Se}$ . After the certification of the method it was applied to the analysis of hair, nails and a vitamin supplement. A comparison was made with the results obtained by using the long-lived radioisotope of selenium,  $^{75}\text{Se}$ . The results obtained for mercury in the hair samples of populations living in the State of Amapá have shown that the mercury concentrations in these populations are much higher than in the controls. As for the hair samples of children under treatment with mercury amalgam, no significant differences were found in the concentrations of mercury after the treatment. On the other hand, these data were important to obtain data for a control population of children. The results obtained by using the radioisotope  $^{77m}\text{Se}$  showed that the method developed was suitable for the analyzed matrixes and the results were similar to the ones obtained by employing the usual AANI method, with the radioisotope  $^{75}\text{Se}$ .

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Mercúrio</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Selênio</b>	<b>9</b>
<b>1.3. Regiões estudadas</b>	<b>19</b>
<b>1.4. Indicadores biológicos</b>	<b>20</b>
<b>1.4.1. Cabelos</b>	<b>20</b>
<b>1.4.2. Unhas</b>	<b>21</b>
<b>1.5. Objetivos do trabalho</b>	<b>22</b>
<b>2. ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS</b>	<b>23</b>
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>28</b>
<b>3.1. Mercúrio</b>	<b>28</b>
<b>3.1.1. Análise de mercúrio</b>	<b>28</b>
<b>3.1.2. Método de coleta das amostras de cabelos</b>	<b>29</b>
<b>3.1.3. Preparação das amostras de cabelos</b>	<b>30</b>
<b>3.1.4. Preparação do padrão</b>	<b>32</b>
<b>3.1.5. Materiais de referência</b>	<b>33</b>
<b>3.1.6. Irradiação</b>	<b>33</b>
<b>3.1.7. Decaimento</b>	<b>34</b>
<b>3.1.8. Medida das atividades</b>	<b>34</b>
<b>3.1.9. Resultados das análises</b>	<b>36</b>
<b>3.2. Selênio</b>	<b>37</b>
<b>3.2.1. Análise de selênio-radioisótopo de meia-vida curta (<math>^{77m}\text{Se}</math>)</b>	<b>37</b>
<b>3.2.1.1. Materiais de referência</b>	<b>38</b>
<b>3.2.1.2. Preparação do padrão</b>	<b>39</b>
<b>3.2.1.3. Irradiação</b>	<b>39</b>
<b>3.2.1.4. Medida das atividades</b>	<b>40</b>
<b>3.2.1.5. Resultados das análises</b>	<b>41</b>

3.2.1.6. <i>Análises das amostras</i>	41
3.2.1.7. <i>Método de coleta das amostras de unhas e suplemento vitamínico</i>	42
3.2.1.8. <i>Preparação das amostras de unhas e suplemento vitamínico</i>	43
3.2.1.9. <i>Preparação do padrão</i>	43
3.2.1.10. <i>Irradiação</i>	43
3.2.1.11. <i>Medida das atividades</i>	44
3.2.1.12. <i>Resultados das análises</i>	44
3.2.2. <i>Análise de selênio-radioisótopo de meia-vida longa (<sup>75</sup>Se)</i>	44
3.2.2.1. <i>Coleta e preparação das amostras de unhas e suplemento vitamínico</i>	45
3.2.2.2. <i>Preparação do padrão</i>	46
3.2.2.3. <i>Materiais de referência</i>	46
3.2.2.4. <i>Irradiação</i>	46
3.2.2.5. <i>Decaimento</i>	46
3.2.2.6. <i>Medida das atividades</i>	47
3.2.2.7. <i>Resultados das análises</i>	47
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>48</b>
4.1. <i>Limite de detecção</i>	48
4.2. <i>Cálculo do score z</i>	49
4.3. <i>Teste t de Student</i>	50
4.4. <i>Resultados</i>	51
4.4.1. <i>Resultados das determinações de mercúrio nos materiais de referência</i>	53
4.4.2. <i>Resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelo das populações residentes no Estado do Amapá</i>	56
4.4.3. <i>Resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelo das crianças em tratamento odontopediátrico</i>	64
4.4.4. <i>Resultados das determinações de selênio nos materiais de referência</i>	67
4.4.5. <i>Resultados das determinações de selênio nas amostras de unhas e suplemento vitamínico</i>	74



<b>5. CONCLUSÕES</b>	<b>78</b>
<b>APÊNDICES</b>	<b>79</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>82</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### *1.1. Mercúrio*

Durante séculos, o mercúrio foi um ingrediente importante de numerosos medicamentos, como: diuréticos, bactericidas, anti-sépticos e laxantes. Os sinais de intoxicação mercurial devido a essas drogas atualmente tornaram-se raridade, pois foram substituídos por métodos mais específicos e eficazes de tratamento. Por outro lado, atualmente os casos de intoxicação mercurial devidos à poluição ambiental têm trazido grandes preocupações. Esse mercúrio pode ser proveniente de:

**fontes naturais:** liberação de gás da crosta terrestre, erupções vulcânicas, evaporação dos oceanos, queima de combustível fóssil.

**fontes antropogênicas:** mineração (amalgamação do ouro), indústrias cerâmicas, farmacêuticas e de cosméticos, refinarias, amálgama dentário, instrumentos de medição e elétricos, baterias, manufatura de produtos têxteis, entre outros (LACERDA & MARINS, 1997).

No entanto, na maior parte do tempo em que esse metal tem sido utilizado, pouco tem sido a conscientização e os cuidados durante o seu manuseio, tanto do ponto de vista de proteção ocupacional dos trabalhadores quanto do público em geral e do meio ambiente.

A conscientização global sobre os perigos que a utilização desse elemento apresenta para os seres humanos iniciou-se em meados da década de 50, onde descargas de mercúrio foram lançadas por uma indústria de cloro-álcalis na Baía de Minamata no Japão, provocando grandes danos à saúde de pescadores residentes naquela região, assim como também em seus descendentes, devido a problemas genéticos ocorridos (TAKEUCHI & ETO, 1999).

Outra catástrofe ambiental ainda decorrente da utilização de mercúrio ocorreu no Iraque, na década de 70, quando, durante um período de escassez de alimentos foram

utilizados grãos previamente tratados com fungicidas mercuriais para a fabricação de pão. O consumo desse pão levou à morte de mais de quinhentas pessoas.

A partir de ocorrências como estas iniciou-se a conscientização sobre a necessidade de reduzir as quantidades de mercúrio lançadas no meio ambiente, principalmente por indústrias, assim como sobre a importância de proteger os trabalhadores e os indivíduos do público em geral quanto à exposição mercurial.

No Japão foi criado o Institute for Minamata Disease, que trata diversos aspectos da chamada “doença de Minamata” oriunda das descargas de mercúrio, e entre suas atividades inclui o desenvolvimento de técnicas analíticas para a determinação de mercúrio. Em diversos países tem sido também estudada a transferência de mercúrio para o organismo humano a partir dos amálgamas dentários (ZIFF, 1987).

No Brasil, do final dos anos 40 ao início dos anos 70 a indústria foi responsável por quase 100% das emissões de mercúrio para o meio ambiente, porém, atualmente houve uma drástica diminuição nos usos industriais do mercúrio e a proibição do uso de fungicidas a base de mercúrio (LACERDA, 1997).

Como consequência, as emissões para o meio ambiente de produtos industriais e agrícolas contendo mercúrio foram reduzidas, por outro lado o garimpo que foi quase insignificante como fonte de mercúrio até o final dos anos 70 atualmente é responsável por quase 70% das emissões totais.

LACERDA & MARINS, (1997) realizaram um estudo sobre emissões de mercúrio antropogênico para a atmosfera brasileira. Essas emissões foram estimadas usando consumo e parâmetros de produção para cada setor e operações tecnológicas no país. As emissões totais estimadas alcançaram aproximadamente 116 toneladas/ano, onde a produção de cloro - álcalis emite somente 12 toneladas/ano de Hg (10,1% do total), embora tenha sido a maior fonte de Hg no meio ambiente no Brasil até a década de 70. Indústrias de corantes, tintas, fabricação de eletroeletrônicos e produção de energia de combustíveis fósseis respondem por menos do que 0,5% do total introduzido. Pirometalúrgicas de Pb e principalmente Zn e Cd, correspondem a 3,9% do total com 4,6 toneladas/ano, enquanto

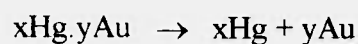
que a produção de aço e ferro pode emitir 12 toneladas/ano (10,4%). A queima da vegetação natural para produção de terreno ou pastos pode representar uma importante fonte disseminadora de Hg para a atmosfera no Brasil e pode alcançar 8,7 toneladas/ano (7,5%), mas o garimpo é a maior fonte de Hg para a atmosfera, segundo o estudo, apresentando uma média de 77,9 toneladas/ano (67,3%) (VEIGA, *et al.*, 1994).

É importante ressaltar o crescimento do uso de mercúrio nas regiões de garimpo, no Brasil, notadamente na região Amazônica, a partir da década de 80 o que resulta em emissões de Hg para a atmosfera muito altas por área, aproximadamente  $16 \text{ g Km}^{-2}$ . Essa contaminação mercurial ocorre devido ao processo de amalgamação do ouro, onde o ouro encontrado sob a forma de pó, exige o uso do mercúrio para formar um amálgama que facilita a sua separação.



Essa liga  $x\text{Hg} \cdot y\text{Au}$ , apresenta um teor de ouro variável, geralmente entre 30 a 50%.

Com a finalidade de separar o ouro do mercúrio, o amálgama de ouro é calcinado, com maçaricos alimentados a gás propano/butano com temperatura de aproximadamente  $400^\circ\text{C}$ .



Sabe-se também que cerca de 80% destas perdas de mercúrio, provenientes do garimpo de ouro, devem-se à queima do amálgama que é realizada em sistema aberto, sendo assim o mercúrio lançado ao ar, ou nos rios, afetando a qualidade das águas, causando sérios problemas de contaminação ambiental, além de causar sérios problemas à saúde dos garimpeiros e populações vizinhas (PFEIFFER, 1994).

Após essa primeira etapa de purificação do ouro, este é comercializado em lojas em centros urbanos, onde é novamente queimado para uma segunda etapa de purificação, pois o ouro obtido na primeira queima ainda contém aproximadamente de 3 a 5% de resíduo de mercúrio. Essa segunda queima é feita nessas lojas com a utilização de um maçarico com

chama de ar/acetileno a uma temperatura de 800 a 900°C, provocando assim mais liberação do mercúrio para a atmosfera.

Como forma de contribuir para a amenização da contaminação nestas áreas de garimpo, buscou-se desenvolver um equipamento que realizasse a etapa de queima do amálgama, a mais crítica do processo de extração do ouro, de forma segura e eficiente, recuperando todo o mercúrio empregado na amalgamação. Foi então desenvolvido um destilador de mercúrio, denominado Retorta Ouro Limpo. Os resultados obtidos de eficiência de recuperação de mercúrio de 98%, eficiência de retenção de mercúrio de 99,5%, para um tempo médio de operação de 13 minutos, aliados a outros fatores tais como, facilidade de manuseio e baixo custo, atestaram a aplicabilidade técnica adequada deste equipamento para uso nos garimpos. Esta nova tecnologia foi introduzida na área garimpeira de Monsenhor Horta, Mariana/MG juntamente com a realização de trabalhos de educação e conscientização ambiental e sanitária dos membros da comunidade. A implantação de retortas causou de imediato dois impactos positivos: redução na quantidade total de mercúrio empregada nos garimpos da região, devido à reutilização do mercúrio recuperado; e a conscientização da comunidade quanto aos riscos e malefícios devido ao uso do mercúrio (UNILIVRE, 1999).

Todavia, a maioria dos garimpeiros não costuma utilizar esse equipamento, porque o baixo preço do mercúrio no mercado desestimula o seu reaproveitamento, sendo essa uma dificuldade que pode ser enfrentada através de atividades educativas, que mostrem a importância do uso de equipamento para a saúde das pessoas.

Uma outra forma de diminuir ainda mais a liberação de mercúrio nessas regiões seria o controle da emissão nas lojas compradoras de ouro, pois essas lojas dispõem de exaustores que diminuem a exposição dos seus trabalhadores, mas que lançam o mercúrio diretamente no ambiente urbano. É necessária a implantação de sistemas de retenção e recuperação do mercúrio, como por exemplo, capelas com exaustão forçada e lavadores com exaustão de gases (CÂMARA *et al.*, 1998).

Problemas com as liberações de mercúrio em pequena escala, devido aos processos de mineração de ouro, não ocorrem somente nas vilas pantanosas brasileiras e na Bacia

Amazônica, mas são estendidas às margens do Pacífico, outros países da América Latina e África, os quais juntos são responsáveis pela produção de milhares de toneladas de ouro por ano (VILLAS BÔAS, 1997).

O mercúrio que aporta nos diferentes compartimentos ambientais pode apresentar-se como inorgânico: o Hg elementar ( $\text{Hg}^0$ ), o qual se encontra principalmente na forma de gás, o íon mercurioso ( $\text{Hg}_2^{2+}$ ) forma pouco estável em sistemas naturais, e o íon mercúrico ( $\text{Hg}^{2+}$ ); e como orgânico: o íon mercúrico apresenta-se ligado covalentemente a um radical orgânico, sendo o metilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) e o dimetilmercúrio ( $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ ) os mais comuns, ou ainda com ligantes orgânicos naturais.

Existe um ciclo biogeoquímico genérico no qual o metilmercúrio e os compostos de  $\text{Hg}^{2+}$ , dimetilmercúrio e  $\text{Hg}^0$  são interconvertidos nos sistemas atmosféricos, aquáticos e terrestres. Uma pequena porção do  $\text{Hg}^0$  que atinge a atmosfera é convertida em espécies solúveis em água (provavelmente  $\text{Hg}^{2+}$ ), podendo ser reemitidas para a atmosfera como  $\text{Hg}^0$ , através da deposição em solo ou troca na interface ar/água. O ciclo atmosférico envolve uma retenção do  $\text{Hg}^0$  na atmosfera por períodos longos, assim podendo ser este transportado ao longo de grandes distâncias. Nos sedimentos do fundo dos oceanos o mercúrio é depositado na forma insolúvel de HgS. Há um equilíbrio dinâmico entre as espécies químicas contendo mercúrio após a sua deposição como HgS e mesmo tendo um produto de solubilidade baixo, uma pequena porção de íons Hg proveniente do HgS pode sofrer uma complexação, tornando assim a concentração total de mercúrio no corpo de água superior ao valor basal antes da contaminação (MICARONI *et al.*, 2000).

A toxicidade do mercúrio varia nos seus diferentes compostos. A forma orgânica do mercúrio é extremamente tóxica, não apenas para o ser humano, mas também para toda a biota.

O mercúrio metálico penetra no corpo humano através da via respiratória e pode causar uma intoxicação aguda, em que predominam os efeitos pulmonares, e uma intoxicação crônica, afetando o sistema nervoso e rins (WHO, 1991). A absorção do mercúrio metálico no pulmão é maior do que 95% e na pele é de 15%. Na distribuição pelo organismo os rins acumulam elevados teores de mercúrio metálico.

A absorção do  $\text{Hg}^{2+}$  nos pulmões é 7-10% e na distribuição pelo organismo os rins também apresentarão altos teores de  $\text{Hg}^{2+}$ .

O mercúrio inorgânico, oriundo de atividades minerais ou industriais, pode ser metilado na natureza, formando assim o metilmercúrio. Essas trocas de espécies são o primeiro passo nos processos aquáticos de bioacumulação e considera-se que esse processo também ocorra nos sedimentos. O metilmercúrio formado é prontamente absorvido por alguns organismos, como peixes, mais rapidamente que o mercúrio inorgânico.

Organismos, como os dos peixes, têm alta capacidade de acumular o metilmercúrio sem que se observem alterações aparentes, o que torna o seu consumo altamente perigoso. Populações que consomem peixes com muita frequência, estarão em risco de intoxicação se as águas forem contaminadas por lançamentos de mercúrio. A absorção do metilmercúrio ocorre através da via digestiva e não apresenta o quadro agudo descrito na forma metálica, atingindo de forma insidiosa e crônica, principalmente o sistema nervoso e rins, podendo causar lesões teratogênicas (WHO, 1990).

CHAI *et al.*, (1994) determinaram o teor de mercúrio total e metilmercúrio em amostras de cabelos de 1179 pescadores, em uma típica região poluída por mercúrio, no nordeste da China, e 27 amostras de cabelos de mães e seus recém-nascidos, em Beijing, pelos métodos de análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI), cromatografia gasosa com captura de elétrons (GC(EC)) e outras técnicas. Somente 18 de todos os pescadores tinham teores de mercúrio acima de  $5 \mu\text{g g}^{-1}$ , o que indica que a poluição por mercúrio neste local ainda é presente, embora seja pequena em comparação com os anos 70. Já para as mães o teor de mercúrio encontrado no cabelo diminuiu com o aumento do tempo de gravidez. Além disso, o teor de mercúrio nos bebês recém-nascidos geralmente foi acima ou próximo a aqueles de suas mães, confirmando que o mercúrio é gradualmente transferido de mães para os seus fetos durante a gravidez. A forte transferência de mercúrio depende da sua forma química, o mercúrio inorgânico não ultrapassa a placenta, enquanto que o metilmercúrio sim, depositando-se assim no sistema nervoso central do feto podendo causar danos irreversíveis para o feto, podendo ocorrer má formação cefálica.

De acordo com OLIVERO *et al.*, (1995) que realizaram um estudo sobre determinação de concentrações de mercúrio em cabelos de habitantes da principal zona de mineração de ouro da Colômbia, por absorção atômica com geração de vapor frio (CVAAS), o mercúrio estava presente em todas as amostras analisadas, em concentrações entre 0,11 e 29,2  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Não foi encontrada relação significativa entre a concentração de mercúrio nos cabelos com a idade ou sexo, mas uma relação positiva foi encontrada para o consumo frequente de peixe. O principal sintoma encontrado foi uma diminuição na capacidade de memória, náuseas, irritações e dores de cabeça.

Esse quadro altamente preocupante tem resultado na realização de um grande número de trabalhos científicos sobre a presença de mercúrio nos diversos compartimentos ambientais da Amazônia entre outras regiões brasileiras.

Um levantamento descritivo de exposição ambiental foi feito no Canal de Santa Cruz, Pernambuco, SANT'ANNA *et al.*, (2000), para avaliar o possível risco de contaminação por mercúrio, onde uma população costeira poderia estar exposta através do consumo de peixe. A área era conhecidamente contaminada por mercúrio como consequência da presença de uma fábrica de cloro e soda instalada a montante de um dos tributários do canal. O mercúrio total e o metilmercúrio foram analisados no National Institute for Minamata Disease (NIMD), em Minamata, Japão, seguindo os procedimentos desenvolvidos nesse instituto por AKAGI, (1987). Os valores para mercúrio total e metilmercúrio foram medidos no cabelo de habitantes de Itapissuma, uma comunidade pesqueira, e em amostras de peixes coletados na própria região. Os níveis de mercúrio total e metilmercúrio determinados nas amostras de cabelos foram considerados normais. O conteúdo de mercúrio nas amostras de peixes analisadas foi também considerado dentro dos limites normais e seguros para o consumo humano no que diz respeito a suas concentrações de mercúrio.

VASCONCELLOS *et al.*, (1997), (1994) realizaram um trabalho onde foi determinada a concentração de mercúrio em amostras de cabelos de três grupos distintos: uma população controle, constituída de indivíduos não suspeitos de intoxicação por Hg; residentes próximos à Represa Billings, que consomem peixes que podem estar contaminados por resíduos industriais; populações indígenas do Parque Indígena do



Xingu, uma reserva indígena localizada no Mato Grosso, na Região Amazônica. O método utilizado para essas determinações foi análise por ativação neutrônica. Os valores médios encontrados para a população controle e residentes próximos à Represa Billings estiveram em torno de  $1\mu\text{g g}^{-1}$  de Hg, enquanto que para as tribos indígenas estudadas foram encontrados valores médios e medianas de até cerca de  $20\mu\text{g g}^{-1}$  de Hg, o que indica uma contaminação por Hg no Parque.

Cerca de 50% das amostras de cabelo, das tribos do Parque Indígena do Xingu, foram analisadas quanto ao teor de metilmercúrio no Jozef Stefan Institute, em Ljubljana, Eslovênia, que foi considerado como o laboratório padrão para as análises de mercúrio. Os resultados obtidos mostraram que quase a totalidade do mercúrio no cabelo dos índios encontra-se na forma de metilmercúrio (VASCONCELLOS *et al.*, 1998).

MALM *et al.*, (1995) analisaram os teores de mercúrio e metilmercúrio em amostras de peixes e cabelos em um estudo realizado nas principais cidades e vilas ao longo da bacia do Tapajós. Os métodos utilizados para as análises foram a absorção atômica com geração de vapor frio (CVAAS) e cromatografia gasosa. Os valores obtidos para mercúrio mostraram que os peixes das áreas consideradas não poluídas (efeito direto da contaminação por mercúrio) frequentemente têm níveis mais baixos do que as áreas contaminadas e os peixes carnívoros podem alcançar uma concentração de mercúrio de até 10 ou  $20\mu\text{g g}^{-1}$ , os valores para metilmercúrio observados nos peixes mostraram uma média de cerca de 90% do mercúrio total contido. As amostras de cabelos mostraram altos níveis de mercúrio, nas mesmas áreas onde foram encontrados altos teores de mercúrio nos peixes, indicando assim uma contaminação por mercúrio proveniente dos peixes que são consumidos por essas populações.

A contaminação por mercúrio no meio ambiente no reservatório de água do Tucuruí, no nordeste de Serra Pelada, foi estudada por LEINO & LODENIUS, (1995) onde determinaram a quantidade de mercúrio em amostras de cabelos de pescadores e suas famílias em uma reserva indígena vizinha, Parakanã e em empregados da companhia de energia. O método utilizado para as análises foi a absorção atômica com geração de vapor frio (CVAAS). A concentração de mercúrio no cabelo das pessoas que pescam no reservatório foi claramente mais alta do que a concentração obtida nos cabelos dos

índios e empregados da companhia de energia. Esses pescadores consomem peixes mais frequentemente do que os índios e empregados, sendo assim explicada a alta concentração de mercúrio obtida no cabelo dessa população.

LEBEL *et al.*, (1998) realizaram estudo com habitantes de uma vila de pescadores (Brasília Legal), no Rio Tapajós e verificaram que, embora os teores de mercúrio desses indivíduos, fossem inferiores a  $50\mu\text{g g}^{-1}$ , havia um decréscimo significativo em certos aspectos da acuidade visual, destreza manual e força muscular, relacionados com a maior concentração no cabelo.

Fazendo uma avaliação geral dos resultados desses estudos pode-se concluir que, em vez de surgirem sinais agudos de contaminação, o resultado principal da mineração de ouro na Amazônia será o de aumentar o nível geral de concentração de mercúrio nos solos, sedimentos, água e biota da região. A questão importante será então a de avaliar até que ponto esse novo nível aumentará, e se existirá uma concentração de limiar que, se excedida, resultará em problemas ambientais como nos casos da Baía de Minamata, no Japão, e dos grãos contaminados, no Iraque (PFFEIFER, 1994).

## **1.2. Selênio**

O interesse no selênio concentrou-se inicialmente na sua toxicidade, pois o envenenamento por selênio foi identificado em animais que pastavam em terras com altos níveis deste elemento. Mas foi em 1957 que um papel positivo foi identificado quando o selênio foi mostrado como protetor de danos provocados aos ratos deficientes de vitamina E contra necrose do fígado e perda capilar (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1998; OKIGAMI, 2000).

Alguns anos mais tarde, em 1973 o papel bioquímico do selênio foi parcialmente esclarecido, quando descobriu-se que a *glutathione peroxidase* (GSH-Px) era uma selenoenzima e era considerada a principal forma ativa do selênio nos tecidos.

Mais recentemente, os papéis bioquímicos e fisiológicos para o selênio não associados com esta enzima foram identificados. O selênio está presente no organismo como selenometionina ou selenocisteína nas proteínas. A *glutathione peroxidase celular* (*cGSH-Px*) é encontrada em quase todas as células. É na realidade uma família de proteínas e mais provavelmente representa uma reserva de selênio. A *glutathione peroxidase extracelular* (*eGSH-Px*) está presente no leite e no plasma. A *glutathione peroxidase hidropéroxido fosfolipídeo* (*phGSH-Px*) tem uma distribuição diferente da (*cGSH-Px*), age na regulação do ácido araquidônico e peroxidação dos lipídeos (MAHAN & SCOTT-STUMP, 1998).

Nos últimos 15 anos, o reconhecimento da importância do selênio no metabolismo cresceu quando foi provado que uma cardiomiopatia fatal, proveniente de deficiências de selênio na dieta, que afetava crianças e mulheres jovens na China, a chamada doença de Keshan, poderia ser prevenida com a suplementação de selênio (ZHANG & CHATT, 1997).

Atualmente, considera-se que o selênio é um elemento traço essencial na dieta humana. O papel bioquímico mais estudado do selênio é a sua participação na formação da enzima *glutathione peroxidase* (TADJIKI *et al.*, 1995). Esta enzima, presente no citosol e na matriz das mitocôndrias, é formada por quatro subunidades idênticas, cada uma contendo um átomo de selênio na forma de selenocisteína. As funções metabólicas da selenoenzima são vitais para a célula, como parte do mecanismo responsável pela detoxificação do oxigênio no organismo. Em outras palavras essa enzima age como antioxidante para os radicais livres formados (OKIGAMI, 2000).

Um importante sistema de defesa enzimático contra o aumento de radicais livres, envolve a enzima *glutathione peroxidase* entre outras. A deficiência de selênio no organismo provoca uma diminuição na atividade dessa enzima, mas com o suplemento de selênio essa atividade pode ser normalizada.

Define-se como radical livre toda espécie que possui um ou mais elétrons desemparelhados. O elétron livre, que caracteriza o radical livre, pode estar centrado em um átomo de hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, carbono, enxofre ou átomos de metais de

transição. Duas importantes substâncias podem gerar radicais livres, o oxigênio, no estado fundamental ( $O_2$ ), e o óxido nítrico (NO), que é sintetizado em diversas células.

A molécula de oxigênio é um bi-radical, reagindo preferencialmente com moléculas de configuração eletrônica semelhante. Como a maioria das biomoléculas não são bi-radicais, o oxigênio fica impedido de reagir com as mesmas, evitando assim que alvos celulares importantes sejam lesados. No entanto, o oxigênio pode dar origem a diversas espécies reativas, seja por absorção de energia ou transferência de elétrons. Uma outra via de formação de espécies reativas de oxigênio (oxidantes de maior importância biológica) consiste na redução unieletrônica do oxigênio à água, na qual a entrada de 4 elétrons na molécula de oxigênio promove o aparecimento do radical superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e do radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ), intermediários parcialmente reduzidos do oxigênio molecular (ROVER Jr *et al.*, 2001).

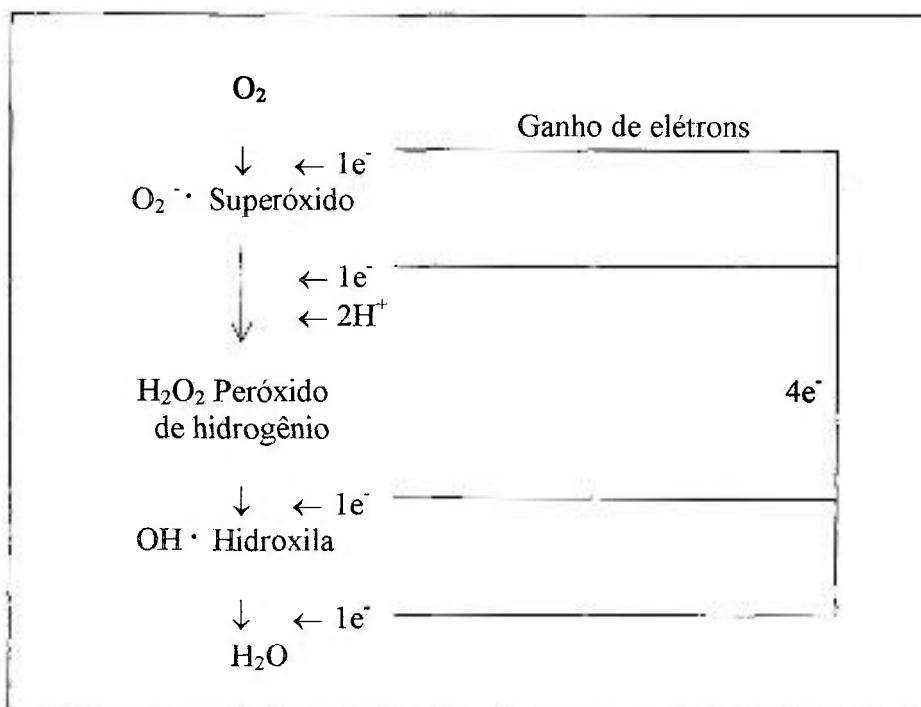


Figura 1 - Formação de radicais livres através da ativação do oxigênio.

O  $O_2^{\cdot -}$  é o produto da redução monovalente do oxigênio molecular. Através da aquisição de um elétron e mediante um aporte de energia, a molécula de oxigênio  $O_2$  se transforma em ânion superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ). O  $H_2O_2$  pode ser formado secundariamente, em presença de íons  $H^+$ , pela dismutação de  $O_2^{\cdot -}$  (processo de oxido-redução entre moléculas de mesma natureza) ou produzido pela redução bivalente de oxigênio: a adição de um segundo elétron conduz à formação de  $H_2O_2$ . O principal problema é que o  $H_2O_2$  atravessa facilmente as membranas celulares e ao receber mais um elétron, normalmente proveniente de íon ferroso ( $Fe^{2+}$ ), ele se decompõe em um simples  $OH^-$  e um radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ). A reatividade dos radicais ( $OH^{\cdot}$ ) é muito grande nos meios biológicos, e sua reação com moléculas vizinhas, produz radicais secundários por subtração de um átomo de hidrogênio ou por transferência do elétron não acoplado (ROVER Jr *et al.*, 2001).

A presença de um elétron não acoplado é um fator de instabilidade, que determina as propriedades dos radicais livres. Quando o radical livre reage com uma molécula vizinha, ele transforma esta última em radical livre, ao ir em busca de um elétron “estabilizador”. Dessa forma, começa a “reação progressiva dos radicais”.

O organismo dispõe de sistemas de defesas enzimáticas específicos contra o aumento de radicais livres. Estas enzimas, presentes no local de produção dos radicais livres, mantêm esses radicais em concentrações baixas. A enzima *glutathiona peroxidase* é um dos sistemas de defesa do organismo, agindo como um antioxidante contra esses radicais formados, e degradando a maior parte do peróxido de hidrogênio formado. Outro sistema de defesa que atua sobre o peróxido de hidrogênio é a *catalase*. Já no caso de superóxidos, a enzima superóxido *dismutase (SOD)*, que depende do  $Cu^{2+}$  e  $Zn^{2+}$  como cofatores, atua como agente de defesa, onde ocorre a dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio, portanto esses radicais livres formados tendem a ser eliminados por esses conjuntos de enzimas.

O intervalo ótimo de ingestão de selênio é restrito e assim, se na concentração ideal é essencial à saúde, em quantidades mais elevadas pode ser bastante tóxico e dar origem a diversas disfunções metabólicas como danos aos rins, fígado, cérebro e ao sistema nervoso central (KATZ & CHATT, 1988). A baixa ingestão de selênio causa perturbações bioquímicas, como a incapacidade da célula em metabolizar o peróxido de hidrogênio,

macrocitose, hemólise e alterações na atividade de enzimas que refletem as funções hepática e muscular. Clinicamente os sintomas são: distrofia do músculo esquelético, pigmentação anormal de unhas, pele e cabelos (despigmentação) e cardiomiopatia, na maioria das vezes fatal. Todas as alterações, com exceção da cardiomiopatia podem ser revertidas com a administração de selênio em várias formas na dose de 100 a 500 $\mu$ g/dia (OKIGAMI, 2000).

Os valores de referência que podem ser usados para planejar e avaliar dietas para populações saudáveis são denominados DRI's (Dietary reference intake) (NAS, 2001). As DRI's compreendem:

**EAR (Estimated average requirement):** é o valor de ingestão do nutriente que é estimado para encontrar a necessidade definida por um indicador específico de adequação em 50% dos indivíduos em determinado estágio da vida e sexo. A EAR é usada como um fator para avaliar a adequação de ingestão de grupos.

**RDA (Recommended dietary allowance):** é o nível de ingestão dietético diário médio, que é suficiente para encontrar as necessidades do nutriente de aproximadamente todos (97 a 98%) os indivíduos de um determinado grupo de sexo e idade. A RDA se aplica a indivíduos, e não a grupos.

**AI (Adequate intake):** a AI é estabelecida no lugar da RDA se evidências científicas não são disponíveis para calcular a EAR.

Os valores para EAR, RDA e AI de acordo com a idade e gênero estão apresentados nas tabelas abaixo.

Tabela 1 - Valores para AI de selênio em  $\mu$ g/dia para crianças de 0 a 1 ano de idade.

Idade (anos)	Gênero	$\mu$ gSe/dia	$\mu$ gSe/kg de peso corporal
0-0,6	M&F	15	2,1
0,7-1,0	M&F	20	2,2

Tabela 2 - Valores para “EAR” e “RDA” de selênio em  $\mu\text{g}/\text{dia}$  para crianças e adolescente de 1 a 18 anos de idade, de acordo com o gênero.

<b>Idade (anos)</b>	<b>Gênero</b>	<b>EAR <math>\mu\text{gSe}/\text{dia}</math></b>	<b>RDA <math>\mu\text{gSe}/\text{dia}</math></b>
1-3	M&F	17	20
4-8	M&F	23	30
9-13	M&F	35	40
14-18	M&F	45	55

Tabela 3 - Valores para “EAR” e “RDA” de selênio em  $\mu\text{g}/\text{dia}$  para adultos a partir dos 19 anos de idade, de acordo com o gênero.

<b>Idade (anos)</b>	<b>Gênero</b>	<b>EAR <math>\mu\text{gSe}/\text{dia}</math></b>	<b>RDA <math>\mu\text{gSe}/\text{dia}</math></b>
A partir de 19	M&F	45	55

Tabela 4 - Valores para “EAR” e “RDA” de selênio em  $\mu\text{g}/\text{dia}$  para gestantes a partir dos 14 anos de idade.

<b>Idade (anos)</b>	<b>EAR <math>\mu\text{gSe}/\text{dia}</math></b>	<b>RDA <math>\mu\text{gSe}/\text{dia}</math></b>
14-18	49	60
19-30	49	60
31-50	49	60

Tabela 5 - Valores para “EAR” e “RDA” de selênio em  $\mu\text{g}/\text{dia}$  para lactantes adultas a partir dos 14 anos de idade.

<b>Idade (anos)</b>	<b>EAR <math>\mu\text{gSe}/\text{dia}</math></b>	<b>RDA <math>\mu\text{gSe}/\text{dia}</math></b>
14-18	59	70
19-30	59	70
31-50	59	70

Diversos tipos de alimentos são reconhecidos como as principais fontes de selênio: frutos do mar, rim, fígado, carne bovina e aves, enquanto que as frutas e vegetais são pobres em selênio. Os grãos variam dependendo do solo em que cresceram.

MAHAN & SCOTT-STUMP, (1998) apresentam uma tabela onde está relacionada a concentração de selênio nos alimentos. É observado nessa tabela que o alimento de maior concentração de selênio é a castanha-do-pará, pois em 100g de porção comestível temos uma média de 2.960,0 µg de selênio.

Os autores também mostram uma segunda tabela onde estão apresentados somente alguns desses alimentos citados como fontes de selênio e suas respectivas concentrações.

Tabela 6- Conteúdo de selênio em alimentos selecionados.

<b>Alimentos</b>	<b>µg</b>
Lúcio cozido (peixe elasmobrânquio), 3oz	148
Linguado gigante cozido, 3oz	113
Salmão cozido, 3oz	70
Vieiras cozidas no vapor, 3oz	70
Marisco cozido no vapor, 20	52
Ostras cruas, ¼ xícara	35
Lasanha com carne, 1 pedaço	34
Germe de trigo tostado, ¼ xícara	28
Melaço escuro, 2 colheres de sopa	25
Sementes de girassol, ¼ xícara	25
Granola, 1 xícara	23
Bife tipo hambúrguer, 3oz	22
Peito de galinha assado, 3oz	17
Pão de trigo integral, 1 fatia	16
Ovo, 1	12
Leite, 2% de gordura, 1 xícara	6
Queijo cheddar, 1oz	4

1oz = 28,3g

É bom lembrar que os níveis teciduais de selênio são influenciados pela ingestão dietética e refletem o ambiente geoquímico. As regiões da América do Norte deficientes



em selênio são: Nordeste, Pacífico, Sudoeste e extremo Sudeste dos EUA e central norte do Canadá. Outras áreas mundiais com deficiência de selênio incluem partes da China, Finlândia e Nova Zelândia.

OHTA *et al.*, (1987), realizaram um trabalho onde foram analisadas amostras de cabelo de 370 indivíduos, sendo o método utilizado a ativação com nêutrons. As amostras foram coletadas de residentes de 9 países diferentes: Japão, França, Brasil, Paraguai, Papua Nova Guiné, Itália, Nova Zelândia, Costa do Marfim e Ilhas Canárias. Para os japoneses foram determinadas as concentrações médias de selênio nos indivíduos que moravam no próprio país e naqueles que moravam fora do país. O valor total médio para os japoneses foi maior do que o valor para os indivíduos de outros países, apesar da concentração de selênio encontrada ter sido pequena, mas esses resultados mostraram diferenças significativas entre diferentes países. Provavelmente esta diferença está relacionada à diferentes dietas.

MAIHARA, (1996) determinou o teor de selênio e outros elementos essenciais em dietas de 19 crianças de idade pré-escolar da creche central da Universidade de São Paulo (USP) e em dietas de 23 idosos de três instituições particulares de São Paulo. Verificou-se nesse estudo que somente as dietas das crianças atingiram o nível de adequação preconizado pela RDA, quanto ao teor de selênio.

A ingestão de selênio pode ser relacionada à mortalidade por câncer. Estudos mostram evidências de que a suplementação oral com selênio pode reduzir a incidência total de câncer, assim como as taxas de mortalidade para diversos tipos de câncer, em populações residentes em algumas províncias canadenses (MORRIS *et al.*, 2001).

De acordo com COMBS & GRAY, (1998) o selênio têm duas funções fundamentais na prevenção do câncer: como componente essencial de enzimas antioxidantes e como metabólito anticarcinogênico. Estudos epidemiológicos têm mostrado associações inversas entre o teor de selênio nutricional e risco de câncer, sugerindo que um teor de selênio relativamente baixo pode estar entre os determinantes do risco de câncer. Experimentos com animais têm mostrado que níveis supranutricionais de selênio podem reduzir tumorigenese.

Por outro lado, estudos recentes demonstram que o selênio é capaz de reduzir os efeitos tóxicos do mercúrio, e de outros elementos também considerados tóxicos, devido à capacidade do selênio em combinar-se com os referidos elementos. Têm sido propostos mecanismos para essa interação e detoxificação, que incluem a formação do complexo entre Hg e Se e uma proteína do plasma na corrente sanguínea, resultando na alteração da disponibilidade desses dois elementos e na sua distribuição nos órgãos preferenciais, e especialmente a distribuição reduzida nos rins.

Esses dois elementos interagem dentro do organismo quando são co-administrados experimentalmente, e essa co-administração reduz a toxicidade de cada elemento, o que significa que o selênio pode ser considerado como um mecanismo de defesa do organismo contra metais pesados, como o mercúrio.

SUZUKI *et al.*, (1998) realizaram um estudo, *in vitro*, onde foi constatado que o Se administrado na forma de selenito é absorvido pelas células vermelhas do sangue e metabolizado a uma forma reduzida nessas células, e então, o Se reduzido é exportado para o plasma na forma de selenato. O selenato e Hg permanecem no plasma e supõe-se que ocorra uma forma equimolar do complexo (Hg-Se), e esse complexo liga-se a uma proteína específica do plasma para formar um complexo (Hg-Se)-proteína plasma. Essa proteína foi identificada como selenoproteína P (Se P), indicando que um complexo é formado na corrente sanguínea entre Hg, Se e Se P quando íons de mercúrio e selenito são administrados simultaneamente. Esse complexo foi apresentado como  $\{(Hg-Se)_n\}_m$ -Se P, onde  $n$  é o número dos dois elementos na unidade complexa  $(Hg-Se)_n$  e  $m$  é o número de sítios de ligações na Se P para o complexo  $(Hg-Se)_n$ .

Um outro estudo sobre coacumulação de Hg e Se em seres humanos foi realizado por FALNOGA *et al.*, (2001), onde foi investigada a acumulação e/ou a retenção de várias formas de mercúrio (Hg total, metilmercúrio) juntamente com o selênio, analisando autópsias de trabalhadores e residentes da mina de mercúrio de Idrija e um grupo não exposto ao mercúrio. As mais altas concentrações de mercúrio foram encontradas no grupo de trabalhadores da mina de mercúrio, e a forte retenção encontrada para o mercúrio foi nas glândulas pituitárias e tireóide. Para o metilmercúrio os teores encontrados, independentemente do grupo ou tecido analisado, foram próximos entre si, com uma

diferença abaixo de 10% nos valores das concentrações. A coacumulação de Hg/Se foi evidente particularmente em amostras com teores de mercúrio maiores do que  $2\mu\text{g g}^{-1}$  onde a razão molar Hg/Se foi de 1:1.

VASCONCELLOS *et al.*, (2000), determinaram os teores de mercúrio e selênio em amostras de cabelos de tribos indígenas do Parque do Xingu, população controle e população residente próximo a represa Billings, pelo método de análise por ativação com nêutrons. A partir desses resultados foi possível calcular as razões molares Hg/Se para essas populações. Observou-se que as razões molares Hg/Se estavam muito próximas de 1 para as populações controle e da represa Billings, onde as concentrações de mercúrio são baixas, em torno de  $1\mu\text{g g}^{-1}$ . Este estudo das relações Hg e Se assemelha-se a estudos realizados por outros autores.

DRASCH *et al.*, (1996), determinou concentrações de mercúrio e selênio em amostras de rins de 195 autópsias. O autor aponta que, desde que *in vitro* o mercúrio e o selênio formam um composto estável esses resultados sugerem a formação de um composto Hg-Se 1:1 podendo explicar a detoxificação do Hg pelo Se.

BJORKMAN *et al.*, (1995) realizaram um estudo onde um grupo de macacos foi exposto ao metilmercúrio por um período de 18 meses, as concentrações de mercúrio e selênio foram determinadas no cérebro desses macacos. Os resultados obtidos indicaram uma associação entre concentrações de mercúrio e selênio nesses animais exposto ao metilmercúrio, o que pode indicar uma importante função do selênio na retenção do mercúrio no cérebro.

Todos os fatos mencionados demonstram a importância crescente que vem alcançando a determinação de selênio em diversos compartimentos do meio ambiente, como em solos, sedimentos, águas, assim como nos alimentos e dietas e também em monitores biológicos, como sangue, urina, cabelos e unhas.

### ***1.3. Regiões estudadas***

No Estado do Amapá, como em outras regiões da Amazônia, novos campos de garimpos estão sendo abertos e os garimpos mais velhos ainda estão operando. Toda a extração do ouro feita nessa região é manual, ou seja, o processo utilizado é o de amalgamação do mercúrio para concentrar o ouro, liberando assim mercúrio para a atmosfera e contaminando outros compartimentos do meio ambiente, em toda a área circundante, ao longo de alguns quilômetros de distância (FOSTIER *et al.*, 2000).

As áreas estudadas no presente trabalho localizam-se em três diferentes regiões do Estado do Amapá:

- *Serra do Navio*, não impactada por atividades de garimpo, zona natural
- *Tartarugalzinho e Vale do rio Vila Nova*, fortemente afetada por atividades de mineração de ouro com utilização de mercúrio.

A figura 2 apresenta a localização das regiões de estudo.

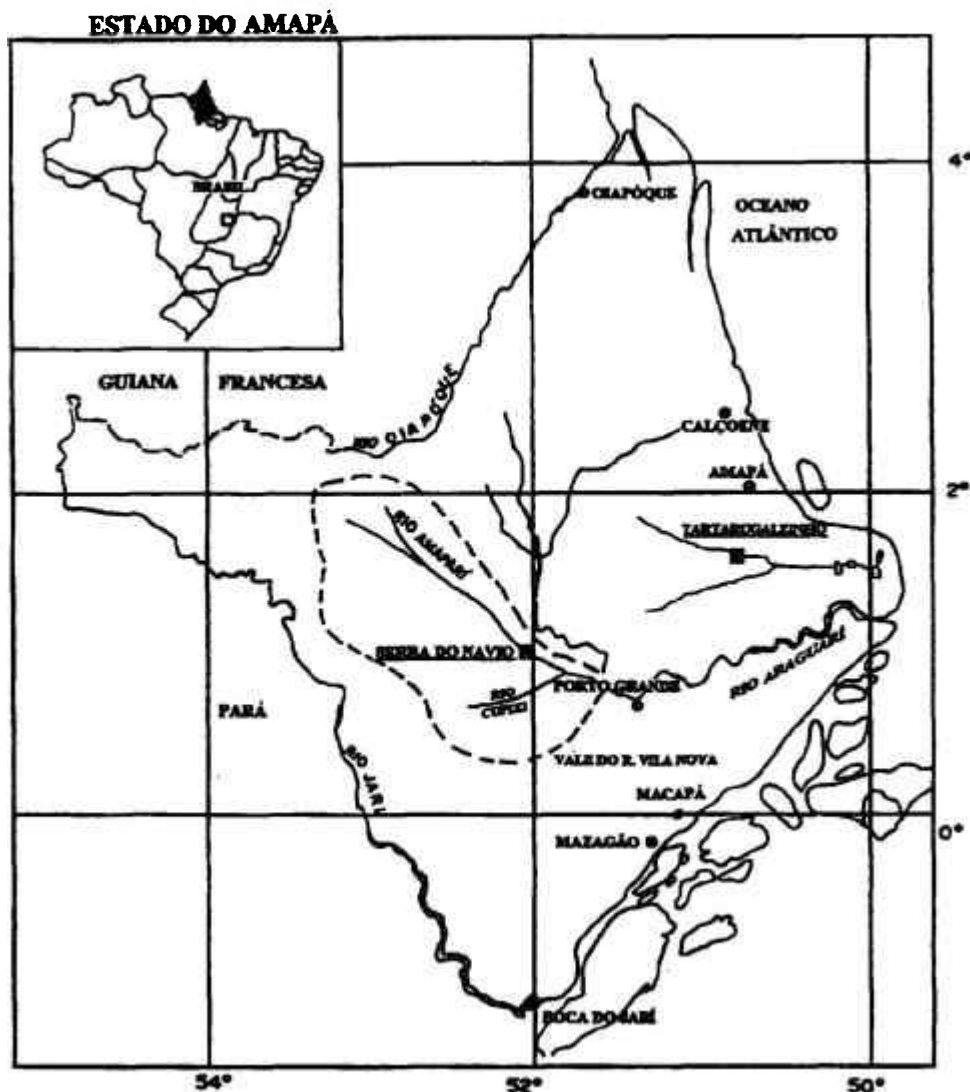


Figura 2 - Mapa do Estado do Amapá indicando as áreas de estudo

#### **1.4. Indicadores biológicos**

##### **1.4.1. Cabelos**

Como biomonitor para a avaliação de exposição a mercúrio, escolheu-se o cabelo, que apresenta uma série de vantagens em relação a outros monitores biológicos, como o sangue e a urina. O cabelo é uma amostra de fácil coleta, não causando dor ou trauma ao indivíduo quando é retirado, é muito estável à temperatura ambiente, o que facilita muito a sua estocagem e transporte, principalmente a partir de áreas remotas. Além disso, o cabelo, ao contrário do sangue e da urina, que refletem concentrações transitórias de diversos elementos, permite obter um histórico da contaminação ao longo do tempo.

O cabelo, ao longo de seu crescimento, fixa os sais minerais e as substâncias ativas presentes no organismo. Essas substâncias não solúveis chegam ao bulbo capilar através de vasos sanguíneos que o irrigam, e são incorporadas às células de queratina que formam a estrutura do cabelo.

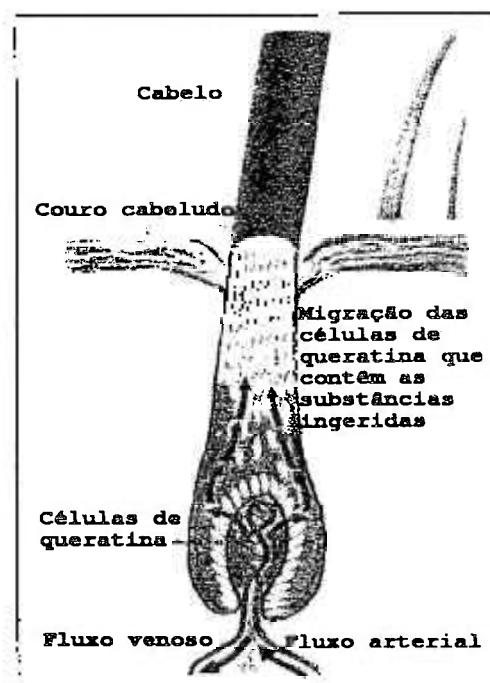


Figura 3 - Estrutura do fio de cabelo

A análise de cabelo permite também a avaliação de envenenamento por outros metais pesados e também pode ser usada como auxiliar na elaboração de programas nutricionais, e pode ser relacionada à saúde humana ou doenças.

#### 1.4.2. Unhas

As análises de elementos traço em unhas vêm sendo objeto de inúmeras pesquisas para o estudo da relação entre as concentrações de elementos nelas presente com os diferentes fatores, tais como o estado de saúde e nutricional de indivíduos, as doenças ocupacionais e a contaminação ambiental.

O uso de unhas como monitor biológico apresenta inúmeras vantagens em comparação com a análise de outros monitores, como sangue, urina entre outros. As amostras de unhas são de fácil coleta, armazenamento e transporte, além de serem fáceis para manipular e servirem como indicadores de elementos traço no organismo que se acumularam ao longo de um período. Uma outra vantagem está relacionada a sua alta composição de queratina, podendo assim acumular um grande número de elementos traço em concentração relativamente alta, o que permite a realização de análises de vários elementos com uma boa precisão (BANK *et al.*, 1981; BASKETT *et al.*, 1995).

O crescimento das unhas das mãos, em geral é por volta de 3 mm em um mês, já para os dedos dos pés é em torno de 0,8 mm em um mês (PARKER, 1994). Devido a baixa taxa de crescimento das unhas, a sua composição não é afetada pelos fatores transientes que alteram os níveis de minerais no soro sanguíneo e, portanto, a unha pode ser um indicador confiável do metabolismo global de certos minerais.

### **1.5. Objetivos do trabalho**

1. Determinação de mercúrio em amostras de cabelos de populações residentes nas regiões da Serra do Navio, Tartarugalzinho e Vila Nova, no Estado do Amapá, onde há possibilidades de contaminação por mercúrio devido a atividades garimpeiras, e estudo da relação entre os teores encontrados para o mercúrio e o consumo de peixes.

2. Um outro interesse quanto a análise de mercúrio é a determinação deste em amostras de cabelos de crianças de 4 a 8 anos em tratamento odontopediátrico pelo uso de amálgama dental, afim de se verificar a transferência do mercúrio do amálgama dentário e também para a obtenção de dados para uma população controle de crianças.

3. Outro objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento do método de AANI para a determinação de selênio, por meio do radioisótopo de meia-vida curta, 17,45 segundos,  $^{77m}\text{Se}$ . Após a certificação do método este foi aplicado para a análise das matrizes de unhas e suplemento vitamínico contendo selênio.

## 2. ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

A análise por ativação com nêutrons instrumental foi introduzida por G. Hevesy e H. Levy em 1936 quando conseguiram distinguir vários lantanídeos usando nêutrons de uma fonte composta por rádio-berílio, tornando-se uma ferramenta analítica versátil e sensível em muitos campos da ciência e da tecnologia. É o método radioquímico mais importante de análise e baseia-se no fato de que a atividade de um radionuclídeo, produzida através de uma reação nuclear, é uma medida da quantidade de um elemento existente na amostra.

O método tem capacidade de determinar muitos elementos com alta sensibilidade sendo possível a sua determinação em níveis de ppb e ppm quando se dispõe de altos fluxos de nêutrons ( $10^{12}$  a  $10^{15}$  n cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). A técnica permite também uma análise multielementar, além de se tratar de uma técnica não-destrutiva e relativamente livre do problema de interferências ocasionadas pelos efeitos da matriz ou da contaminação laboratorial. Por outro lado, não permite conhecer a forma química do elemento.

Uma reação nuclear do tipo (n,γ), que é a reação que produz o radionuclídeo de interesse para a realização de uma análise, por meio do método de ativação com nêutrons, ocorre quando um feixe de partículas ativadoras (nêutrons) interage com o núcleo alvo, por meio de colisão inelástica, originando um núcleo composto de alta energia de excitação. Rapidamente este núcleo instável passa para uma configuração mais estável, emitindo raios gama “prontos” e transformando-se em um núcleo radioativo. Esse núcleo radioativo emitirá raios gama e partículas beta, com uma meia-vida característica, formando por fim um núcleo estável.

Por meio da energia da radiação gama de decaimento e da meia-vida, o radioisótopo formado na reação nuclear pode ser identificado, permitindo assim realizar análises qualitativas e quantitativas do elemento contido na amostra.



A figura 4, abaixo, ilustra mais claramente a sequência de eventos do mecanismo da reação nuclear do tipo  $(n, \gamma)$ .

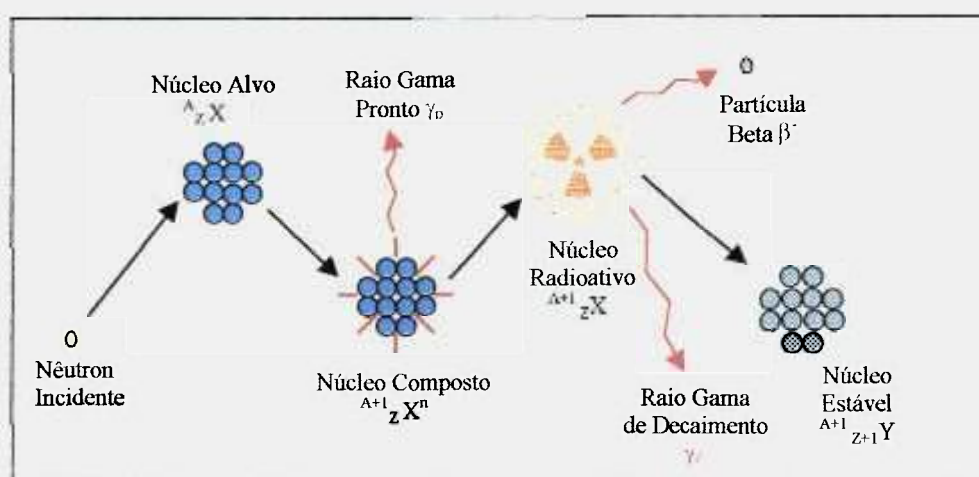


Figura 4 - Sequência de eventos do mecanismo da reação nuclear do tipo  $(n, \gamma)$  (IAEA, 1990).

De acordo com DE SOETE *et al.*, (1972) a atividade induzida em um elemento após um tempo de irradiação, que pode ser medida experimentalmente por meio de um detector adequado, é dada pela seguinte equação:

$$A = \frac{z \cdot \phi \cdot \sigma \cdot N \cdot m \cdot f \cdot [1 - e^{-0,693 \cdot t_i / t_{1/2}}]}{M} \quad (1)$$

onde:

$A$  = atividade em taxa de contagens

$z$  = eficiência do detector

$\phi$  = fluxo de nêutrons, em  $n. cm^{-2} . s^{-1}$

$\sigma$  = secção de choque, em  $cm^2$

$N$  = número de Avogadro

$m$  = massa do elemento

$f$  = abundância isotópica do nuclídeo alvo

$M$  = massa atômica do elemento

$t_i$  = tempo de irradiação

$t_{1/2}$  = meia-vida do radionuclídeo formado

O método de análise por ativação com nêutrons absoluto baseia-se na expressão (1). Porém para que esse método possa ser utilizado é necessário conhecer todos os parâmetros da expressão com exatidão, o que torna o método bastante limitado.

As maiores dificuldades para a utilização da análise por ativação com nêutrons absoluta são devidas aos seguintes fatores:

- Os  $\sigma_s$  da maioria dos nuclídeos não são conhecidos com suficiente exatidão (erros de 5 a 30%)
- O  $\phi$  varia durante a irradiação, ou ocorrem gradientes de fluxo na amostra, ou não se conhece com exatidão o fluxo (erros de  $\pm 5\%$ )
- Para  $t_i$  curto e  $t_{1/2}$  curta existem erros nas medidas dos tempos (erros de 2 a 3%).

Dessa forma, torna-se muito difícil obter uma exatidão melhor do que 20%, sem cuidados extremos nas determinações. Devido a essas dificuldades é mais frequente a utilização da análise por ativação com nêutrons comparativa.

No método comparativo de análise por ativação com nêutrons, amostras e padrões são irradiados simultaneamente, nas mesmas condições, de modo que a concentração de um dado elemento será obtida através da comparação das taxas de contagens das amostras e padrões, eliminando assim a necessidade do conhecimento dos valores dos parâmetros

nucleares e simplificando o cálculo para a obtenção da concentração de um elemento presente na amostra.

Segundo KELLER, (1988) aplicando-se a equação (1) para um mesmo elemento da amostra e padrão temos:

$$A_a = \frac{z \cdot \phi \cdot \sigma \cdot N \cdot m_a \cdot f \cdot [1 - e^{-0,693 \cdot t_i / t_{1/2}}]}{M} \quad (2)$$

$$A_p = \frac{z \cdot \phi \cdot \sigma \cdot N \cdot m_p \cdot f \cdot [1 - e^{-0,693 \cdot t_i / t_{1/2}}]}{M} \quad (3)$$

os índices a e p referem-se aos dados para a amostra e padrão.

A relação entre as equações 2 e 3 resulta em:

$$A_a / A_p = m_a / m_p \Rightarrow m_a = A_a / A_p \cdot m_p \quad (4)$$

Em termos de concentração temos:

$$C_a = \frac{A_a \cdot C_p \cdot m_p \cdot e^{\lambda(t_a - t_p)}}{A_p \cdot m_a} \quad (5)$$

onde:

$C_a$  = concentração do elemento na amostra

$A_a$  = taxa de contagem da amostra

$C_p$  = concentração do elemento no padrão

$m_p$  = massa do padrão

$A_p$  = taxa de contagem do padrão

$m_a$  = massa da amostra

$\lambda$  = constante de decaimento do radioisótopo

$t_a$  = tempo de decaimento da amostra

$t_p$  = tempo de decaimento do padrão

A concentração do elemento contido na amostra é calculado através da equação (5), pelo método comparativo de análise por ativação com nêutrons, que foi o método aplicado neste trabalho.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo estão descritos todos os procedimentos realizados para a determinação do mercúrio e do selênio.

#### 3.1. *Mercúrio*

##### 3.1.1. *Análise de mercúrio*

A figura 5 mostra o fluxograma das principais etapas realizadas para a determinação de mercúrio nas amostras de cabelos.

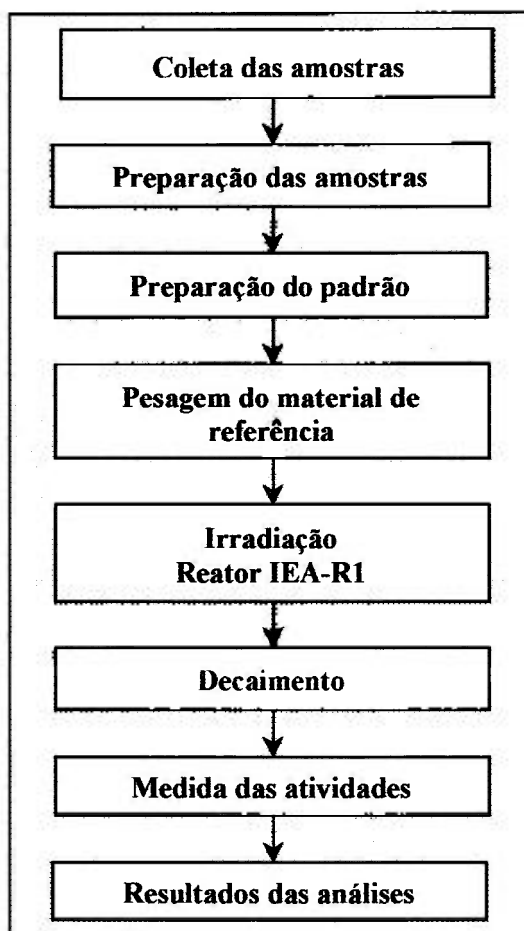


Figura 5 - Principais etapas para a determinação de mercúrio, no cabelo.

### 3.1.2. Método de coleta das amostras de cabelos

As amostras de cabelos foram coletadas em populações residentes em três regiões: Serra do Navio, Vila Nova e Tartarugalzinho localizadas no estado do Amapá. Essas amostras foram coletadas com a colaboração de pesquisadores do IPEN e do IAGUSP. Essas análises fizeram parte do Projeto: “Estudo do ciclo do mercúrio no ecossistema da Floresta Amazônica: avaliação do impacto da mineração de ouro com utilização de mercúrio” (projeto PADCT/CIAMB-CNPQ, coordenado pelo Prof. Dr. Adolpho José Melfi).

Para as amostras de cabelos das crianças, de 4 a 8 anos de idade, em tratamento odontopediátrico a coleta foi realizada em colaboração com a Faculdade de Odontologia da USP e da Universidade de Santo Amaro (UNISA). As crianças selecionadas receberam um aparelho ortodôntico, do tipo mantenedor de espaço, onde na porção do acrílico, era possível realizar um “preparo cavitário” para receber o amálgama. Assim foram divididas em dois grupos: G-1, amálgama em local sem atrito e G-2, amálgama em local com atrito (CIPRIANO *et al.*, 2000). Inicialmente os pacientes foram submetidos a uma análise de mercúrio no cabelo, prévio a utilização do aparelho ortodôntico. Após 5 meses aproximadamente, esses mesmos pacientes foram submetidos a novas análises.

A coleta das amostras foi feita com uma tesoura de aço inox, limpa com álcool p.a., retirando - se o cabelo da área occipital, bem próximo ao escalpo, conforme o protocolo da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 1987).

Após a coleta foi realizado o preenchimento de um formulário para cada doador, com suas características como idade, sexo, raça, hábitos alimentares, estado de saúde, etc. Segue, no Apêndice 1 e 1.1. os modelos dos formulários utilizados para as coletas.

A figura 6 ilustra o procedimento de coleta das amostras de cabelos.

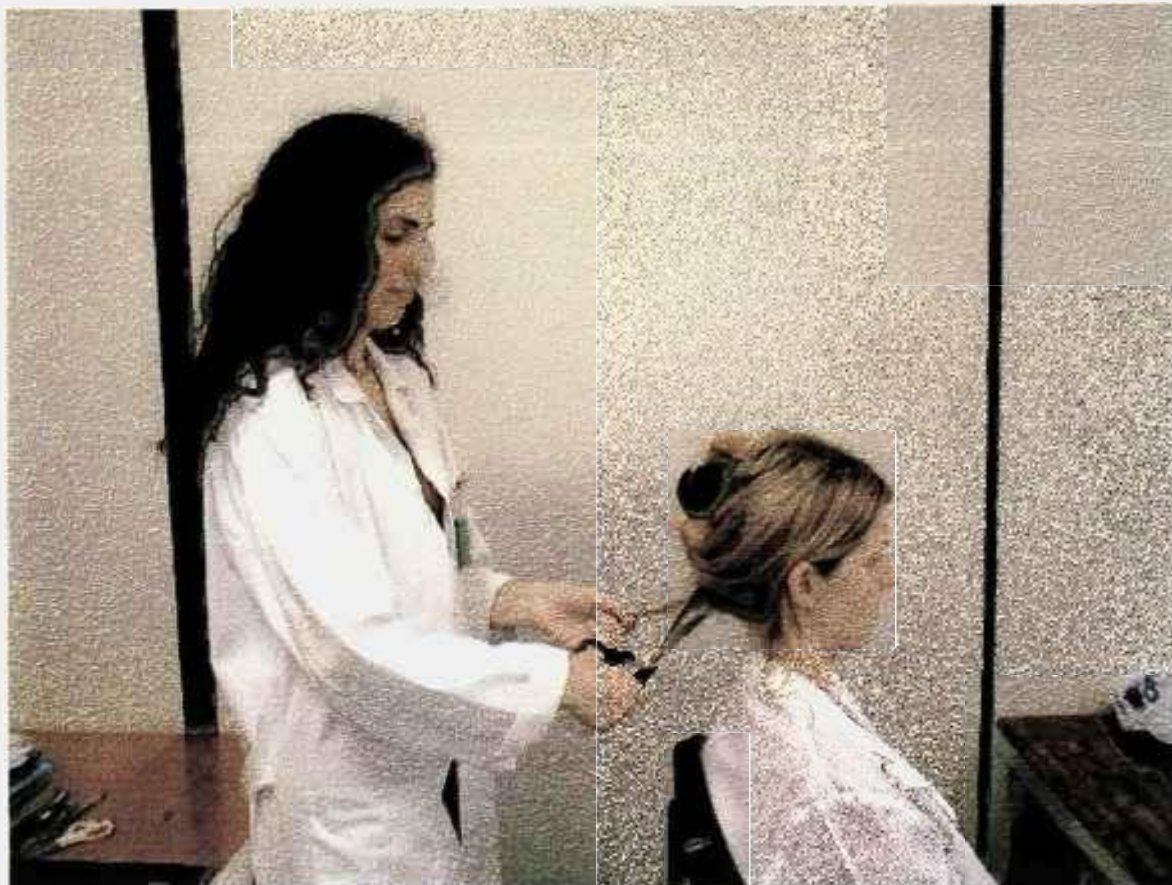


Figura 6 - Coleta das amostras de cabelos, retiradas da área occipital, próximo ao escalpo

### *3.1.3. Preparação das amostras de cabelos*

As amostras de cabelos foram cortadas, com uma tesoura de aço inox limpa, em segmentos de cerca de 0,5 mm de comprimento.

Para remover o material oleoso das amostras de cabelos, juntamente com poeira e outras partículas, assim como também uma larga fração de Na e Cl, foi necessário que o cabelo passasse por um processo de lavagem. Esse processo de lavagem tem que ser altamente reprodutível e pouco agressivo, para evitar tanto quanto possível qualquer perda de elementos traço de interesse contidos na amostra.

O método de lavagem foi realizado de acordo com o protocolo recomendado pela IAEA (IAEA, 1987). Após cortadas cada uma das amostras, estas foram passadas para um becker onde foram lavadas com acetona p.a. da Merck num intervalo de dez minutos, sob



agitação, em seguida foram lavadas com água destilada por três vezes em períodos de dez minutos cada lavagem, e por fim novamente com acetona p.a. da Merck, sendo que cada amostra é filtrada em papel de filtro quantitativo da marca Caal número 1541.

Ao fim do processo de lavagem essas amostras foram secas à temperatura ambiente, devido a volatilidade do mercúrio, por um período de 24 horas.

Cerca de 100 mg de cada amostra foi pesada em envoltórios plásticos, previamente limpos com  $\text{HNO}_3$  10%, e selados.

A figura 7 ilustra as etapas da preparação das amostras de cabelos.



Figura 7 - Etapas da preparação das amostras de cabelos.



### 3.1.4. Preparação do padrão

Para que a análise seja realizada é necessária a preparação de uma solução padrão, afim de que se possam comparar as atividades medidas da amostra com as do padrão, já que o método utilizado foi o comparativo.

Para isso devem-se utilizar reagentes de alta pureza, sendo estes solúveis nos solventes mais usuais e de fácil pesagem, e as vidrarias utilizadas deverão ser calibradas.

O padrão de mercúrio foi preparado pela dissolução de óxido de mercúrio (HgO), de marca Aldrich Gold Label, a 99.999% de pureza, em 2 mL de ácido nítrico diluído. A solução foi então transferida para um balão volumétrico calibrado de 25 mL, onde o volume foi completado com água destilada. Esta se constitui na solução estoque de mercúrio, com uma concentração de  $2,163 \text{ mg mL}^{-1}$  de Hg.

Depois de homogeneizada a solução contida no balão, pipetou-se 1 mL desta em um segundo balão volumétrico de 100 mL, onde se acrescentou 10 mL de ácido clorídrico p.a. Merck, e por fim o volume foi completado com água destilada. A concentração desta solução foi de  $0,02163 \text{ mg mL}^{-1}$ .

Após a preparação da solução padrão, foram pipetados em tiras de papel de filtro Whatman nº 40 cerca de  $100 \mu\text{L}$  de solução de tioacetamida, que forma o composto estável HgS fazendo com que não ocorra a perda do mercúrio por volatilização durante a irradiação segundo NOGUCHI *et al.*, (1980). Essas tiras de papel foram secas à temperatura ambiente por 60 minutos. Após a secagem, pipetaram-se cerca de  $50 \mu\text{L}$  de solução padrão de mercúrio.

Após o processo de secagem, essas tiras foram dobradas e embaladas em envoltórios plásticos, previamente limpos com ácido nítrico 10% , água desionizada e destilada.

Para a preparação da solução de tioacetamida foram pesados cerca de 0,1g de tioacetamida p.a. de marca J. T. Baker, sendo esta dissolvida em água, em um balão volumétrico de 50 mL. Obteve-se uma concentração de aproximadamente  $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ .

### 3.1.5. Materiais de referência

Para testar a exatidão do procedimento analítico foram usados materiais de referência de cabelo que foram preparados pela Agência Internacional de Energia Atômica e pelo Shanghai Institute of Nuclear Research (Academia Sinica, China), sendo esses irradiados juntamente com amostras e padrão de mercúrio.

Os materiais de referência que foram utilizados para a análise de mercúrio estão apresentados na tabela abaixo.

Tabela 7 - Materiais de referência

<b>Material de referência</b>	<b>Concentração de Hg (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>
“Spiked Human Hair” IAEA-085	23,2 <sup>*</sup> (22,4 - 24,0)
“Unspiked Human Hair” IAEA-086	0,573 <sup>*</sup> (0,534 - 0,612)
“Human Hair” Chinese GBW-09101	2,16 $\pm$ 0,12 <sup>**</sup>

<sup>\*</sup> valores recomendados

<sup>\*\*</sup> valores certificados

### 3.1.6. Irradiação

Como o método que foi utilizado foi o comparativo, as amostras de cabelos, padrões de mercúrio e materiais de referência foram acondicionados em recipientes de alumínio e foram irradiados simultaneamente no reator nuclear IEA - R1, sob um fluxo de nêutrons térmicos de cerca de  $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , por um período de 60 minutos (Figura 8).

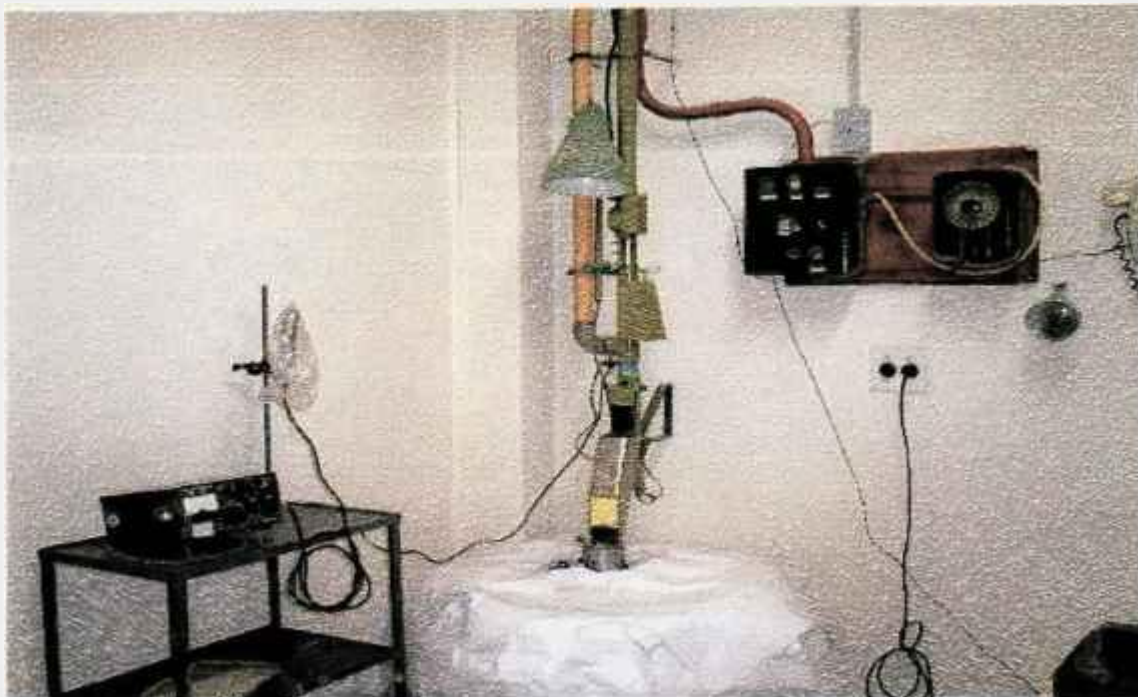


Figura 8 - Estação de irradiação das amostras.

### *3.1.7. Decaimento*

Ao término dos 60 minutos de irradiação esse dispositivo de alumínio contendo as amostras, padrões e materiais de referência passou por um período de decaimento de cerca de 48 horas, em blindagem de chumbo.

### *3.1.8. Medida das atividades*

Após o período de decaimento as amostras, padrões e materiais de referência foram medidos em um espectrômetro de raios gama por um período de 30 minutos cada, afim de se obter as atividades induzidas.

Para as amostras de cabelos das crianças em tratamento odontopediátrico usou-se um espectrômetro de raios gama constituído de um detector de germânio hiperpuro EURISYS modelo EGNC 25-190-R e eletrônica associada da mesma marca (Figura 9). A resolução (FWHM) do sistema utilizado foi de 1,20 keV para o fotopico de 122,1 keV do  $^{57}\text{Co}$  e de 1,90 keV para o fotopico de 1332,5 keV do  $^{60}\text{Co}$  (IAEA, 1990).



Figura 9 - Equipamento utilizado para as medidas das atividades nas amostras de cabelos das crianças em tratamento odontopediátrico.

Para as amostras de cabelos das populações residentes nas regiões do Amapá usou-se um espectrômetro de raios gama constituído de um detector de germânio EG&G ORTEC modelo GMX 20195 e eletrônica associada da mesma marca. A resolução (FWHM) do sistema utilizado foi de 1,04 keV para o fotopico de 122,1 keV do  $^{57}\text{Co}$  e de 1,82 keV para o fotopico de 1332,5 keV do  $^{60}\text{Co}$ .

A figura abaixo ilustra o equipamento utilizado para as análises.



Figura 10 - Equipamento utilizado para as medidas das atividades nas amostras de cabelos das três populações estudadas no Estado do Amapá.

### *3.1.9. Resultados das análises*

Ao término das medidas os espectros, das amostras de cabelos das populações residentes nas regiões do Amapá, foram analisados por um programa denominado VISPECT2, PICCOT, (1989), que fornece as energias da radiação gama dos radioisótopos de interesse e as respectivas áreas dos picos com os seus desvios padrões, assim como as resoluções dos picos.

Já para as amostras de cabelos das crianças em tratamento odontopediátrico os espectros foram processados pelo próprio software da EURISYS.

Na determinação de mercúrio, mede - se a radioatividade gama do radioisótopo  $^{197}\text{Hg}$ , com meia - vida de 64,1 horas e energias da radiação gama de 69 e 77 keV.

Por fim a concentração de mercúrio foi calculada usando-se o programa ESPECTRO, segundo a expressão (5), já apresentada no capítulo 2.

### 3.2. Selênio

O selênio possui seis isótopos estáveis, que podem produzir sete nuclídeos radioativos, por meio de irradiações com nêutrons térmicos e epitérmicos. O nuclídeo mais utilizado para as análises de selênio é o selênio-75, que possui uma meia-vida longa, de 119,8 dias. O isótopo-alvo, selênio-74, apresenta baixa abundância isotópica, de apenas 0,87%, mas por outro lado apresenta uma secção de choque para absorção de nêutrons térmicos razoavelmente alta, de 51,8 barns. O uso do nuclídeo selênio-75 permite boas determinações de selênio, mas requer irradiações longas, sob altos fluxos de nêutrons, assim como longos tempos de contagem e decaimento, o que pode levar a um tempo de análise total de duas a três semanas.

Uma outra alternativa para a determinação de selênio, é a utilização do radioisótopo de meia-vida curta, selênio-77m, com 17,45 segundos de meia-vida. Este isótopo pode ser produzido pela absorção de nêutrons térmicos pelo selênio-76, que tem uma abundância isotópica dez vezes maior que o selênio-74, mas uma secção de choque 2,5 vezes menor. O uso do nuclídeo selênio-77m em análise por ativação com nêutrons instrumental pode assim reduzir consideravelmente o custo e o tempo total da análise e tornar o método bastante competitivo em relação a outros métodos analíticos utilizados para a determinação de selênio como absorção atômica, ICP-AES e ICP-MS.

#### 3.2.1. Análise de selênio- radioisótopo de meia-vida curta ( $^{77m}\text{Se}$ )

Para a determinação de selênio através do radioisótopo de meia-vida curta  $^{77m}\text{Se}$  primeiramente foram analisados materiais de referência afim de se chegar à otimização do método proposto.

A figura 11 mostra o fluxograma das principais etapas realizadas para a otimização do método, através do radioisótopo de meia-vida curta  $^{77m}\text{Se}$ .



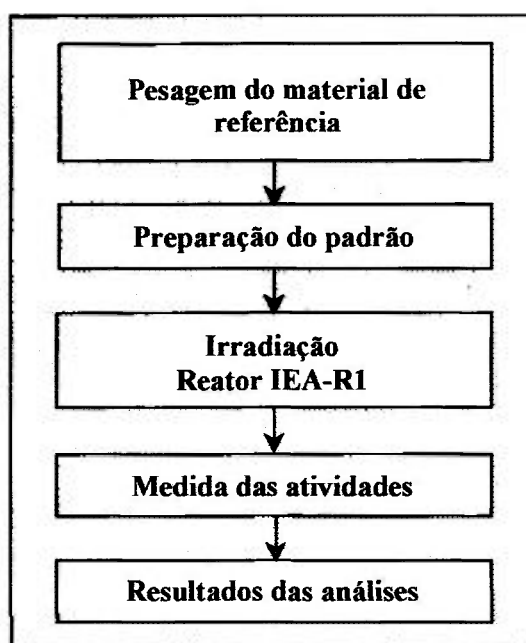


Figura 11 - Principais etapas realizadas para a otimização do método para a determinação de selênio ( $^{77m}\text{Se}$ ).

#### 3.2.1.1. Materiais de referência

Diversos materiais de referência foram analisados, a fim de se obter a exatidão e precisão do procedimento analítico desenvolvido, para as determinações de selênio por meio do radioisótopo de meia-vida curta  $^{77m}\text{Se}$ .

Os materiais de referência analisados estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 - Materiais de referência

Material de referência	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
“Human Hair” IAEA-085	1,07 <sup>***</sup> (0,96 - 1,17)
“Human Hair” IAEA-086	1,0 <sup>***</sup> (0,8 - 1,2)
“Dogfish Liver” DOLT-1	7,34±0,42 <sup>**</sup>
“Dogfish Muscle” DORM-1	1,62±0,12 <sup>**</sup>

\*\*\* valores informativos

\*\* valores certificados

### 3.2.1.2. Preparação do padrão

O padrão de selênio, utilizado para as irradiações curtas dos materiais de referência, foi preparado pela dissolução do selênio metálico em pó da marca May & Baker Ltda, a 99% de pureza, em 2 mL de ácido nítrico concentrado. A seguir, essa solução foi transferida para um balão volumétrico calibrado de 25 mL, onde o volume foi completado com água destilada. Obteve-se assim uma solução com uma concentração de selênio de aproximadamente  $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ .

Ao término da preparação da solução padrão de selênio, foram pipetados em tiras de papel de filtro Whatman nº 40 cerca de  $100\mu\text{L}$  dessa solução. Essas tiras de papel de filtro foram secas à temperatura ambiente por um período de 60 minutos e por fim dobradas e embaladas em envoltórios plásticos, previamente limpos com ácido nítrico 10%, água desionizada e destilada.

A massa do padrão de selênio irradiado foi de aproximadamente  $200\mu\text{g}$ .

### 3.2.1.3. Irradiação

As condições adotadas para a determinação de selênio nos materiais de referência IAEA-085 e IAEA-086 foram as seguintes:



Para cada material de referência irradiou-se, no reator IEA - R1, por seis vezes a mesma alíquota de cerca de 200 mg da amostra, por um período de 30 segundos e sob um fluxo de nêutrons térmicos de  $0,5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

Juntamente com o material de referência foi irradiada uma alíquota do padrão de selênio pipetado sobre tiras de papel de filtro Whatman nº 40.

Para a análise dos materiais de referência “Dogfish Liver” DOLT-1 e “Dogfish Muscle” DORM-1 as condições foram as mesmas porém o tempo de irradiação foi de 15 segundos. Essa variação do tempo de irradiação ocorre devido à composição do material de referência que está sendo analisado.

#### *3.2.1.4. Medida das atividades*

Uma observação a ser feita é o tempo de decaimento escolhido, que deve ser no máximo de 40 segundos após a irradiação, devido ao fato de a meia-vida do radioisótopo ser extremamente curta. Portanto, imediatamente após essa irradiação, padrão e material de referência foram medidos por 90 segundos cada, em um espectrômetro de raios gama, constituído de um detector de germânio hiperpuro CANBERRA modelo GX2020, acoplado a um sistema multicanal e eletrônica associada também da marca CANBERRA. A resolução (FWHM) do sistema utilizado foi de 0,98 keV para o fotopico de 122,1 keV do  $^{57}\text{Co}$  e de 1,78 keV para o fotopico de 1332,5 keV do  $^{60}\text{Co}$ .

A figura abaixo ilustra o equipamento que foi utilizado para as análises de selênio.



Figura 12 - Equipamento utilizado para as medidas das atividades na determinação de selênio.

#### *3.2.1.5. Resultados das análises*

Ao término das medidas os espectros foram analisados por um programa chamado VERSÃO 2, uma nova versão do programa VISPECT2, PICCOT, (1989), que fornece as energias da radiação gama dos radioisótopos de interesse e as respectivas áreas dos picos. A radioatividade gama medida foi a do radioisótopo  $^{77m}\text{Se}$ , com meia-vida de 17,45 segundos e energia da radiação gama 161,9 keV. Por fim a concentração de selênio foi calculada usando-se o programa PAKI, desenvolvido no Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica (LAN) do IPEN.

#### *3.2.1.6. Análises das amostras*

Após a otimização do método através da certificação dos materiais de referência foram analisadas as matrizes de unhas e suplemento vitamínico contendo selênio.

A figura 13 mostra o fluxograma das principais etapas realizadas para a determinação de selênio nas amostras.

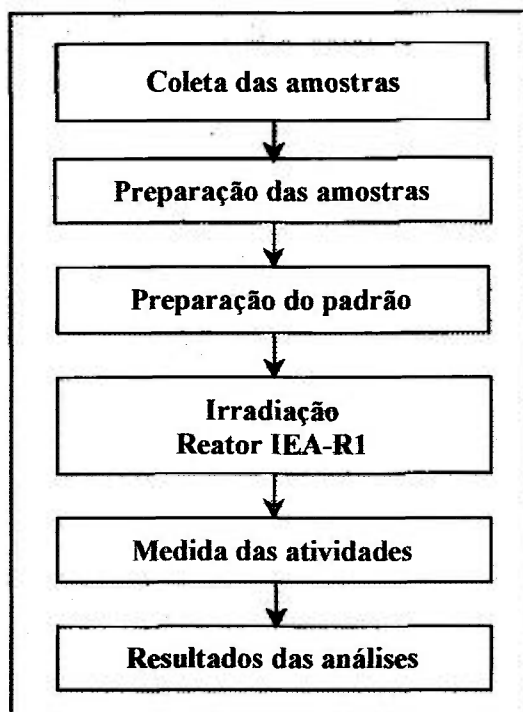


Figura 13 - Principais etapas realizadas para a determinação de selênio nas amostras, ( $^{77m}\text{Se}$ ).

### 3.2.1.7. Método de coleta das amostras de unhas e suplemento vitamínico

As amostras de unhas foram coletadas de indivíduos saudáveis pertencentes a funcionários e estagiários da Supervisão de Radioquímica do IPEN, de dentistas, professores e outros.

A coleta das amostras de unhas foi feita de todos os dedos dos pés, utilizando-se cortador de unha ou tesouras de aço inox.

Foi também preenchido um formulário com as características do doador. O modelo do formulário está apresentado no Apêndice 2.

Para o suplemento vitamínico, primeiramente foram selecionados aleatoriamente dez comprimidos de um frasco contendo cem unidades da marca Vitamin World.

#### *3.2.1.8. Preparação das amostras de unhas e suplemento vitamínico*

As amostras de unhas foram cortadas em segmentos menores, e a seguir foram lavadas de acordo com o protocolo recomendado pela IAEA já citado.

Cerca de 200 mg de cada amostra foram pesadas em envoltórios plásticos, previamente limpos com  $\text{HNO}_3$  10%, e selados.

Para o suplemento vitamínico, após a seleção dos comprimidos estes foram pesados um a um, a fim de se obter a massa individual de cada um, já que o objetivo dessa análise é determinar a massa de selênio por comprimido.

Ao término da pesagem os comprimidos foram triturados e homogeneizados um a um em almofariz de ágata, previamente limpo com ácido nítrico 10% e água destilada.

Por fim cada comprimido foi dividido em duas alíquotas de aproximadamente 200 mg, sendo estas pesadas em envoltórios plásticos, previamente limpos com  $\text{HNO}_3$  10%, e selados.

#### *3.2.1.9. Preparação do padrão*

O padrão de selênio utilizado nesta análise, foi o mesmo utilizado para as análises dos materiais de referência, tendo sido sua preparação já descrita no ítem 3.2.1.2..

#### *3.2.1.10. Irradiação*

Cada amostra de unha foi irradiada, no reator IEA - R1, por duas vezes a mesma alíquota de cerca de 200 mg da amostra, por um período de 20 segundos e sob um fluxo de

nêutrons térmicos de  $0,5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Juntamente com a amostra foi irradiada uma alíquota do padrão de selênio.

Para cada comprimido que foi dividido em duas partes de cerca de 200 mg cada, foram feitas irradiações, no reator IEA - R1 por um período de 20 segundos e sob um fluxo de nêutrons térmicos de  $0,5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , para cada uma das alíquotas. Juntamente com a amostra, foi irradiada uma alíquota do padrão de selênio.

#### *3.2.1.11. Medida das atividades*

Imediatamente após a irradiação (considerando um tempo de decaimento de no máximo 40 segundos), padrão e amostra de unha e suplemento vitamínico foram medidos por 90 segundos cada em um espectrômetro de raios gama, constituído de um detector de germânio hiperpuro CANBERRA modelo GX2020, acoplado a um sistema multicanal e eletrônica associada também da marca CANBERRA. A resolução (FWHM) do sistema utilizado foi de 0,98 keV para o fotopico de 122,1 keV do  $^{57}\text{Co}$  e de 1,78 keV para o fotopico de 1332,5 keV do  $^{60}\text{Co}$ .

#### *3.2.1.12. Resultados das análises*

Os cálculos dos resultados foram realizados de acordo com o item 3.2.1.5., já citado anteriormente.

### *3.2.2. Análise de selênio-radioisótopo de meia-vida longa ( $^{75}\text{Se}$ )*

O nuclídeo selênio-75 foi utilizado, para a determinação do selênio, em todas as matrizes estudadas neste trabalho afim de se comparar os valores de limites de detecção, exatidão e precisão do método desenvolvido com o nuclídeo de meia-vida curta.

A figura abaixo apresenta o fluxograma das etapas realizadas para as determinações de selênio nas amostras e materiais de referência, por meio do nuclídeo de meia-vida longa.

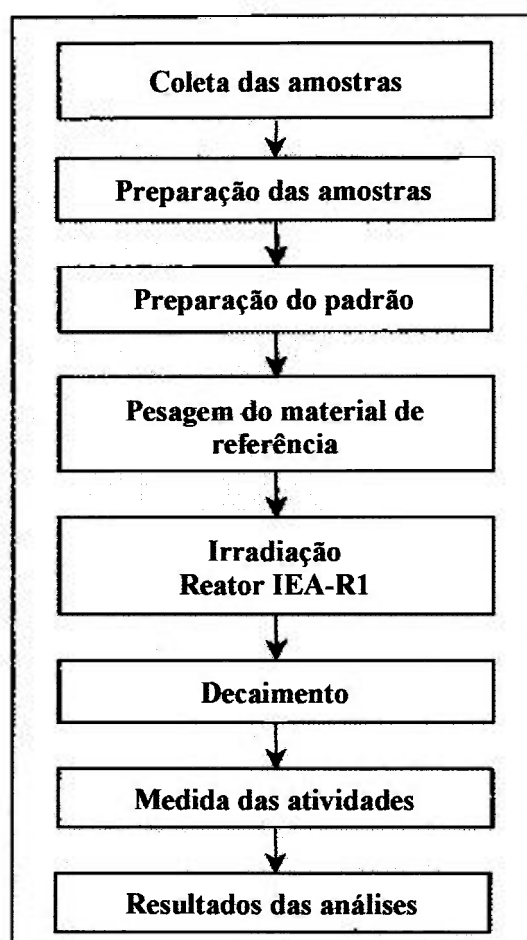


Figura 14 - Principais etapas realizadas para a determinação de selênio nos materiais de referência, ( $^{75}\text{Se}$ ).

#### *3.2.2.1. Coleta e preparação das amostras de unhas e suplemento vitamínico*

A coleta e a preparação das amostras para a análise de selênio já foram citadas nos itens 3.2.1.7. e 3.2.1.8. respectivamente.

### 3.2.2.2. *Preparação do padrão*

O padrão de selênio, utilizado para as irradiações longas, foi obtido através da diluição da solução de selênio de concentração igual a  $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ , tendo-se obtido uma concentração de aproximadamente  $0,04 \text{ mg mL}^{-1}$ . Foram pipetados em tiras de papel de filtro Whatman n° 40 cerca de  $50 \mu\text{L}$  dessa solução. A massa do padrão de selênio irradiado foi de aproximadamente  $2,0 \mu\text{g}$ .

### 3.2.2.3. *Materiais de referência*

Os materiais de referência que foram utilizados nesta análise foram os mesmos utilizados para as análises de selênio através do nuclídeo  $^{77\text{m}}\text{Se}$  e estão citados no item 3.2.1.1.. Esses materiais de referência foram analisados, por meio do radionuclídeo  $^{75}\text{Se}$ , afim de se testar a exatidão do procedimento analítico e de comparar as concentrações obtidas por meio do radionuclídeo  $^{77\text{m}}\text{Se}$ .

### 3.2.2.4. *Irradiação*

O método para a análise de selênio por meio do radionuclídeo de meia-vida longa  $^{75}\text{Se}$  já estava estabelecido, onde alíquotas de cerca de 200 mg dos materiais de referência, amostras e padrões de selênio foram irradiados no reator IEA - R1 por um período de 8 horas, sob um fluxo de nêutrons térmicos de  $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

### 3.2.2.5. *Decaimento*

Ao término das 8 horas de irradiação o dispositivo de alumínio contendo as amostras, padrões de selênio e materiais de referência passou por um período de decaimento de cerca de 15 dias, em blindagem de chumbo.

#### *3.2.2.6. Medida das atividades*

Após o período de decaimento de 15 dias, materiais de referência, amostras e padrões de selênio foram medidos, por um período de 50000 segundos cada, em um espectrômetro de raios gama constituído de um detector de germânio hiperpuro CANBERRA modelo GX2020, acoplado a um sistema multicanal e eletrônica associada também da marca CANBERRA. A resolução (FWHM) do sistema utilizado foi de 0,98 keV para o fotopico de 122,1 keV do  $^{57}\text{Co}$  e de 1,78 keV para o fotopico de 1332,5 keV do  $^{60}\text{Co}$ .

#### *3.2.2.7. Resultados das análises*

Ao término das medidas os espectros foram analisados por um programa chamado VERSÃO 2. A radioatividade gama medida foi a do radioisótopo  $^{75}\text{Se}$ , com meia-vida de 119,8 dias e energia da radiação gama 264 keV. Por fim a concentração de selênio foi calculada usando-se o programa ESPECTRO.



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos a partir das análises realizadas, nas amostras de cabelos das regiões estudadas, das crianças em tratamento odontopediátrico e materiais de referência, quanto ao teor de mercúrio. Serão apresentados também os resultados obtidos, quanto ao teor de selênio, por meio dos radionuclídeos  $^{77m}\text{Se}$  e  $^{75}\text{Se}$  nos materiais de referência, nas amostras de unhas e suplemento vitamínico.

### 4.1. Limite de detecção

A capacidade de quantificar um elemento traço ou molécula em matrizes biológicas ou químicas usando métodos analíticos específicos é frequentemente visto em termos de limite de detecção. Este limite de detecção é um número apresentado em unidades de concentração e expressa a menor concentração do elemento que pode ser detectada como sendo aquela que difere estatisticamente do branco analítico (LONG & WINEFORDNER, 1983).

Os limites de detecção da técnica de AANI obtidos neste trabalho foram calculados utilizando-se a expressão apresentada abaixo (CURRIE, 1968). Esse limite foi calculado para cada elemento em todos os materiais de referência utilizados e amostras.

O método de Currie é um dos mais utilizados para cálculo de limites de detecção em análise por ativação neutrônica.

$$LD = 2,71 + 4,65\sqrt{\mu_B} \quad (6)$$

onde:

$\mu_B$  = medida da área da radiação de fundo (background) do pico de interesse

#### 4.2. Cálculo do score z

A última meta de um laboratório analítico é o conhecimento da qualidade dos resultados obtidos. Uma das técnicas associadas em controle de qualidade é a representação de variáveis observadas em gráficos de controle. Esses gráficos de controle são gráficos de pontos de resultados múltiplos de mesma amostras, amostras similares ou processos vs tempo.

Esses gráficos devem ser usados para determinar se um sistema está em um estado de controle estatístico. Por meio desses gráficos de controle, pode-se visualizar ou controlar a variabilidade relativa de dados repetitivos (KEITH *et al.*, 1983). O uso desses gráficos em medidas analíticas nucleares tem sido bastante aplicado, principalmente em materiais de referência certificados.

Para a construção desses gráficos de controle é necessário o cálculo do score z que é dado pela seguinte equação (BODE & VAN DIJK, 1997):

$$z = \frac{C_o - C_m}{\sqrt{\sigma^2_o + \sigma^2_m}} \quad (7)$$

onde:

$C_o$  = concentração do resultado obtido experimentalmente

$C_m$  = concentração do material de referência

$\sigma_o$  = desvio padrão do resultado obtido experimentalmente

$\sigma_m$  = desvio padrão do material de referência

De acordo com esse critério, se  $|z| < 3$  o valor obtido está no nível de confiança de 99% do valor certificado (BODE, 1996).

#### 4.3. Teste t de Student

Para compararmos os métodos utilizados na determinação do teor de selênio foi utilizado o teste t (TRIOLA, 1999).

O teste t foi aplicado para verificar se as médias obtidas pelo método de irradiação curta (método desenvolvido) e irradiação longa diferem ou não significativamente.

Para proceder ao teste t primeiramente verificou-se se as variâncias  $S_x^2$  e  $S_y^2$  não diferem a um nível de significância de 0,05 uma da outra com  $(n_1 - 1)$  e  $(n_2 - 1)$  graus de liberdade e para isto foi utilizado o teste F (VIEIRA, 1997). O valor de F é dado pela razão entre a maior e a menor variância.

$$F = \frac{S_x^2}{S_y^2} \quad (8)$$

onde:

$$S_x^2 > S_y^2$$

$n_1$  e  $n_2$  = número de resultados do primeiro método e do segundo método, respectivamente.

Após verificada a igualdade das variâncias ( $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$ ) o valor de t foi calculado pela expressão:

$$t = \frac{(|\bar{x} - \bar{y}|)}{\bar{s}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} \quad (9)$$

onde:

$\bar{s}$  = variância ponderada:

$$\bar{s}^2 = \frac{(n_1 - 1) \cdot S_x^2 + (n_2 - 1) \cdot S_y^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad (10)$$

Após o cálculo de t este foi comparado com o valor tabelado, (SPIEGEL,1993) ao nível de significância de 0,05 e com  $(n_1 + n_2 - 2)$  graus de liberdade. Para que as médias dos resultados obtidos pelos dois métodos sejam consideradas iguais o valor de t calculado deve ser menor que o t tabelado.

#### **4.4. Resultados**

As tabelas 9 a 11 apresentam os resultados das determinações de mercúrio nos materiais de referência, utilizados para verificar a exatidão e precisão do método analítico empregado.

A figura 15 mostra o gráfico de controle que foi construído para o material de referência certificado GBW-09101, utilizado para a determinação de mercúrio.

As tabelas de 12 a 14 apresentam os resultados das análises realizadas para a determinação do teor de mercúrio nas amostras de cabelos coletadas nas regiões da Serra do Navio, Tartarugalzinho e Vila Nova, no Estado do Amapá.

Foram construídos gráficos para cada uma dessas populações afim de verificar se existe alguma relação entre concentração de mercúrio no cabelo e a frequência do consumo de peixes. Esses gráficos estão apresentados nas figuras de 16 a 18. Os dados sobre a frequência do consumo de peixes das populações estudadas foram obtidos dos questionários preenchidos no momento da coleta das amostras de cabelos.

A tabela 15 apresenta os resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelos de crianças em tratamento odontopediátrico.

Também foi construído um gráfico para visualizar melhor se existe uma transferência de amálgama para o organismo, que possa eventualmente ser monitorada pela análise de cabelos. Esse gráfico está apresentado mais adiante na figura 19.

Para a determinação de selênio primeiramente foram analisados os materiais de referência para a certificação do método proposto (irradiações curtas). Após a certificação, o método foi aplicado nas amostras.

Foram utilizadas também para as determinações de selênio irradiações longas, nas quais o método permite boas determinações do elemento. Esse método já estabelecido foi aplicado afim de se comparar os valores de limite de detecção, exatidão e precisão do método desenvolvido por meio de irradiações curtas.

As tabelas de 16 a 19 apresentam os resultados das análises realizadas para o teor de selênio, por meio dos radioisótopos  $^{77m}\text{Se}$  e  $^{75}\text{Se}$ , nos materiais de referência: IAEA-085, IAEA-086, DOLT-1 e DORM1.

As figuras de 20 a 23 apresentam os gráficos de score z para os materiais de referência certificados analisados por meio de irradiações curtas e longas.

O teste estatístico aplicado, nos resultados obtidos para selênio nos materiais de referência, está apresentado na tabela 20.

As tabelas de 21 e 22 apresentam os resultados das determinações de selênio nas amostras de unhas e suplemento vitamínico, respectivamente.

A tabela 23 mostra o teste estatístico aplicado nos resultados obtidos para selênio nas amostras de unhas e suplemento vitamínico.

#### 4.4.1. Resultados das determinações de mercúrio nos materiais de referência

As tabelas abaixo apresentam os resultados das análises feitas para o teor de mercúrio nos materiais de referência: “Human Hair” IAEA-085, “Human Hair” IAEA-086 e “Chinese Human Hair” GBW-09101, respectivamente.

Tabela 9 - Resultados das determinações de mercúrio no material de referência IAEA-085, pelo método de análise por ativação com nêutrons.

Material de referência	Concentração de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
	23,09 $\pm$ 0,06
	24,15 $\pm$ 0,96
“Human Hair”	24,41 $\pm$ 0,44
IAEA-085	24,46 $\pm$ 1,67
	23,62 $\pm$ 1,80
	23,07 $\pm$ 0,27

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 23,80 (\mu\text{g g}^{-1})$$

$$s = 0,6$$

$$\text{Erro relativo} = 2,6 \%$$

$$\text{Des. pad. rel.} = 2,5 \%$$

$$\text{LD} = 0,08 (\mu\text{g g}^{-1})$$

$$\text{Valor recomendado } (\mu\text{g g}^{-1}) = 23,2 (22,4 - 24,0)$$

Tabela 10 - Resultados das determinações de mercúrio no material de referência IAEA-086, pelo método de análise por ativação com nêutrons.

Material de referência	Concentração de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
	0,56 $\pm$ 0,02
	0,57 $\pm$ 0,05
“Human Hair”	0,59 $\pm$ 0,01
IAEA-086	0,65 $\pm$ 0,01
	0,59 $\pm$ 0,02
	0,54 $\pm$ 0,07

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 0,58 (\mu\text{g g}^{-1})$$

$$s = 0,04$$

$$\text{Erro relativo} = 1,2 \%$$

$$\text{Des. pad. rel.} = 6,9 \%$$

$$\text{LD} = 0,07 (\mu\text{g g}^{-1})$$

$$\text{Valor recomendado } (\mu\text{g g}^{-1}) = 0,573 (0,534 - 0,612)$$

Tabela 11 - Resultados das determinações de mercúrio no material de referência GBW-09101, pelo método de análise por ativação com nêutrons.

Material de referência	Concentração de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
	2,35 $\pm$ 0,08
	2,30 $\pm$ 0,05
“Chinese Human Hair”	2,02 $\pm$ 0,01
GBW-09101	2,14 $\pm$ 0,08
	2,14 $\pm$ 0,01
	1,92 $\pm$ 0,06

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 2,14 (\mu\text{g g}^{-1})$$

$$s = 0,16$$

$$\text{Erro relativo} = 0,9 \%$$

$$\text{Des. pad. rel.} = 7,5 \%$$

$$\text{LD} = 0,04 (\mu\text{g g}^{-1})$$

$$\text{Valor certificado } (\mu\text{g g}^{-1}) = 2,16 \pm 0,21$$

Os resultados obtidos para a determinação de mercúrio nos materiais de referência IAEA-085, IAEA-086 e GBW-09101, foram satisfatórios, obtendo-se erros relativos de 2,6%, 1,2 % e 0,9%, respectivamente e desvios padrão relativos de 2,5%, 6,9% e 7,5%, respectivamente.

Abaixo está apresentado o gráfico de *escore z*, para o material de referência certificado GBW-09101.



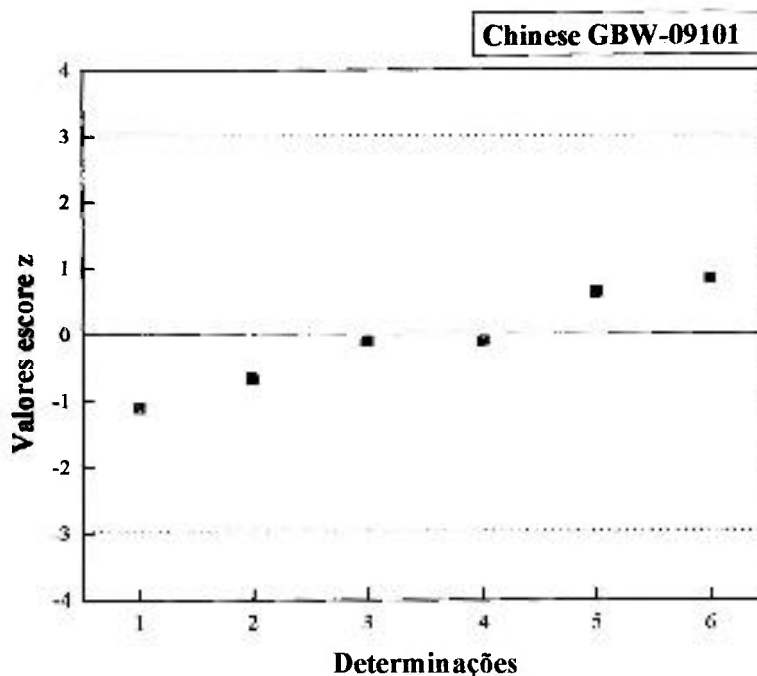


Figura 15 - Escore z para seis determinações de mercúrio no MRC GBW-09101.

A figura acima confirma, por meio da análise do material de referência certificado GBW-09101, a exatidão e precisão do método empregado para as análises do teor de mercúrio, pois os valores de z obtidos para o MRC estão compreendidos entre os valores -3 e 3 apresentados no gráfico.

#### 4.4.2. Resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelo das populações residentes no Estado do Amapá.

As tabelas abaixo apresentam os resultados das análises feitas para o teor de mercúrio nas populações da Serra do Navio, Tartarugalzinho e Vila Nova, respectivamente.

Tabela 12 - Resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelos coletadas na região do Serra Navio, Estado do Amapá.

Código da amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Frequência de consumo de peixe	Concentração de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
A1	M	50	Marceneiro	Peixe 1x/dia, 2 dias/semana Trairão, Poropete e Mandubé	3,51 $\pm$ 0,18
A2	M	36	Ajudante / Prefeitura	Peixe Curipeté e Trairão	5,15 $\pm$ 0,26
A3	F	42	Dona de casa	Peixe ---	3,43 $\pm$ 0,17
A5	F	14	Estudante	Peixe 100-200g , 1dia/semana Cará e Aracu	0,64 $\pm$ 0,03
A6	F	14	Estudante	Não consome peixe	0,45 $\pm$ 0,03
A7	M	17	Estudante	Peixe 1dia/semana Pescada e dourado	1,25 $\pm$ 0,08
A8	F	25	Dona de casa	Peixe 200g , 1 dia/semana Traíra e Cará	2,25 $\pm$ 0,15
A9	F	48	Dona de casa	Peixe 100g , 2x/mês Traíra e Curimatã	2,84 $\pm$ 0,19
A10	F	14	Estudante	Peixe 1x/mês Pacu	0,88 $\pm$ 0,08
A11	F	22	Professora	Peixe 1 dia/semana Pescada e Dourado	0,81 $\pm$ 0,07
A12	F	28	Dona de casa	Peixe 1-2x/mês Tucunaré, Traíra e Apaiari	1,48 $\pm$ 0,13
A13	F	36	Dona de casa	Peixe 2x/mês Matrichão	1,16 $\pm$ 0,15
A15	M	50	Garimpeiro	Peixe a semana toda Trairão, Curipeté e Trairinha	6,93 $\pm$ 0,87
A17	M	38	Operador	Peixe 2 dias/semana Dourado, Pescada, Traíra	0,64 $\pm$ 0,08
A18	M	35	Saneamento (?)	Peixe 3-4 dias/semana Cará e Traíra	1,17 $\pm$ 0,14
A19	M	70	Agricultor/Garimpeiro	Peixe 1-2x/mês Curipeté e Traíra	7,51 $\pm$ 0,93
A20	F	33	Dona de casa	Peixe 2 dias/semana Curipeté, Traíra e Pirarucu	5,33 $\pm$ 0,66
A21	M	15	Estudante	Peixe 2 dias/semana Dourado	0,21 $\pm$ 0,03
A22	F	22	Dona de casa	Peixe 1 dia/semana Pescada e Curimatã	6,13 $\pm$ 0,52
A23	F	44	Dona de casa	Peixe 2 dias/semana Traíra e Branquinha	1,51 $\pm$ 0,15
A24	M	68	Garimpeiro	Peixe 3 dias/semana Curipeté e Trairão	8,75 $\pm$ 0,90

Tabela 8 – Continuação

A25	F	53	Dona de casa	Peixe 1 dia/semana Curimatã, Dourado e Traíra	6,68 ± 0,66
A26	M	55	Agricultor	Peixe 3 dias/semana Trairão, Curipeté e Mandubé	7,26 ± 0,67
A28	F	17	Do lar	Peixe 2 dias/semana Curimatã, Trairão e Curipeté	1,04 ± 0,09
A29	M	44	Agricultor/Garimpeiro	Peixe 3 dias/semana Trairão, Curipeté e Curimatã	9,82 ± 0,37
A30	F	15	Estudante	Peixe 2 dias/semana Trairão	2,21 ± 0,10
A31	M	42	Chefe de obras	Peixe 1 dia/semana Trairão, Curimatã e Curipeté	1,50 ± 0,06
A32	M	53	Pintor/Seringueiro	Peixe 5 dias/semana Trairão, Curipeté, Mandubé	5,60 ± 0,48
A35	F	8	----	Peixe 100g , a semana toda Traíra, Piranha e Pirarucu	7,52 ± 0,65
A36	F	55	Dona de casa	Peixe 1-2x/mês Traíra, Pacu, Piranha e Aracu	1,85 ± 0,21
A37	F	21	Estudante	Peixe 100-200g , 1x/mês Dourado	1,23 ± 0,11
A38	F	15	Estudante	Peixe 1x/mês Piranha, Pacu e Tucunaré	0,93 ± 0,14
A40	F	34	Dona de casa	Peixe 1x/mês Traíra, Curipeté e Curimatã	1,72 ± 0,20
A41	F	16	Estudante	Peixe 1x/mês Pescada e dourado	1,31 ± 0,09
A43	F	42	Dona de casa	Peixe 1-2 dias/semana Curipeté, Piranha e Traíra	20,58 ± 2,70
A44	M	16	Estudante	Peixe 1x/mês Dourado e Pirarucu	1,82 ± 0,01
A46	F	36	Dona de casa	Peixe 1-2x/mês Traíra, Pescada e Dourado	5,18 ± 0,08
A49	M	39	Op. de equipamentos	Peixe 1x/mês Dourado, Pescada	1,55 ± 0,02
A50	F	26	Doméstica	Peixe 1 dia/semana Pescada, Dourado e Trairão	1,94 ± 0,10
A52	M	49	Garimpeiro/Colônia	Peixe 1 dia/semana Pacu, Aracu e Curipeté	5,71 ± 0,22
A54	F	11	Estudante	Peixe 1 dia/semana Trairão	2,92 ± 0,30
A55	M	35	Mergulhador/Garimpeiro	Peixe 2 dias/semana Trairão, Curipeté e Pacu	4,88 ± 0,29
A56	F	59	Dona de casa	Peixe 1-2 dias/semana Traíra, Curipeté, Pacu e Piaba	8,26 ± 0,20
A57	F	11	Estudante	Peixe 1x/mês Piaba e Traíra	1,70 ± 0,25
A61	M	26	Segurança/Inspetor	Peixe 1x/mês Dourado, Trairão e Mandubé	0,56 ± 0,06

Tabela 8 – Continuação

A62	F	21	Secretária/Vendedor	Peixe 2x/mês Trairão, Dourado e Curipeté	1,69 ± 0,17
A64	F	57	Dona de casa	Peixe 1x/mês Trairão e Mandubé	8,08 ± 0,16
A65	F	26	Dona de casa	Peixe 1x/mês Piaba e Branquinha	2,11 ± 0,04
A66	F	34	Dona de casa/Agricultura	Peixe 3-4 dias/semana Trairão, Curipeté e Cará	7,99 ± 0,68
A67	F	12	Estudante	Peixe 100g, 3 dias/semana Trairão e Cará	3,54 ± 0,02
A68	F	38	Dona de casa/Agricultura	Peixe 2 dias/semana Cará e Trairão	0,92 ± 0,06

n = 51

$\bar{x} = 3,73 (\mu\text{g g}^{-1})$

s = 3,63

$\bar{x}_g = 2,44 (\mu\text{g g}^{-1})$

sg = 2,63

Mediana = 2,11 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Faixa = 0,21 - 20,58 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

LD = 0,2 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

De acordo com a tabela acima podemos observar que cerca de 50% das amostras apresentam concentrações de mercúrio no cabelo pelo menos duas vezes superiores à média da população controle (PALETTI, 1999), que é de 1,0 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

Os garimpeiros apresentam sempre concentrações de mercúrio elevadas, os jovens estudantes apresentam muitas vezes concentrações de mercúrio mais baixas, inferiores a 1,0 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) e algumas donas de casa também apresentam valores elevados.

Tabela 13 - Resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelos coletadas na região de Tartarugalzinho, Estado do Amapá.

Código da Amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Frequência de Consumo de peixe	Concentração de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
A1T	M	21	Madeireiro	Peixe 1x/semana Tucunaré, Cará e pirarucu	$6,87 \pm 2,32$
A2T	F	40	Copeira de hospital	Peixe 3x/semana Escama	$2,68 \pm 0,91$
A3T	F	21	Servente de hospital	Peixe -----	$18,84 \pm 6,37$
A4T	M	51	Prefeito, garimpo	Peixe 2x/semana -----	$4,23 \pm 1,43$
A5T	F	26	Auxiliar de enfermagem	Peixe 1x/semana Escama	$1,19 \pm 0,40$
A1.2T	F	34	Auxiliar de enfermagem	Peixe 3x/mês Tucunaré	$6,32 \pm 0,20$
A5.2T	F	32	-----	Peixe a semana toda Aracu	$20,76 \pm 0,34$
A6.2T	F	14	-----	Peixe 2x/semana -----	$3,41 \pm 0,04$
A8.2T	F	49	-----	Peixe 3-4x/semana Acara preta e branca	$28,62 \pm 0,91$
A9.2T	F	9	-----	Peixe 1-2x/semana -----	$20,50 \pm 0,65$

n = 10

$\bar{x} = 11,34 (\mu\text{g g}^{-1})$

s = 9,80

$\bar{x}_g = 7,34 (\mu\text{g g}^{-1})$

sg = 2,88

Mediana =  $6,60 (\mu\text{g g}^{-1})$

Faixa = 1,19 - 28,62 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

LD =  $0,3 (\mu\text{g g}^{-1})$

Conforme a tabela acima os valores para a concentração de mercúrio para essa população são bastante elevados, a não ser para uma auxiliar de enfermagem (amostra A5T) que apresentou teor de mercúrio de cerca de  $1 (\mu\text{g g}^{-1})$ .

Uma servente de hospital e outras que não declararam a ocupação apresentaram valores muito elevados, acima de 20 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

Tabela 14 - Resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelos coletadas na região de Vila Nova, Estado do Amapá.

Código da amostra	Sexo	Idade	Ocupação	Frequência de Consumo de peixe	Concentração de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
AVN1	M	47	Garimpeiro	Peixe 1x/mês Pial (Aracu)	5,24 $\pm$ 0,43
AVN2	M	25	Garimpeiro	Peixe 1x/mês Trairão	2,61 $\pm$ 0,22
AVN3	M	27	Garimpeiro	Peixe 1x/mês Trairão	8,62 $\pm$ 0,71
AVN4	M	39	Comerciante/Garimpeiro	Peixe 2x/mês Traíra, Mandubé e Piranha	4,21 $\pm$ 0,35
AVN5	M	39	Garimpeiro	Peixe 2x/semana Trairão e Curupeté	6,43 $\pm$ 0,65

n = 5

$\bar{x} = 5,42$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 2,27

$\bar{x}_g = 5,02$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

sg = 1,57

Mediana = 5,32 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Faixa = 2,61 - 8,62 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

LD = 0,3 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Todos os indivíduos dessa região são garimpeiros e apresentaram valores elevados para o teor de mercúrio.

As figuras abaixo apresentam gráficos de concentrações de mercúrio no cabelo em função da frequência de consumo médio de peixe, para as três populações estudadas.

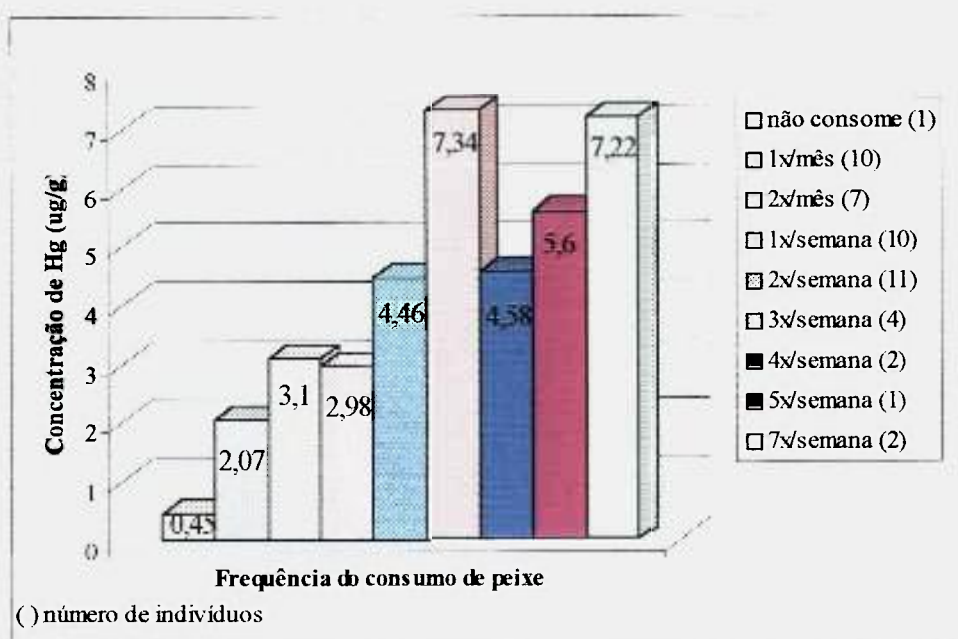


Figura 16 - Concentrações de Hg no cabelo em função da frequência do consumo médio de peixe, na região da Serra do Navio, Estado do Amapá.

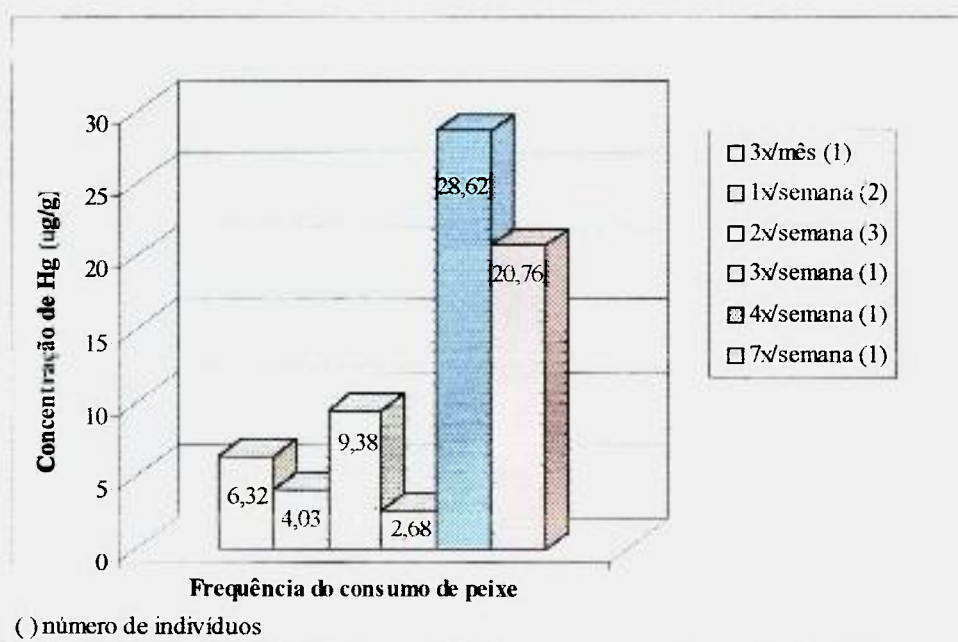


Figura 17 - Concentrações de Hg no cabelo em função da frequência do consumo médio de peixe, na região de Tartarugalzinho, Estado do Amapá.

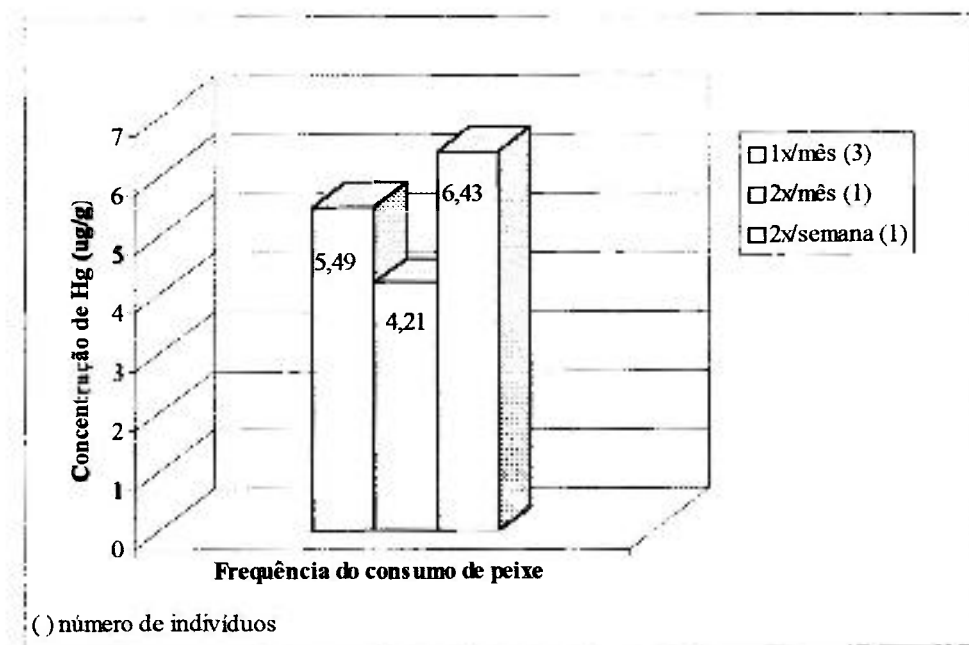


Figura 18 - Concentrações de Hg no cabelo em função da frequência do consumo médio de peixe, na região de Vila Nova, Estado do Amapá.

De acordo com as figuras acima pode-se observar uma tendência de aumento das concentrações de mercúrio nos cabelos, à medida que aumenta a frequência do consumo de peixe.

PALETTI, (1999) verificou também que treze grupos indígenas, residentes no Parque Indígena do Xingu que consomem grande quantidade de peixes, apresentavam teores ainda mais altos de mercúrio no cabelo do que as populações do Estado do Amapá.

Neste mesmo trabalho, foi determinado ainda o teor de metilmercúrio nos cabelos dessas populações, que correspondeu à quase totalidade do mercúrio presente nos cabelos. Muitos trabalhos da literatura já mostraram a relação entre os teores de metilmercúrio e o consumo de peixes (BOISCHIO & HENSHEL, 1996).



*4.4.3. Resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelo das crianças em tratamento odontopediátrico.*

A tabelas abaixo apresenta os resultados obtidos para o teor de mercúrio nas amostras de cabelo das crianças em tratamento odontopediátrico.

Uma melhor visualização desses resultados pode ser observada na figura 19.

Tabela 15 - Resultados das determinações de mercúrio nas amostras de cabelos coletadas de crianças de cabelos coletadas de crianças em tratamento odontopediátrico.

Código da amostra	Sexo	Idade	1° Coleta		2° Coleta		Frequência do consumo de peixe	Concentração de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	
			14/10/98	24/3/99	24/3/99	14/4/99		antes do tratamento	após do tratamento
A1	F	5	14/10/98	24/3/99			Pescada e Cação (1x/mês)	0,12±0,02	0,38±0,03
A3	F	5	14/10/98	24/3/99			Pescada e Porquinho (1x/semana)	0,21±0,03	0,21±0,02
A4	F	4	23/09/98	14/4/99			Corimba (1x/mês)	0,06±0,01	0,06±0,01
A5	F	4	30/09/98	7/4/99			Sardinha (2x/mês)	0,26±0,03	0,25±0,04
A6	F	8	11/11/98	14/4/99			Pescada (1x/mês)	0,23±0,01	0,27±0,04
A7	F	8	4/11/98	14/4/99			Pescada (1x/mês)	0,12±0,01	0,07±0,02
A9	F	6	11/11/98	14/4/99			Sardinha (2x/mês)	0,34±0,02	0,22±0,02

n = 7

$\bar{x} = 0,19$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,10

$\bar{x} = 0,17$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

sg = 1,81

Mediana = 0,21 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Faixa = 0,06 - 0,34 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

LD = 0,04 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

n = 7

$\bar{x} = 0,21$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,11

$\bar{x} = 0,17$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 2,02

Mediana = 0,22 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Faixa = 0,06 - 0,38 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

LD = 0,04 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

De acordo com a tabela 15 podemos observar que as concentrações de mercúrio antes do tratamento variaram de 0,06 a 0,34 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) e após o tratamento dentário variaram de 0,06 a 0,38 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), portanto não ocorreram variações. Conforme a figura 19, podemos visualizar melhor esses resultados obtidos. Somente a amostra A1 apresenta uma concentração de mercúrio 3 vezes maior após o tratamento, mas esses valores para mercúrio podem ser considerados normais, apesar de não se ter valores definidos para essa faixa etária estudada. No entanto, como já foi citado anteriormente, os valores estabelecidos para mercúrio em adultos estão em torno de 1 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), para a população brasileira.

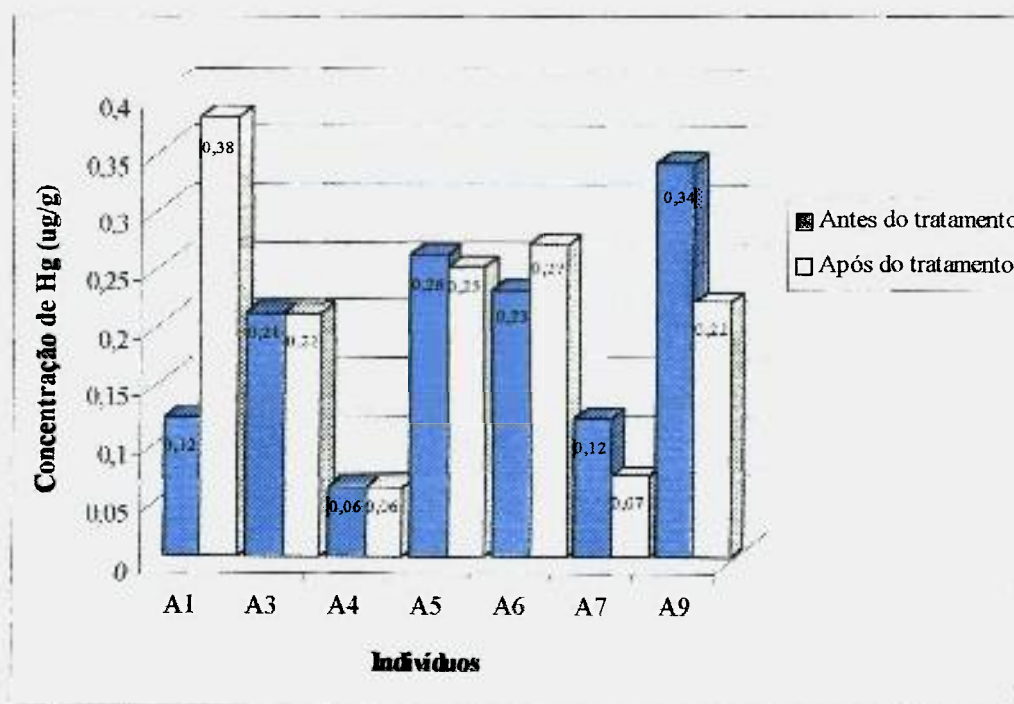


Figura 19 - Concentração de mercúrio nas amostras dos indivíduos estudados antes e após o tratamento odontopediátrico com amálgama dentário.

#### 4.4.4. Resultados das determinações de selênio nos materiais de referência

As tabelas abaixo apresentam os resultados das análises feitas para o teor de selênio nos materiais de referência: “Human Hair” IAEA-085, “Human Hair” IAEA-086, “Dogfish Liver” DOLT-1 e “Dogfish Muscle” DORM-1, respectivamente.

Tabela 16 - Resultados das determinações de selênio no material de referência IAEA - 085 pelo método de análise por ativação com nêutrons - Radioisótopos  $^{77m}\text{Se}$  e  $^{75}\text{Se}$ .

Material de referência	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{77m}\text{Se}$ )	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{75}\text{Se}$ )
	1,09±0,11	0,98±0,07
	1,20±0,10	1,06±0,08
“Human Hair”	1,02±0,10	1,09±0,03
IAEA-085	0,98±0,08	1,04±0,05
	1,00±0,09	1,04±0,05
	1,01±0,09	1,14±0,08

n = 6

$\bar{x} = 1,05 (\mu\text{g g}^{-1})$

s = 0,08

Erro rel. = 1,9%

Des. pad. rel. = 7,6%

LD = 0,2 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

n = 6

$\bar{x} = 1,06 (\mu\text{g g}^{-1})$

s = 0,05

Erro rel. = 0,9%

Des. pad. rel. = 4,7%

LD = 0,1 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

**Valor informativo = 1,07(0,96 - 1,17)  $\mu\text{g g}^{-1}$**

Tabela 17 - Resultados das determinações de selênio no material de referência IAEA - 086 pelo método de análise por ativação com nêutrons - Radioisótopos  $^{77m}\text{Se}$  e  $^{75}\text{Se}$ .

Material de referência	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{77m}\text{Se}$ )	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{75}\text{Se}$ )
	0,96 $\pm$ 0,09	1,08 $\pm$ 0,08
	0,87 $\pm$ 0,10	1,20 $\pm$ 0,03
“Human Hair”	1,24 $\pm$ 0,10	1,17 $\pm$ 0,03
IAEA-086	1,07 $\pm$ 0,11	1,00 $\pm$ 0,05
	1,19 $\pm$ 0,12	1,22 $\pm$ 0,09
	0,88 $\pm$ 0,12	1,26 $\pm$ 0,09

n = 6

$\bar{x} = 1,04$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,16

Erro rel. = 4%

Des. pad. rel. = 15,4%

LD = 0,3 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

n = 6

$\bar{x} = 1,16$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,10

Erro rel. = 16%

Des. pad. rel. = 8,6%

LD = 0,1 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

**Valor informativo = 1,0 (0,80 - 1,2)  $\mu\text{g g}^{-1}$**

Como podemos observar nas tabelas 16 e 17 os resultados obtidos para os materiais de referência IAEA - 085 e 086 analisados quanto ao teor de selênio por meio de irradiações curtas mostraram-se bastante adequados, apresentando erros relativos de 1,9% e 4% respectivamente. Esses resultados foram comparados com os resultados obtidos por meio de irradiações longas (método usual), e verificou-se que a reprodutibilidade do método desenvolvido por meio de irradiações curtas é menor do que o método usual, isso ocorre devido o sistema pneumático que dispomos em nossa estação de irradiação não ser automatizado, portanto, o tempo de decaimento do radionuclídeo acaba sendo maior do que o de um sistema automatizado acarretando uma baixa estatística de contagem,

diminuindo assim a precisão, porém nas condições adotadas para a realização dessas análises os resultados obtidos foram bastante satisfatórios.

No caso da análise por meio das irradiações longas, o desvio padrão relativo foi menor, mas o valor foi mais alto do que o apresentado pela AIEA, embora ainda esteja dentro da faixa aceitável.

Tabela 18 - Resultados das determinações de selênio no material de referência DOLT - 1 pelo método de análise por ativação com nêutrons - Radioisótopos  $^{77m}\text{Se}$  e  $^{75}\text{Se}$ .

Material de referência	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{77m}\text{Se}$ )	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{75}\text{Se}$ )
	8,21±0,74	7,40±0,42
	8,73±0,91	6,66±0,22
“Dogfish Liver”	6,41±0,44	7,62±0,10
DOLT - 1	7,30±0,59	7,03±0,07
	7,31±0,54	7,70±0,10
	8,11±0,65	6,98±0,08

n = 6

$\bar{x} = 7,68$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,83

Des. pad. rel. = 10,8%

Erro rel. = 4,6%

LD = 1,0 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

n = 6

$\bar{x} = 7,23$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,41

Des. pad. rel. = 5,7%

Erro rel. = 1,5%

LD = 0,2 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

**Valor certificado = 7,34 ±0,42  $\mu\text{g g}^{-1}$**

Tabela 19 - Resultados das determinações de selênio no material de referência DORM - 1 pelo método de análise por ativação com nêutrons - Radioisótopos  $^{77m}\text{Se}$  e  $^{75}\text{Se}$ .

Material de referência	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{77m}\text{Se}$ )	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{75}\text{Se}$ )
	1,73 $\pm$ 0,21	1,66 $\pm$ 0,07
	1,54 $\pm$ 0,22	1,73 $\pm$ 0,06
“Dogfish Muscle”	1,46 $\pm$ 0,35	1,61 $\pm$ 0,07
DORM - 1	1,65 $\pm$ 0,45	1,72 $\pm$ 0,09
	1,55 $\pm$ 0,49	1,60 $\pm$ 0,07
	1,55 $\pm$ 0,20	1,64 $\pm$ 0,05

n = 6

$\bar{x} = 1,58$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,10

Erro rel. = 2,5%

Des. pad. rel. = 6,3%

LD = 0,9 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

n = 6

$\bar{x} = 1,66$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,05

Erro rel. = 2,5%

Des. pad. rel. 3,0 = %

LD = 0,3 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

**Valor certificado = 1,62 $\pm$ 0,12  $\mu\text{g g}^{-1}$**

Os resultados obtidos para os materiais de referência DOLT-1 e DORM-1 analisados quanto ao teor de selênio por meio de irradiações curtas mostraram-se bastante adequados, apresentando erros relativos de 4,6% e 2,5% respectivamente. Como já observado para os materiais de referência IAEA - 085 e IAEA - 086, a reprodutibilidade do método desenvolvido por meio de irradiações curtas foi menor que por irradiações longas.

Pode-se observar também que os limites de detecção alcançados, para todos os materiais de referência utilizados, foram menores quando se usou o radioisótopo de meia-vida longa  $^{75}\text{Se}$ .

As figuras abaixo podem confirmar a aplicabilidade do método desenvolvido para a análise de selênio por meio do radioisótopo de meia-vida curta  $^{77m}\text{Se}$ . Os gráficos de  $z$  foram construídos para determinar se o método desenvolvido ( $^{77m}\text{Se}$ ) estava em um estado de controle estatístico e se os valores obtidos para selênio nos materiais de referência certificados (DOLT-1 e DORM-1) estavam no nível de confiança de 99% do valor certificado. Esses gráficos de controle também foram construídos para o método usual afim de se comparar os valores de  $z$  entre eles. Como podemos observar nas figuras abaixo todos os valores de  $z$  obtidos para os materiais de referência certificados estão compreendidos entre os valores -3 e 3 apresentados no gráfico, confirmando assim a aplicabilidade do método.

As figuras de 20 a 23 apresentam os gráficos de controle (escore  $z$ ) para os materiais de referência certificados analisados (DOLT-1 e DORM-1), por meio de irradiações curtas e longas, respectivamente.



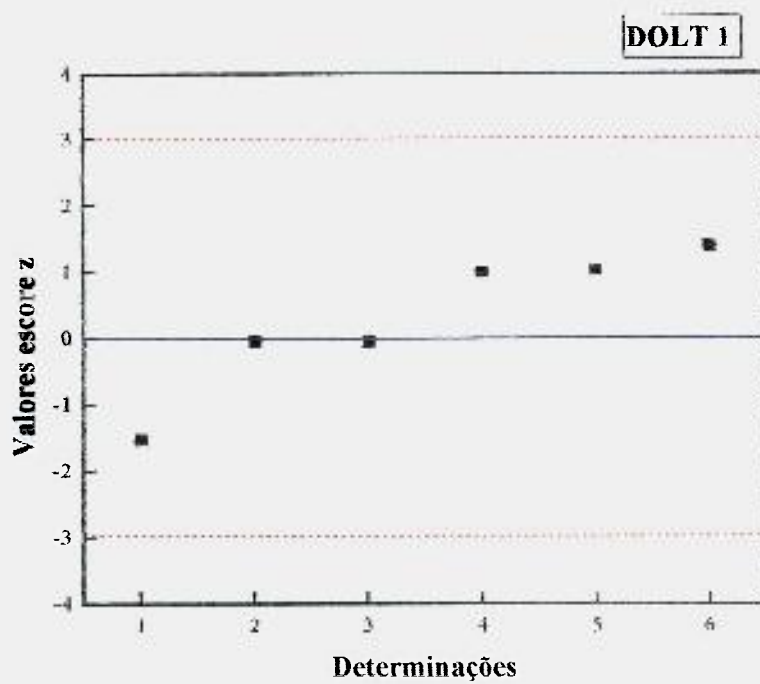


Figura 20 - Escore z para seis determinações de selênio no MRC DOLT 1, pelo  $^{77m}\text{Se}$ .

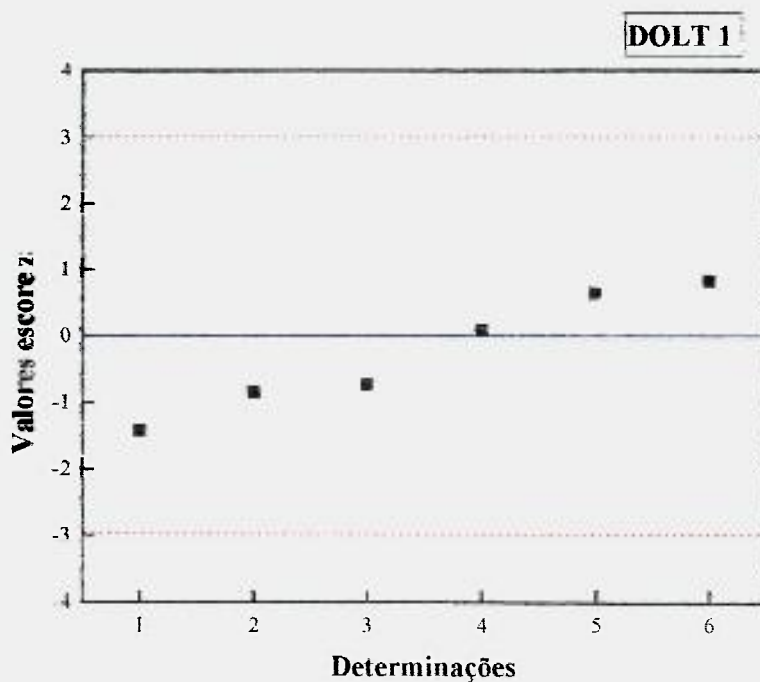


Figura 21 - Escore z para seis determinações de selênio no MRC DOLT 1, pelo  $^{75}\text{Se}$ .

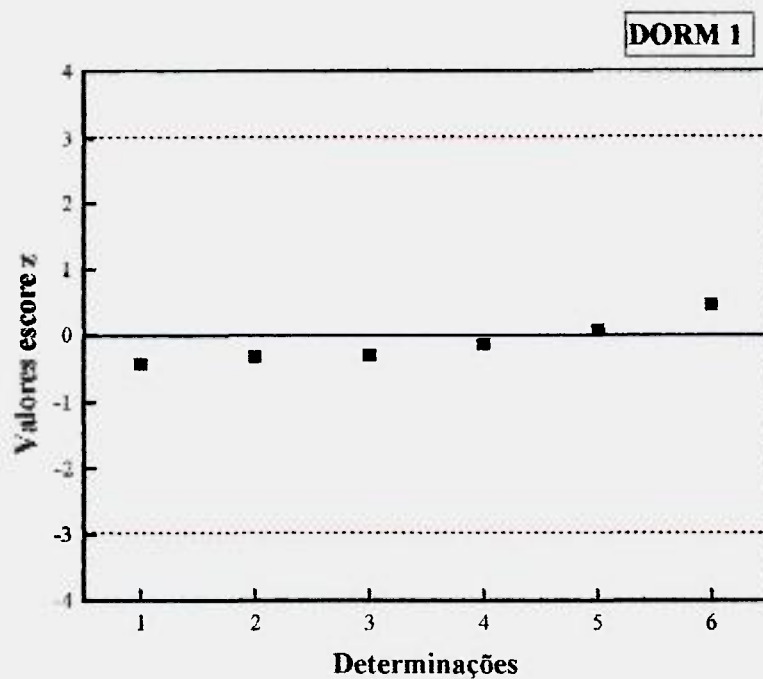


Figura 22 - Escore z para seis determinações de selênio no MRC DORM 1, pelo  $^{77m}\text{Se}$ .

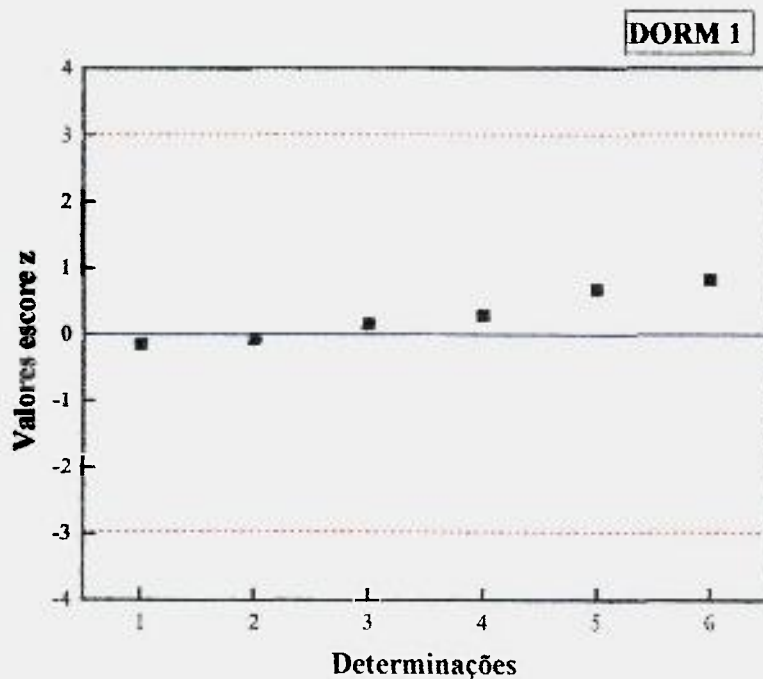


Figura 23 - Escore z para seis determinações de selênio no MRC DORM 1, pelo  $^{75}\text{Se}$ .

Com o auxílio do teste estatístico denominado *teste t* podemos comparar os métodos utilizados na determinação do selênio.

A tabela abaixo mostra os valores da aplicação do critério estatístico para a comparação das concentrações médias para selênio nos materiais de referência analisados, obtidas pelos métodos de irradiação curta ( $^{77m}\text{Se}$ ) e longa ( $^{75}\text{Se}$ ).

Tabela 20 - Valores de F e t calculados para as concentrações médias de selênio obtidas para os materiais de referência, pelos métodos de irradiação curta ( $^{77m}\text{Se}$ ) e longa ( $^{75}\text{Se}$ ).

Material de referência	Conc. média		Variância		F		t	
	( $^{77m}\text{Se}$ )	( $^{75}\text{Se}$ )	( $^{77m}\text{Se}$ )	( $^{75}\text{Se}$ )	$F_{calc}$	$F_{tab}$	$t_{calc}$	$t_{tab}$
IAEA-085	1,05	1,06	0,0068	0,0029	2,34	5,05	0,21	1,81
IAEA-086	1,04	1,16	0,02483	0,00943	2,63	5,05	1,59	1,81
DOLT-1	7,68	7,23	0,6925	0,16586	4,18	5,05	1,18	1,81
DORM-1	1,58	1,66	0,00904	0,003	3,01	5,05	1,78	1,81

De acordo com a tabela acima as concentrações médias obtidas pelos dois métodos empregados para todos os materiais de referência podem ser consideradas estatisticamente iguais a um nível de significância de 0,05, pois os valores de t calculados são menores que os tabelados.

#### 4.4.5. Resultados das determinações de selênio nas amostras de unhas e suplemento vitamínico

Após a certificação do método este foi aplicado para a análise das amostras de unhas e suplemento vitamínico. Os resultados obtidos estão apresentados nas tabelas abaixo.

Tabela 21 - Resultados das determinações de selênio em amostras de unhas, pelo método de análise por ativação com nêutrons - Radioisótopos  $^{77m}\text{Se}$  e  $^{75}\text{Se}$ .

Código da amostra	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{77m}\text{Se}$ )	Concentração de Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $^{75}\text{Se}$ )
U1	0,59±0,05	0,50±0,04
U2	0,487±0,004	0,51±0,04
U3	0,403±0,001	0,45±0,01
U4	0,42±0,05	0,44±0,01
U5	0,45±0,02	0,44±0,01
U6	0,66±0,02	0,61±0,03

n = 6

$\bar{x} = 0,50$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,10

$\bar{x}_g = 0,49$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

sg = 1,22

Mediana = 0,47 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Faixa = 0,403 - 0,66 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

LD = 0,2 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

n = 6

$\bar{x} = 0,49$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

s = 0,06

$\bar{x}_g = 0,49$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

sg = 1,14

Mediana = 0,48 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Faixa = 0,44 - 0,61 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

LD = 0,05 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Comparando os resultados obtidos para o teor de selênio nas amostras de unhas, através do método de AANI utilizando - se o radioisótopo de meia-vida curta com os resultados obtidos através de irradiações longas podemos dizer que o método utilizado é bastante aplicável nessa matriz. Esses resultados foram confirmados aplicando-se o teste t apresentados na tabela 23.

Pode-se observar neste caso também que o limite de detecção é menor quando se usa o  $^{75}\text{Se}$ .

Resultados similares para concentrações de selênio em unhas dos pés para indivíduos brasileiros foram obtidos por AGUIAR, (2001), pelo método de análise por ativação com nêutrons, também usando o radioisótopo de meia-vida longa  $^{75}\text{Se}$ .

Tabela 22 - Resultados das determinações de selênio em suplemento vitamínico, pelo método de análise por ativação com nêutrons - Radioisótopos  $^{77m}\text{Se}$  e  $^{75}\text{Se}$ .

<b>Código da amostra</b>	<b>Massa de Se/comprimido (<math>\mu\text{g}</math>) <math>^{77m}\text{Se}</math></b>	<b>Massa de Se/comprimido (<math>\mu\text{g}</math>) <math>^{75}\text{Se}</math></b>
C1	184,6 $\pm$ 5,2	179,9 $\pm$ 1,1
C2	198,6 $\pm$ 6,4	183,4 $\pm$ 1,1
C3	198,7 $\pm$ 5,8	184,9 $\pm$ 1,1
C4	205,1 $\pm$ 6,4	185,6 $\pm$ 1,1
C5	180,4 $\pm$ 5,4	188,3 $\pm$ 1,1
C6	197,6 $\pm$ 6,5	188,6 $\pm$ 1,3
C7	187,1 $\pm$ 6,4	180,1 $\pm$ 1,3
C8	182,2 $\pm$ 5,5	178,3 $\pm$ 1,2
C9	193,6 $\pm$ 5,8	207,7 $\pm$ 1,4
C10	176,4 $\pm$ 5,5	197,4 $\pm$ 1,4

n = 10

$\bar{x} = 190,4 \mu\text{g}$

s = 9,6

Diferença Percentual = 4,8%

LD = 0,9 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

n = 10

$\bar{x} = 187,4 \mu\text{g}$

s = 9,0

Diferença Percentual = 6,3%

LD = 0,3 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

**Concentração de Se/comprimido declarada pelo fabricante = 200 $\mu\text{g}$**

Os resultados obtidos para selênio em suplemento vitamínico, foram satisfatórios pois se obteve uma diferença percentual de 4,8% e 6,3% para os dois métodos utilizados,

respectivamente. Podemos observar que a reprodutibilidade obtida nos dois casos, em torno de 3% e 0,7%, pode também ser considerada como satisfatória.

Neste caso, o limite de detecção também foi menor quando se usou o  $^{75}\text{Se}$ .

Os valores médios obtidos estiveram um pouco abaixo do valor declarado pelo fabricante (200 $\mu\text{g}$ ).

Tabela 23 - Valores de F e t calculados para as concentrações médias de selênio obtidas para as amostras de unhas, pelos métodos de irradiação curta ( $^{77\text{m}}\text{Se}$ ) e longa ( $^{75}\text{Se}$ ).

Matrizes estudadas	Conc. média		Variância		F		t	
	( $^{77\text{m}}\text{Se}$ )	( $^{75}\text{Se}$ )	( $^{77\text{m}}\text{Se}$ )	( $^{75}\text{Se}$ )	$F_{calc}$	$F_{tab}$	$t_{calc}$	$t_{tab}$
Unhas	0,50	0,49	0,01043	0,0043	2,42	5,05	0,20	1,81
Supl. Vitam.	190,4	187,4	91,34011	81,35289	1,12	3,18	0,72	1,73

De acordo com a tabela acima as concentrações médias de selênio obtidas pelos dois métodos empregados para as análises do teor de selênio nas amostras de unhas e suplemento vitamínico podem ser consideradas estatisticamente iguais a um nível de significância de 0,05, pois os valores de t calculados são menores que os tabelados, confirmando a aplicabilidade do método desenvolvido para esses tipos de matrizes.

## 5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

As três populações estudadas (Serra do Navio, Tartarugalzinho e Vila Nova) apresentaram teores de mercúrio no cabelo mais elevados que o teor de mercúrio encontrado em uma população controle estudada anteriormente, cujos valores médios encontrados foram de  $1 \mu\text{g g}^{-1}$ .

Houve um aumento das concentrações de mercúrio nos cabelos com a frequência do consumo de peixes. Este fato foi constatado também por diversos outros autores que realizaram trabalhos com populações amazônicas.

Para as crianças, em tratamento odontopediátrico, estudadas não observou-se nenhuma perda de amálgama, sendo esse estudo muito importante também como uma contribuição para a obtenção de dados para uma população controle de crianças.

O método de análise por ativação com nêutrons instrumental permitiu determinar as concentrações de mercúrio nas amostras de cabelos com uma boa exatidão e precisão, como pode ser confirmado com os materiais de referência que foram utilizados.

O método desenvolvido para as análises do teor de selênio por meio do radioisótopo de meia-vida curta  $^{77\text{m}}\text{Se}$ , demonstrou-se consideravelmente exato e preciso.

O teste t de Student aplicado às análises e juntamente com os resultados obtidos pelo método usual  $^{75}\text{Se}$  confirmaram a aplicabilidade do método, pois não houve diferença entre as concentrações médias de selênio, obtidas para os materiais de referência bem como para as amostras estudadas, a um nível de significância de 5%.

Com isso o método estabelecido torna-se bastante competitivo em relação a outros métodos analíticos.

**APÊNDICE 1.** Formulário utilizado para a coleta de cabelos para as populações estudadas.

**COLETA DE CABELO**

Nº

NOME:..... FONE:.....

IDADE:..... SEXO:..... RAÇA:.....

ENDEREÇO:..... BAIRRO:.....

ONDE MORAVA ANTES:.....

**HÁBITOS ALIMENTARES:**

COME PEIXE?  SIM  NÃO

PROVENIÊNCIA DO PEIXE CONSUMIDO:

BILLINGS  OUTRO RIO  MAR  GUARAPIRANGA

ESPÉCIES MAIS CONSUMIDAS:.....

FREQUÊNCIA DE CONSUMO DE PEIXE/ SEMANA QUANTIDADE:.....

FREQUÊNCIA DE CONSUMO DE FRUTOS DO MAR/ SEMANA QUANTIDADE:.....

SOFRE DE ALGUMA DOENÇA?.....

TOMA ALGUM MEDICAMENTO?..... QUAL?..... FREQUÊNCIA:.....

NOS ÚLTIMOS 06 MESES FICOU DOENTE?.....

TOMOU ALGUM MEDICAMENTO?..... QUAL?..... FREQUÊNCIA:.....

**NO TRATAMENTO DE CABELO VOCÊ USA:**

SÓ SABONETE  XAMPU  CREME RINSE

OUTROS:.....

OBS:.....

**QUAL A ÁGUA QUE VOCÊ USA PARA:**

TOMAR BANHO  LAVAR ROUPA  LAVAR LOUÇA  BEBER

IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS  LAZER  OUTROS.....

1- ÁGUA DIRETAMENTE DA BILLINGS

2- ÁGUA DE POÇO OU MINA

3- ÁGUA DA SABESP

DATA DA COLETA:...../...../.....

RESPONSÁVEL PELA COLETA:.....



**APÊNDICE 1.1.** Formulário utilizado para a coleta de cabelos para as crianças em tratamento odontopediátrico.

**COLETA DE CABELO**

Nº

NOME:..... FONE:.....

IDADE:..... SEXO:..... RAÇA:.....

ENDEREÇO:..... BAIRRO:.....

ONDE MORAVA ANTES:.....

TIPO DE DENTIÇÃO:  DECÍDUA  MISTA  PERMANENTE

EXISTE DENTES RESTAURADOS COM AMÁLGAMA?  SIM  NÃO

QUANTOS?..... QUAIS?.....

**HÁBITOS ALIMENTARES:**

COME PEIXE?  SIM  NÃO

PROVENIÊNCIA DO PEIXE CONSUMIDO:

BILLINGS  OUTRO RIO  MAR  GUARAPIRANGA

ESPÉCIES MAIS CONSUMIDAS:.....

FREQUÊNCIA DE CONSUMO DE PEIXE/ SEMANA QUANTIDADE:.....

FREQUÊNCIA DE CONSUMO DE FRUTOS DO MAR/ SEMANA QUANTIDADE:.....

SOFRE DE ALGUMA DOENÇA?.....

TOMA ALGUM MEDICAMENTO?..... QUAL?..... FREQUÊNCIA:.....

NOS ÚLTIMOS 06 MESES FICOU DOENTE?.....

TOMOU ALGUM MEDICAMENTO?..... QUAL?..... FREQUÊNCIA:.....

**NO TRATAMENTO DE CABELO VOCÊ USA:**

SÓ SABONETE  XAMPU  CREME RINSE

OUTROS:.....

OBS:.....

**QUAL A ÁGUA QUE VOCÊ USA PARA:**

TOMAR BANHO  LAVAR ROUPA  LAVAR LOUÇA  BEBER

IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS  LAZER  OUTROS.....

4- ÁGUA DIRETAMENTE DA BILLINGS

5- ÁGUA DE POÇO OU MINA

6- ÁGUA DA SABESP

DATA DA 1º COLETA:...../...../..... DATA DA 2º COLETA:...../...../.....

RESPONSÁVEL PELA COLETA:.....



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUIAR, A. R. *Aplicação do método de análise por ativação com nêutrons à determinação de elementos traço em unhas humanas*. São Paulo, 2001. Tese (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
2. AKAGI, H. Analytical methods for evaluating human exposure to mercury due to gold mining. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON 'HEALTH AND ENVIRONMENTAL EFFECTS OF MERCURY DUE TO MINING OPERATIONS, November 26-27, 1997, Manila, Philippines. *Proceedings...* Philippines: 1997. p.131-141.
3. BANK, H. L.; ROBSON, J.; BIGELOW, J. B.; MORRISON, J.; SPELL, L.H.; KANTOR, R. Preparation of fingernails for trace elements analysis. *Clin. Chim. Acta*, v. 116, p.179-190, 1981.
4. BASKETT, C. K.; SPATE, V. L.; MORRIS, J. S.; ANDERSON, H. D.; MANSON, M. M.; REAMS, C. L.; CHENG, T. P.; ZINN, K. R.; HILL, G. M.; DOWDY, R. P. Investigation of the appearance of supplemental enriched Se-76 using the human nail as a dietary monitor. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.195, n.1, p.95-108, 1995.
5. BODE, P. *Instrumental and Organizational Aspects of a Neutron Activation Analysis Laboratory*. The Netherlands, 1996. Ph. D. Thesis - Delft University of Technology.
6. BODE, P.; VAN DIJK, C. P. Operational management of results in INAA utilizing a versatile system of control charts. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, v.215, n.1, p.87-94, 1997.

7. BOISCHIO, A. A. P.; HENSHEL, D. S. Risk assessment of mercury exposure through fish consumption by the riverside people in the Madeira Basin, Amazon. *Neuro Toxicology*, v.17, n.1, p.169-176,1996.
8. BJORKMAN, L.; MOTTET, K.; NYLANDER, M.; VAHTER, M.; LIND, B.; FRIBERG, L. Selenium concentrations in brain after exposure to methylmercury – relations between the inorganic mercury fraction and selenium. *Archives of Toxicology*, v.69, n.4, p.228-234, 1995.
9. CÂMARA V. M.; SILVA, A. P.; GALVÃO, L. A.C. Contaminação Ambiental por Mercúrio Metálico na Região Amazônica - Subsídios para um Programa de Vigilâncias das Populações Expostas. In: Centro Pan-Americano de Engenharia Sanitária e Ciências do Ambiente - CEPIS, Organização Pan-America de Saúde - OPS e Organização Mundial da Saúde - OMS: atualizado em set 1998. Disponível em: <<http://www.cepis.ops.oms.org/muwww/fulltext/gtz/cam/camcap04.html>>. Acesso em: 28 ago. 2001.
10. CHAI, C.; FENG, W.; QIAN, Q.; GUAN, M.; LI, X.; LU, Y.; ZANG, X. Total and methylmercury levels in human scalp hairs of typical populations in China by NAA, GC(EC), and other techniques. *Biol. Trace Elem. Res.*, v.43-45, p.423-433, 1994.
11. CIPRIANO, R.; DUARTE, D. A.; VASCONCELLOS, M. B. A.; CATHARINO, M. G. M.; PINTO, A. C. G. Análise de mercúrio no cabelo, em crianças tratadas com restauração de amálgama. *Revista Odontológica da Universidade de Santo Amaro, Unisa.*, v.5 n.2, jul-dez, p.65-70, 2000.
12. COMBS Jr., G. F.; GRAY, W. P. Chemopreventive agents-Selenium. *Pharmacol. Ther.*, v.79, n.3, p.179-192, 1998.
13. CURRIE, L. A. Limits for Qualitative Detection and Quantitative Determination- Application to Radiochemistry. *Anal. Chem.*, v.40, n.3, p.586-593, 1968.

14. DE SOETE, D.; GIJELS, R.; HOSTE, J. *Neutron activation analysis*. Wiley-Interscience, London, 1972.
15. DRASCH, G.; WANGHOFER, E.; ROIDER, G.; STROBACH, S. Correlation of Hg and Se in human kidney. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, v.10, n.4, p.251-254, 1996.
16. FALNOGA, I.; TUŠEK-ŽNIDARIČ, M.; HORVAT, M.; STEGNAR, P. Mercury and selenium interactions in autopsy samples from Idrija residents. *RMZ - Materials and Geoenvironment*, v.48, n.1, p.138-143, 2001.
17. FOSTIER, A. H.; FORTI, M. C.; GUIMARÃES, J. R. D.; MELFI, A. J.; BOULET, R.; ESPIRITO SANTO, C. M.; KRUG, F. J. Mercury fluxes in a natural forested Amazonian catchment (Serra do Navio, Amapá, State, Brazil). *The Science of the Total Environment*, v.260, p.201-211, 2000.
18. IAEA - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory*. Vienna: 1990, (IAEA-TECDOC-564).
19. IAEA - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Reference Methods for Marine Pollution Studies*. Vienna: 1987, IAEA, (IAEA-MEL-46).
20. KATZ, S. A.; CHATT, A. *Hair Analysis - Application in the Biomedical and Environmental Sciences*, VCR Publishers Inc., Halifax, 1998.
21. KEITH, L. H.; CRUMMETT, W.; JR. DEEGAN, J.; LIBBY, R. A.; TAYLOR, J. K.; WENTLER, G. Principles of environmental analysis. *Anal. Chem.*, v.55, p.2210-2218, 1983.
22. KELLER, C. *Radiochemistry*. Chichester: Ellis Horwood Limited, 1988.
23. LACERDA, L. D.; MARINS, V. R. Anthropogenic mercury emissions to the atmosphere in Brazil: The impact of gold mining. *J. Geochemical Exploration*, v.58, p.223-229, 1997.

24. LACERDA, L. D. Evolution of mercury contamination in Brazil. *Water air and soil pollution*, v.97, n.3-4, p.247-255, 1997.
25. LEBEL, J.; MERGLER, D.; BRANCHES, F.; LUCOTTE, M.; AMORIM, M.; LARRIBLE, F.; DOLBEC, J. Neurotoxic effects of low-level methylmercury contamination in the Amazonian Basin. *Environmental Research*, section A79, p.20-32, 1998.
26. LEINO, T.; LODENIUS, M. Human hair mercury levels in Tucuruí area, State of Pará, Brazil. *The Science of the Total Environment*, v.175, p.119-125, 1995.
27. LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection - A closer look at the IUPAC definition. *Anal. Chem.*, v.55, n.7, p.712A-24A, 1983.
28. MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. *Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia*. São Paulo: Roca, 1998. p.154-157.
29. MAIHARA, V. A. *Avaliação do conteúdo de alguns elementos essenciais e tóxicos em dietas de crianças e idosos, pelo método de análise por ativação com nêutrons*. São Paulo, 1996. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
30. MALM, O.; BRANCHES, F. J. P.; AKAGI, H.; CASTRO, M. B.; PFEIFFER, W. C.; HARADA, M.; BASTOS, W. R.; KATO, H. Mercury and methylmercury in fish and human hair from the Tapajós river basin, Brazil. *The Science of the Total Environment*, v.175, p.141-150, 1995.
31. MICARONI, R. C. C. M.; BUENO, M. I. M. S.; JARDIM, W. F.. Compostos de mercúrio-Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. *Química Nova*, v.23, n.4, p.487-495, 2000.

32. MORRIS, J. S.; ROHAN, T.; SOSKOLME, C. L.; JAIN, M.; HORSMAN, T. L.; SPATE, V. L.; BASKETT, C. K.; MASON, M. M.; NICHOLS, T. A. Selenium status and cancer mortality in subjects residing in four canadian provinces. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, v.249, n.2, p.421-427, 2001.
33. NAS - NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (Food and Nutrition Board). *Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids*. Washington: National Academy Press, 2001. p. 284-324.
34. NOGUCHI, K.; SHIMIZU, M.; MORIKAWI, K. Activation analysis of mercury in head hair of dentists. *Radioisotopes*, v.29, p.221-225, 1980.
35. OHTA, Y.; NAKANO, A.; MATSUMOTO, M.; HOSHI, M. Comparison of selenium content in human hair from different individuals in different countries, by  $^{76}\text{Se}$  (n, $\gamma$ )  $^{77\text{m}}\text{Se}$  reaction. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.114, n.1, p.75-82, 1987.
36. OKIGAMI, H.. Selênio. In: Henry's Corner - Artigos Pessoais: no ar desde 2000. Disponível em:  
<[http://www.science.com.br/henrys\\_corner/artigos\\_pessoais/selenio.pdf](http://www.science.com.br/henrys_corner/artigos_pessoais/selenio.pdf)>  
Acesso em: 28 ago. 2001.
37. OLIVERO, J.; MENDONÇA, C.; MESTRE JUDITH; DROSSOS, J. Hair levels of mercury in people from a gold mining zone in Colombia. In: Vth COMTOX SYMPOSIUM ON TOXICOLOGY AND CLINICAL CHEMISTRY OF METALS, 298., 10-13 july, 1995, Vancouver. *Abstract...* Canada.
38. PALETTI, G. *Determinação de mercúrio e metilmercúrio em cabelos de populações residentes no Parque Indígena do Xingu*. São Paulo, 1999. Tese (Mestrado) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
39. PARKER, S. *Aventura na Ciência: corpo humano*. Rio de Janeiro: Globo, 1994, p.51.

40. PFEIFFER, W. C. Historical review and perspective of studies on mercury pollution in Amazon, Brazil. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON ENVIRONMENTAL MERCURY POLLUTION AND ITS HEALTH EFFECTS IN THE AMAZON RIVER BASIN, November 30 - December 2, 1994. Rio de Janeiro, Brazil. *Proceedings...* Rio de Janeiro: 1994. p.1-2.
41. PICCOT, D. Comunicação pessoal.
42. ROVER Jr., L.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, v. 24, n.1, p.112-119, 2001.
43. SANT'ANNA Jr., N.; COSTA, M.; AKAGI, H. Níveis de Mercúrio Total e Metilmercúrio no Cabelo de uma População Costeira e Peixes do Nordeste do Brasil. In: *Ecotoxicologia - Perspectiva para o século XXI*. São Carlos: Rima Editora, 2000. p.229-239.
44. SPIEGEL, M. R. *Estatística*. São Paulo: Makron Books, 1993. p.614-615.
45. SUZUKI, K. T.; SASAKURA, C.; YONEDA, S. Binding sites for the (Hg-Se) complex on selenoprotein P. *Biochimica et Biophysica Acta.*, v.1429, p.102-112, 1998.
46. TADJIKI, S.; ERTEN, H. N.; ERTEN, J. Instrumental neutron activation analysis of blood serum. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, v.199, n.4, p.309-316, 1995.
47. TAKEUCHI, T.; ETO, K. *The pathology of Minamata Disease - A tragic history of water pollution*. Fukuoka: Kyushu University Press, 1999.
48. TRIOLA, M. F. *Introdução à estatística*. Rio de Janeiro: LTC Editora, 1999. p.187-189.



49. UNILIVRE - UNIVERSIDADE LIVRE DO MEIO AMBIENTE. Redução da Contaminação Mercurial em Áreas Garimpeiras: banco de dados: no ar desde 1999. Disponível em:  
<<http://www.unilivre.org.br/centro/experiencias/experiencias/189.html>>.  
Acesso em: 28 ago. 2001.
50. VASCONCELLOS, M. B. A.; BODE, P.; PALETTI, G.; CATHARINO, M. G. M.; AMMERLAAN, A. K.; SAIKI, M.; FÁVARO, D. I. T.; BYRNE, A. R.; BARUZZI, R.; RODRIGUES, D. A. Determination of mercury and selenium in hair samples of Brazilian Indian populations living in the amazonic region by NAA. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, v.244, n.1, p.81-85, 2000.
51. VASCONCELLOS, M. B. A.; SAIKI, M.; PALETTI, G.; CATHARINO, M. G. M. Validation of the instrumental neutron activation analysis method for mercury analysis in hair samples used for biomonitoring of mercury environmental contamination. In: SYMPOSIUM ON HARMONIZATION OF HEALTH - RELATED ENVIRONMENTAL MEASUREMENTS USING NUCLEAR AND ISOTOPIC TECHNIQUES, November 4-7, 1996, Hyderabad, India. *Proceedings...* Vienna: IAEA, 1997. p. 371-376.
52. VASCONCELLOS, M. B. A.; PALETTI, G.; CATHARINO, M. G. M.; SAIKI, M.; FÁVARO, D. I. T.; BARUZZI, R. G.; RODRIGUES, D. A.; BYRNE, A. R.; FORTI, M. C. Studies on mercury exposure of some Brazilian populational groups living in the amazonic region by means of hair analysis. In: NIMD FORUM'99 NATIONAL INSTITUTE FOR MINAMATA DISEASE, October 12-13, 1999, Minamata City, Japan. *Proceedings...* Minamata: 1999. p.10-17.
53. VASCONCELLOS, M. B. A.; PALETTI, G.; SAIKI, M.; CATHARINO, M. G. M.; BARUZZI, R.; RODRIGUES, D. A.; BYRNE, A. R. Speciation of mercury in head hair of some Brazilian Indian populational groups. In: 5th INTERNATIONAL SYMPOSIUM METAL IONS IN BIOLOGY AND MEDICINE, May 8-10, 1998, Munich, Germany. *Proceedings...* Paris: John Libbey Eurotext, 1998. v.5, p.743-748.

54. VASCONCELLOS, M. B. A.; SAIKI, M.; PALETTI, G.; PINHEIRO, R. M. M.; BARUZZI, R.; SPINDEL, R. Determination of mercury in head hair of brazilian populational groups by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.179, n.2, p. 369-376, 1994.
55. VEIGA, M. M.; MEECH, J. A.; OÑATE, N. Mercury pollution from deforestation. *Nature*, v.368, p.816-817, 1994.
56. VILLAS BÔAS, R. C. The mercury problem in the Amazon due to gold extraction. *J. Geochemical Exploration*, v.58, p.217-222, 1997.
57. VIEIRA, S. *Introdução à bioestatística*. Rio de Janeiro: Campus, 1997. p.125-131.
58. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Environmental Health Criteria, Mercury*, Geneva, 1976.
59. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Environmental Health Criteria 101, Methylmercury*, Geneva, 1990.
60. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Environmental Health Criteria 118, Inorganic mercury*, Geneva, 1991.
61. ZHANG, W.; CHATT, A. A quality assurance programme for the determination of selenium in foods by instrumental activation analysis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM HARMONIZATION OF HEALTH - RELATED ENVIRONMENTAL MEASUREMENTS USING NUCLEAR AND ISOTOPIC TECHNIQUES, November 4-7, 1996, Hyderabad, India. *Proceedings...* Vienna: IAEA, 1997, p. 421-433.
62. ZIFF, S. *Amálgama - A Tóxica Bomba Relógio*. São Paulo: Veja Lux, 1987.