

ANÁLISE DE CABELO: UMA REVISÃO DOS PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO E APLICAÇÕES

Dirce Pozebon, Valderi L. Dressler e Adilson J. Curtius

Depto. de Química - Universidade Federal de Santa Catarina - 88040-900 - Florianópolis - SC

Recebido em 17/9/98; aceito em 18/2/99

HAIR ANALYSIS: A REVIEW ON THE PROCEDURES FOR THE DETERMINATION OF TRACE ELEMENTS AND APPLICATIONS. Aspects related to the quality of human hair analysis are presented, such as sample collection, sample preparation, determination of trace elements and application examples. Also the hair morphology, the importance of this analysis and its uses and meanings are discussed.

Keywords: human hair analysis; quality control; trace elements.

HISTÓRICO

Os resultados da primeira análise de cabelo foram publicados por Hoppe em 1858, que determinou As no cabelo de cadáveres exumados 11 anos após o sepultamento. Aproximadamente 100 anos após, em 1954, Goldblum determinou anfetamina em pêlos de cobaia. Mas, com relação à determinação de drogas no cabelo, a publicação que realmente mudou a situação foi a de Baumgartner que, em 1979, determinou a concentração de opiáceos no cabelo humano, através de extração com metanol e detecção por RIA (Radioimunoensaio)¹.

Em 1945, Flesch já havia proposto que o cabelo poderia ser usado como material de biópsia para a determinação de elementos traço presentes no corpo humano, já que o cabelo funciona como um órgão excretor (o menor deles)². Mas durante as décadas seguintes as análises de sangue e urina³ tiveram a preferência, sendo que na década de 1930 iniciou-se a era da medicina industrial³, ou seja, o diagnóstico de doenças através de exames laboratoriais. Nos anos 60, a utilidade da análise de cabelo foi redescoberta por pesquisadores da área de nutrição, e na década seguinte foram realizados vários simpósios a respeito do assunto e livros foram publicados³.

Merece citação a investigação sobre a morte de Napoleão Bonaparte na qual, através da análise do seu cabelo por NAA (Análise por Ativação Neutrônica), foram verificadas sucessivas exposições ao As. Foi observada a presença de As no cabelo de Napoleão Bonaparte quando foram analisados diferentes segmentos do mesmo fio de cabelo. Foi concluído que o As ligou-se irreversivelmente com as proteínas do cabelo, cujo crescimento diário do folículo foi 0,35 mm, fazendo com que a distribuição do elemento ocorresse de forma segmentada. Assim, as diferentes exposições de Napoleão Bonaparte ao As puderam ser registradas através do cabelo. A partir desta idéia, o cabelo foi também utilizado para comprovar a contaminação com Hg na população de um vilarejo do Iraque, onde o trigo utilizado para o pão era tratado com fungicida à base de compostos mercuriais².

Com o desenvolvimento e amadurecimento de novas técnicas analíticas na década de 1980, principalmente a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS), a espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) surgiram novas perspectivas relacionadas à análise de cabelo^{3,4}. Nos últimos anos, houve grande desenvolvimento nesta área, porque a detecção de elementos traço pode ser feita com certa facilidade, o que levou a certos exageros e supervalorização da análise de cabelo. Em muitos casos, alguns profissionais da área nutricional, sem experiência

clínica, passaram a fazer diagnósticos baseando-se na concentração dos elementos encontrados no cabelo das pessoas e iniciaram a terapia. Redes de laboratórios comerciais foram criadas em diversos países e a análise de cabelo passou a ser feita em grande escala, de maneira semelhante com o que é feito com amostras de minerais e grãos. Atualmente, nos laboratórios os valores obtidos na análise são comparados aos valores estocados no computador (por exemplo, valores médios para determinado elemento e faixa de concentração considerada normal no cabelo, em relação à idade) e a terapia é recomendada³. Desde 1854 e até o presente, a análise de cabelo foi algumas vezes glorificada, algumas vezes condenada, algumas vezes aceita e algumas vezes não aceita¹.

Atualmente existem muitos dados disponíveis na literatura, mas existe muita controvérsia quanto à aceitação destes dados. Isto se deve à discrepância dos resultados, devido à dificuldade de se diferenciar entre contaminação exógena e endógena, diferentes procedimentos de coleta e preparo da amostra. Além disso, outros fatores contribuem, quais sejam: sexo, raça, hábitos alimentares, localização geográfica do indivíduo e características morfológicas do cabelo. O problema da análise do cabelo humano não é a análise em si, já que esta pode ser executada sem muita dificuldade; o problema está relacionado com as características do cabelo humano, falta de procedimentos de análise padronizados e controle de qualidade da análise^{2,5-10}.

FINALIDADES

Segundo alguns autores, o cabelo é um "dosímetro biológico", "filamento de registro" ou "espelho do ambiente" onde o indivíduo foi exposto². Isto porque se houver considerável exposição a determinado elemento químico e droga, por contaminação externa ou através da ingestão, após um certo período a substância estará presente no cabelo¹¹⁻¹⁴. A determinação de elementos traço no cabelo não é apenas um meio de se avaliar a exposição atual, mas também tem potencial para avaliar e reconstruir episódios passados relevantes à saúde, mesmo que a ação já tenha cessado¹¹.

A análise de cabelo é bastante utilizada em criminalística (na Europa, para identificar criminosos, através da análise do DNA e morfologia), toxicologia, meio ambiente medicina do trabalho (para avaliar a exposição a metais pesados) e nutrição. A concentração de elementos traço no cabelo é utilizada na comunidade paramédica para avaliar distúrbios de aprendizagem, emocionais e nutricionais; na comunidade médica para avaliar doenças e distúrbios metabólicos, onde é muito controversa a validade no diagnóstico clínico, sendo mais aceita quando utilizada para confirmar alguma hipótese^{2,8,9,11,15-18}.

Em muitos casos, a análise de cabelo é o único recurso para comprovar o uso de drogas no caso de pessoas já falecidas, com o objetivo de se descobrir a causa da morte. Pode ser utilizada para avaliar o consumo de drogas em centros de reabilitação, reaver carteira de motorista apreendida (Alemanha) e é solicitada a candidatos a empregos importantes (USA)¹¹.

Até o momento, a análise de cabelo não é popularmente aceita, mas grandes avanços acontecem todos os anos^{5,6,8,9,16,18-23}. Com relação ao controle de qualidade da análise, materiais são certificados, procedimentos padrão de coleta e preparo da amostra são adotados, e estudos são feitos também no sentido de diferenciar as contaminações endógena e exógena. Na área médica, a controvérsia é ainda grande (entre a medicina tradicional e a ortomolecular), com novas propostas surgindo no sentido de se avaliar a metabolização de drogas utilizadas como medicamentos, através da análise de cabelo. Neste sentido, Willians et al.²⁴ realizaram estudos com carbamazepínicos utilizados para tratamento da epilepsia, objetivando demonstrar que se a mesma dose do fármaco for administrada durante um certo tempo, a sua incorporação no cabelo deve ser relativamente constante, desde que não haja outros fatores que afetem a farmacocinética da mesma. E se a absorção for regular no cabelo, também o será no plasma do sangue. Segundo os autores, a análise de cabelo pode ser utilizada na medicina terapêutica, onde medicamentos são às vezes receitados pelo método de tentativas. Principalmente porque informações retrospectivas do comportamento da droga podem ser obtidas através da análise de cabelo.

No Brasil, atualmente, a análise de cabelo é solicitada principalmente por médicos da área da medicina ortomolecular, para avaliar o estado nutricional (elementos essenciais presentes em baixa ou alta concentração) e possíveis contaminações por metais pesados. Citam-se como exemplo os elementos Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, Sn, V e Zn que são essenciais ao organismo, mas se estiverem presentes em excesso podem provocar várias doenças ou até mesmo a morte^{2,25}. O contrário também pode ocorrer se não estiverem presentes em quantidades suficientes para o organismo. Elementos tais como Tl, As, Sb, Bi e Hg não são essenciais²⁶, sendo sempre indesejáveis em qualquer concentração.

A análise de elementos traço no cabelo é utilizada pelo fato de que a concentração dos elementos no cabelo indica a concentração dos mesmos no organismo. A partir disto, dietas são recomendadas, substâncias contendo os elementos que estão abaixo da concentração limite no organismo são prescritas, ou a eliminação dos metais pesados do organismo é feita por quelação²⁵. Quantidades muito baixas destes elementos estarão sempre presentes no organismo em decorrência da alimentação e poluição ambiental. Pode-se afirmar que quase todos os elementos estáveis da tabela periódica estão presentes no cabelo^{2,6}, a menos que o metabolismo celular exclua alguns deles. Um número grande de elementos (mais de 50), representando todos os grupos de elementos da tabela periódica, já pode ser detectado no cabelo e a concentração medida por técnicas analíticas atualmente disponíveis.

O teor de cinzas do cabelo é menor que 1%, indicando uma baixa quantidade minerais. Os constituintes maiores são proteínas (80 %), água (15 %) e lipídios²⁻²⁷. Elementos presentes no cabelo, tais como, Ca, O, Mg, Na, K e Cl são considerados macrominerais; enquanto que, por exemplo, Fe, Zn, Cu, Mn, I, Cr, Se e Mo são considerados elementos traço²⁵.

MORFOLOGIA DO CABELO HUMANO E ABSORÇÃO DE ELEMENTOS

O cabelo, além de ser um adorno, tem a função de proteger a cabeça dos raios solares, o que é feito através da melanina presente nele, a qual é também responsável pela sua coloração. O cabelo possui receptores nervosos que funcionam como sensores, os quais o levam a aumentar a proteção da cabeça quando necessário²⁷.

O cabelo humano é um filamento queratinizado que cresce a partir de cavidades em forma de sacos chamados folículos (Fig. 1). Estes folículos estendem-se desde a derme até a epiderme através do extrato córneo. Cada folículo é um órgão em miniatura que contém componentes glandulares e musculares. O diâmetro de um fio de cabelo humano varia de 15 a 120 μm , dependendo da raça^{2,3,27}. O cabelo é basicamente composto por três camadas: cutícula (camada externa composta por várias subcamadas separadas por um complexo de células - endocutícula, epicutícula e exocutícula); córtex (principal componente do cabelo, formado por um conjunto de células cilíndricas denominado de matriz, local onde fica situada a queratina e outras proteínas) e medula (camada mais interna do folículo) que em alguns tipos de cabelo pode não estar presente)^{2,3,7}. Em intoxicações severas por metais pesados, tais como Tl e Pb, a cutícula pode mostrar-se danificada³.

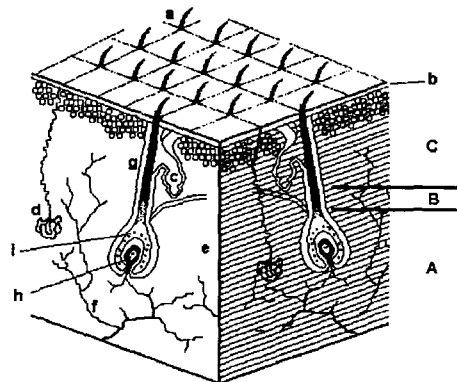


Figura 1. Esquema de um corte do couro cabeludo: a) extrato córneo; b) epiderme; c) glândula sebácea; d) glândula ecrina; e) derme; f) vasos sanguíneos; g) folículo; h) papila; i) grânulos de melanina; A) zona de diferenciação e síntese biológica; B) zona de queratinização e C) Região do cabelo permanente. Baseada na ref. 27.

Uma proteína de forma espiralada (a α -queratina) é que dá sustentação ao cabelo, a qual fica imersa na matriz que é composta por células proteicas ricas em tirosina e S. Cortes histológicos demonstraram alta atividade de metais pesados neste local. Através de análise por difração de Raios-X pode ser observado que 30% da estrutura do cabelo é cristalina, enquanto que 70% é amorfa (peptídeos de conformação não definida).

A estrutura morfológica do cabelo e sua composição química evidenciam que é pouco provável que haja uma distribuição uniforme de elementos traço no mesmo, havendo regiões onde a incorporação é maior³. A absorção dos elementos dá-se a partir da raiz (na região da papila - Fig. 1), cuja quantidade incorporada depende da concentração instantânea dos fluidos biológicos circundantes (sangue, linfa e fluido extra-celular). Um período de aproximadamente 30 dias decorre entre a absorção e o equilíbrio no cabelo. As formas de como ocorre a incorporação de elementos traço não são ainda bem elucidadas. O modelo mais simples assume que a incorporação endógena ocorre de maneira passiva, ou seja, por gradientes de concentração.

Cada folículo possui seu próprio ciclo de desenvolvimento, que compreende três fases^{3,27,28}:

1. Anágena. É a fase do desenvolvimento e do crescimento do cabelo, sendo que a papila (situada na porção inicial da raiz do cabelo) do folículo está em íntimo contato com os vasos sanguíneos, onde substâncias presentes nos fluidos circulantes são absorvidas pelo cabelo. Elementos traço que circulam pelos fluidos do corpo podem incorporar-se ao cabelo continuamente durante seu crescimento, e assim então a variação da concentração de determinado elemento durante os diferentes períodos pode ser medida. A maioria

dos elementos químicos liga-se irreversivelmente aos grupos SH dos aminoácidos enxofrados (absorção endógena). Nos indivíduos sem problemas de alopecia, ou distúrbios advindos de doenças do couro cabeludo ou contaminação com metais pesados^{3,7,26}, 85% dos cabelos estão nesta fase de desenvolvimento.

2. Catágena. Esta fase transitória dura apenas algumas semanas, onde o cabelo pára de crescer e não há mais irrigação sanguínea (o cabelo morre). No indivíduo são e sem alopecia, 1% dos cabelos estão nesta fase. A morte do cabelo também ocorre quando a contaminação com metais pesados, tais como Tl, Cd e Hg é alta³.
3. Telógena. Nesta fase o cabelo cai, sendo empurrado por um novo folículo que nasce no mesmo local.

A contaminação exógena do cabelo pode ocorrer através do arraste de substâncias externas (poeira, fumaça, cosméticos, suor e sebo provindos das glândulas sebáceas e ecrinas que lançam seus produtos sobre a epiderme) pela água, uma vez que o cabelo é hidrófilo. Os elementos traço presentes na água irão fixar-se à queratina do cabelo, ou em alguns casos específicos, à membrana das células^{2,3,8,9,28}. Partículas de poeira contendo quantidades significativas de elementos traço podem também ficar retidas entre as várias camadas da cutícula através de interações eletrostáticas^{3,7}, principalmente quando esta estiver danificada. A estrutura da camada eletrônica externa de cada elemento determina o tipo de ligação (diferentes concentrações em diferentes camadas do cabelo, mais ou menos fortemente ligados). Estas diferentes formas de ligação podem levar a diferentes perdas no processo de lavagem nos diversos meios, o que leva a diferentes resultados para uma mesma amostra²³. Provavelmente, este seja o principal motivo do descrédito com relação à determinação da concentração de minerais presentes no cabelo, a ponto de serem encontradas citações no sentido de que seria mais racional analisar os diferentes reagentes e solventes utilizados para a lavagem do cabelo do que o próprio cabelo¹⁷. A incerteza a respeito dos mecanismos de incorporação de elementos traço no cabelo e, às vezes, a falta de correlação entre a concentração deles nos órgãos internos e cabelo também são motivos de descrédito¹⁶.

A presença de determinado elemento no cabelo indica que houve absorção e exposição do indivíduo a este elemento, mas é difícil diferenciar entre exposição exógena e endógena, uma

vez que a queratina pode combinar-se com elementos de fontes exógenas e endógenas^{2,3}.

Níveis de Concentração de Macrominerais e Elementos Traço

Não é possível falar-se em valores normais para estes elementos, mas em faixas de concentração consideradas normais, pois conforme já citado, são muitos os fatores que contribuem para que ocorram diferentes concentrações no cabelo de determinada população (idade, hábitos alimentares, localização geográfica, sexo, ocupação, etc.). Conforme pode ser observado na Tabela 1, as faixas de concentração são amplas para alguns elementos, sendo estas apresentadas a partir de dados citados na literatura. O excesso de elementos tóxicos que acompanha o envenenamento por metais pesados ou a deficiência de micronutrientes associada a dietas pobres podem levar a um desvio dos valores considerados normais, para uma determinada população. Na Tabela 2 são mostradas as consequências advindas da falta ou excesso de alguns elementos.

Vantagens da Análise de Cabelo

O cabelo é uma matriz mais simples que o sangue e a urina, cuja análise é bastante utilizada para verificar uma possível intoxicação, ou diagnosticar doenças. Além disso, a análise do cabelo é ainda mais fácil porque o analito está presente em concentração mais alta do que no sangue e urina^{2,3,9}. O cabelo é um material biológico atrativo por causa da simplicidade de amostragem (facilidade de coleta, sem traumas e sem dor), estocagem, transporte e manuseio. Além disso, é um material bastante estável que não precisa ser mantido sob refrigeração, tampouco necessita de preservantes^{2,9,26,27}. Isto, por exemplo, facilita a avaliação de uma população inteira de determinado local que está sendo contaminada através da água ou poluentes industriais^{8,11}.

Apesar de todas as controvérsias existentes, a determinação de elementos traço no cabelo humano é importante nas ciências biológicas, médicas, criminais e ambientais, já que o cabelo representa uma matriz biológica interessante para estudo na área orgânica e inorgânica. Conforme já citado, é muito útil para avaliar o consumo e metabolismo de drogas na área médica e criminal, onde até hoje é dada maior credibilidade aos resultados da análise do cabelo. Na Tabela 3 são mostradas as vantagens da análise do cabelo para avaliar o consumo de drogas, em relação à análise de urina^{3,11,13,24}.

Tabela 1. Concentrações normais para elementos traço e macronutrientes no cabelo humano. *Adaptado de 20.*

Elemento	Concentração, µg/g	Elemento	Concentração, µg/g
Ag	0,16 - 0,70	Mg	1,49 - 567
Al	0,10 - 36	Mn	0,04 - 24
As	0,03 - 25	Mo	0,03 - 2,16
B	0,88 - 0,98	Na	0,02 - 2,02
Ba	0,76 - 1,41	Ni	0,002 - 4,05
Br	2- 35	Pb	0,004 - 95
Ca	0,17 - 4,69 ^a	Pd	< 0,02
Cd	0,04 - 5,3	Pt	≤ 0,05
Cl	0,12 - 14	Rb	0,06 - 5,34
Co	0,07 - 1,7	S	733
Cr	0,08 - 2,50	Sb	0,05 - 0,06
Cs	0,05 - 1	Se	0,002 - 6,6
Cu	6,0 - 293	Sn	0,036 - 8,30
Fe	10 - 900	Sr	1,7 - 860
Ga	1 - 250	Ti	0,13 - 12
Hg	0,3 - 12,2	V	0,04 - 160
I	0,03 - 4,2	Zn	53,7 - 327
K	4 - 700	P	88,9 - 773
Li	9 - 460 ^b		

a: mg/g; b: ng/g

Tabela 2. Consequências advindas da intoxicação ou falta de alguns elementos. *Adaptada de 10 e 25.*

Elemento	Efeitos
Sb	A infecção aguda leva a vertigens, dores abdominais, náuseas, vômito, rinite, bronquite e danos ao fígado e rins.
As	A intoxicação resulta em necrose do fígado, hepatite, encefalite, nefrite, degradação dos nervos e rins.
Be	A inalação crônica freqüentemente ocasiona perda de peso, dor nos ossos e articulações, febre, distúrbio das funções do fígado e baço e lesões na pele.
Cd	Ocasional perda de peso, hemorragia, rinofaringite, fibrose dos brônquios, efizema pulmonar e danos ao fígado e rins.
Pb	Causa danos ao sistema nervoso central, cérebro, rins e sistema reprodutor.
Hg	Causa danos ao fígado, rins e sistema nervoso central (SNC).
Se	A intoxicação causa danos aos rins, SNC e cérebro. A insuficiência reduz a proteção contra toxicidade do Hg e Cd.
Tl	Causa hemorragia gastrointestinal, neurite, necrose do fígado, delírio e coma. Colapso do sistema respiratório e SNC.
B	A intoxicação ocasiona náuseas, dermatite e vômito.
Ca	A deficiência causa problemas dentários, irritabilidade, osteoporose, insônia e depressão.
Mg	A falta ocasiona excessiva sensibilidade ao ruído, insônia, tremores, aumento da pressão sangüínea, irritabilidade, espasmos musculares e transpiração excessiva.
Cu	A falta causa cárie dentária, infecção, enfraquecimento dos ligamentos, anemia e sangramento das gengivas.
Cr	A falta causa hipoglicemia.
Mn	A falta ocasiona a redução de açúcar no sangue, problemas nos ligamento e má funcionamento do sistema reprodutivo.

Tabela 3. Vantagens da análise de cabelo em relação à análise de urina. *Adaptada de 11.*

Urina	Cabelo
Informação a respeito de um curto período de tempo de uso da droga (1-3 dias).	Informação por um período maior (meses a anos).
Não consegue quantificar o uso contínuo.	Quantifica a extensão do uso.
Não relaciona com passado.	Relaciona com o passado.
Pode ser uma prova evasiva.	Pode comprovar o uso.
Pode não comprovar as evidências.	Comprova as evidências.

DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO

Coleta

Na maioria dos casos deseja-se avaliar o estado atual do indivíduo, e assim deve-se coletar o maior número possível de folículos na fase de desenvolvimento (anágena), porque a papila está em íntimo contato com o resto do organismo, através da circulação do sangue, linfa e fluido extra-celular^{2,3,27}.

A amostra deve ser coletada na nuca, na região logo acima do pescoço. Este local de coleta já é padronizado porque é menos susceptível à contaminação externa, também porque quase sempre existe cabelo nesta região em indivíduos calvos. Coletam-se segmentos entre 0 e 10 mm de distância do couro cabeludo, o que poderá fornecer informações quanto à exposição que ocorreu antes da amostragem, do 7º ao 21º dia, uma vez que a variação da concentração de determinado elemento no cabelo é somente evidente dias após a sua presença no sangue. Normalmente são coletados 2 a 3 g de cabelo, sendo para tal recomendado o uso de luvas e tesouras de polietileno, ou titânio, ou aço inoxidável, ou tântalo (se for de metal os óxidos devem ser removidos). Após a coleta o cabelo deve ser guardado em bolsa de plástico ou frasco de polietileno secos e limpos, e posteriormente mantido em local limpo e seco^{2,7,8,9,31}.

Cabelos de diferentes pigmentações (naturais) do mesmo indivíduo devem ser coletados separadamente, uma vez que a ab-

sorção dos elementos pode variar conforme a sua pigmentação^{2,7}. Por outro lado, cabelos coloridos artificialmente ou submetidos a outros tipos de tratamento não devem ser coletados, porque podem estar altamente contaminados com determinado elemento de difícil remoção no processo de lavagem, ou o tratamento dado ao cabelo pode remover elementos da estrutura do cabelo o que leva a valores de concentração artificialmente baixos⁷.

Embora o cabelo seja mais susceptível à contaminação pelo meio ambiente e tratamento com cosméticos, ele é ainda preferido em relação aos pêlos de outras partes do corpo porque é menos afetado pela excreção natural. Porém, pêlos de outras partes do corpo podem ser úteis para distinguir entre contaminação exógena e endógena⁹. Uma ficha informativa com diversos dados e hábitos do doador deve ser preenchida no momento da coleta^{9,18}.

Lavagem da Amostra de Cabelo

O cabelo destinado à análise deve ser lavado para a remoção de partículas de poeira, suor, gordura, etc.^{6,9}. Quando se deseja determinar o conteúdo total de determinado elemento presente no cabelo, uma simples lavagem em banho ultra-som já pode ser suficiente⁵. Porém, na maioria dos casos, deseja-se saber apenas a concentração de elementos provindos da absorção endógena, onde o processo de lavagem torna-se a etapa mais importante da análise. Existem elementos que são fortemente ligados ao cabelo (por exemplo, Hg e Cu^{3,13}) e métodos efetivos de lavagem precisam

ser otimizados. Cargnello et al.²³ investigaram a eficácia de alguns procedimentos de lavagem do cabelo, que são normalmente utilizados. Através das técnicas Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) e Espectrometria de Raios-X de Energia Dispersiva (XES), os autores verificaram as partículas sobre a superfície do cabelo e determinaram a concentração de alguns elementos através da técnica Microscopia Protônica de Varredura Nuclear acoplada à Espectrometria de Emissão de Raios-X Induzidos por Prótons (PIXE). Eles constataram que os fragmentos de sujeira que ainda permanecem no cabelo após a sua lavagem, têm o potencial de falsificar os resultados da análise de elementos traço, tais como Fe, Pb, Cu e Al, que estão presentes no cabelo em concentrações da ordem de µg/g. Isto pode contribuir significativamente para a grande variação dos valores reportados como normais por diferentes laboratórios¹⁰, sendo a situação mais crítica para elementos presentes no meio ambiente em concentrações altas (por exemplo, o Al); é menos crítica para elementos presentes na amostra na ordem de %, como é o caso do S.

De maneira geral, nenhum procedimento padrão de lavagem pode ser prescrito, devendo-se sempre buscar aquele que remova os contaminantes externos, sem extrair os elementos incorporados no cabelo durante seu crescimento. O método apropriado deve ser escolhido de acordo com o grupo específico de elementos, cujas concentrações no cabelo deseja-se medir^{5,7,9}.

Atualmente, o método de lavagem desenvolvido pelo IAEA (International Atomic Energy Agency) é utilizado em muitos laboratórios^{1,2,5,23,30,31}. Este método consiste em lavar-se 0,5g de cabelo sucessivamente: 1 vez com acetona, 3 vezes com água e 1 vez com acetona; entre cada lavagem deixar o cabelo

recoberto com o solvente, à temperatura ambiente e sob agitação, decantando o líquido entre cada lavagem; deixar o cabelo secar durante a noite envolvido em papel filtro de grau cromatográfico. Borella et al.⁵, utilizando este método de lavagem, verificaram que as concentrações de Cd e Se no cabelo aumentaram após a lavagem com acetona, indicando que esta proporcionou a contaminação (neste caso reagentes mais puros poderiam ser empregados). Neste mesmo estudo eles verificaram também que o EDTA é muito agressivo e remove elementos da estrutura do cabelo, tais como Ca, Cu, Mg, Zn, Cr e Pb, sendo por isto não recomendado. Na Tabela 4 são indicados diferentes procedimentos de lavagem.

Solubilização da Amostra e Técnicas de Medida

A amostra deve ser pesada seca (ao ar ou em estufa), em pó ou em segmentos tão curtos quanto possível. A quantidade pesada deve ser representativa, sendo dependente da(s) técnica(s) de medida utilizada(s) e da concentração aproximada do analito na amostra. Antes da retirada da alíquota a ser pesada, a amostra deve ser homogeneizada por agitação^{2,5,7,8,16}.

A digestão ácida é a mais utilizada, em copo aberto ou fechado. A hidrólise alcalina é raramente empregada para a determinação de compostos inorgânicos no cabelo, sendo mais frequentemente empregada para a determinação de compostos orgânicos⁷. Entretanto, a dissolução com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) tem a vantagem de minimizar a perda de elementos voláteis⁴¹, sendo bastante adequado para a análise de cabelo por ETAAS, ETV-ICP-MS e ETV-ICP-AES.

Tabela 4. Métodos de lavagem de cabelo para a determinação de elementos traço.

Procedimento (sequencial)/Reagente	Ref.
1x (uma vez) com Triton X-10; 1x com água bidestilada; secagem à temperatura ambiente.	5
1x com lauril sulfato de sódio a 1%; 1x com água bidestilada; secagem à temperatura ambiente.	5
1x com EDTA a 5 %; 1x com água bidestilada; secagem à temperatura ambiente.	5
4x com uma mistura acetona/metanol durante 20 min.; 1x com água bidestilada; secagem à temperatura ambiente.	5
Método IAEA.	1,5,23,30,31
4x com água bidestilada em banho de ultra-som.	5
1x com mistura 1:1 de clorofórmio e etanol ultrapuros	23
em banho de ultra-som: 1x com etanol ultrapuro durante 20 min.; 1x com clorofórmio ultrapuro;	23
1x com água ultrapura durante 20 min.	
1x com uma mistura 3:1 de éter etílico e acetona; secagem a 85°C; 1x com solução de EDTA a 5% durante; 1x com água bidestilada; secagem em estufa a 85°C.	9
1x com n-hexano; 1x com solução de lauril sulfato de sódio a 1% em água ultrapura; em banho de ultra-som:	32
1x com lauril sulfato de sódio a 0,1% em água; 6x com água pura.	
em banho ultra-som com solução de detergente não iônico a 1%; centrifugação a 1500 rpm; 3x com água destilada-desionizada; secagem em estufa a 37°C.	33
2x com com solução de Snoop a 10%; 3x com água; 1x com solução de EDTA a 10 %; 3x com água.	29
2x com solução de Snoop a 10%; 3x com água fria; 1x com água fervente; 3x com água fria	29
1x com heptano; 3x com etanol a 95%; 3x com água durante.	29
1x com dietileter; 1x com Triton X-100; 2x com água bidestilada; secagem em estufa a 110°C.	6
1x com detergente e posteriormente 3x com água destilada; secagem a 40°C.	34
1x com acetona; 1x com éter dietílico anidro; 1x com acetona; 1x com solução de lauril sulfato de sódio a 1%, em banho-maria a 30°C; 3x com água desionizada; 1x com acetona; secagem em estufa a 60°C.	35
1x com hexano; 3x com solução etanol-água 95:1; 3x com água desionizada; secagem em estufa a 60°C.	35
lavagem com detergente e água.	8
2x com solução de lauril sulfato de sódio a 1% em água; 3x com água desionizada; secagem a 60°C.	35
1x com mistura éter dietílico: acetona (1 + 3); secagem a 85°C; 1x com solução de EDTA a 5%;	36
1x com água bidestilada e secagem 105°C.	
várias vezes com água da torneira; 1x com etanol; 1x com solução de detergente neutro a 1%;	37
3x com água destilada; 5x com água bidestilada e secagem a 105°C.	
com éter dietílico em extrator Soxlet e secagem ao ar.	38
1x com solução de detergente neutro a 50°C; 1x com metanol e secagem ao ar.	39
1x com benzeno; 1x com acetona; 2x com éter dietílico; uma vez com água e secagem ao ar.	40

Os ácidos comumente utilizados são HNO_3 , HCl , H_2SO_4 , HClO_4 e HF , conforme pode ser observado na Tabela 4. O HClO_4 é utilizado, principalmente, para digerir a matéria orgânica e o HF para eliminar a sílica. Nos procedimentos mais recentemente utilizados em diversos laboratórios, há uma tendência de fazer a digestão da amostra de cabelo em frasco fechado e em forno de microondas³⁶. Sendo utilizado forno de microondas, dependendo da quantidade de cabelo a ser digerida, basta adicionar somente HNO_3 e H_2O_2 . Com este método de digestão, as quantidades de reagentes que precisam ser adicionadas são menores, o que minimiza os problemas de contaminação. Este procedimento deveria sempre que possível ser buscado, tendo-se em vista que a solução resultante fornece um espectro mais limpo, ou seja, menor presença de íons poliatômicos se as medições das concentrações dos elementos pesquisados forem feitas por ICP-MS^{41,42}. Também não são introduzidos os íons Cl^- e SO_4^{2-} que interferem em ETAAS^{43,44}. Pelo fato da digestão ser mais rápida, os ciclos de aquecimento podem ser repetidos até completa digestão da amostra. Independentemente do uso ou não de microondas, a digestão em frasco fechado diminui o risco de contaminação e a perda de elementos voláteis.

O uso de HClO_4 deve sempre que possível ser evitado por analistas inexperientes, tendo-se em vista que o mesmo é potencialmente explosivo se for levado à secura. Nos exemplos mostrados a seguir, pode-se notar que este ácido é bastante utilizado, às vezes, por desconhecimento das suas características. Por outro lado, o HF é inconveniente para o manuseio, porque ataca o vidro. De qualquer forma, o procedimento de digestão da amostra de cabelo deve ser otimizado de acordo com a técnica de medida a ser utilizada. Assim, por exemplo, não há necessidade de se digerir totalmente a matéria orgânica se forem utilizadas as técnicas ETAAS, ETV-ICP-MS e ETV-ICP-AES, porque a mesma será eliminada na etapa de pirólise. Porém, se a solução da amostra for introduzida diretamente num plasma de Ar, por exemplo em ICP-MS, poderão ser obtidos resultados incorretos, uma vez que a presença de C afeta a ionização do analito^{45,46}.

O cabelo pode ser também facilmente analisado sob a forma de suspensão ("slurry")⁴⁷⁻⁵⁰ ou diretamente³², onde a preparação da amostra é rápida e menos sujeita à contaminação. Neste caso uma pequena quantidade da amostra é moída em moinho de bolas de Zr ou cerâmica^{32,47-50}, com ou sem a presença de nitrogênio líquido. Alguns mg da amostra são suficientes para a suspensão, a qual pode ser preparada diretamente no próprio copo do amostrador automático⁴⁷. Para a estabilização da suspensão normalmente são adicionados agentes tixotrópicos (Triton X-100, glicerol, entre outros)⁴⁷⁻⁵⁰. O maior inconveniente destes métodos é que o processo de moagem pode contaminar a amostra. Melhores resultados podem ser obtidos se a amostra for apenas parcialmente digerida com pequena quantidade de HNO_3 e H_2O_2 e aquecida por um curto período de tempo e/ou submetida à agitação em banho ultrassom. Neste caso a amostra não precisa ser moída, mais os fios de cabelo devem ser o mais curto possível. A contaminação será também menor se agentes tixotrópicos não precisam ser adicionados (por causa da impureza dos reagentes), o que ocorre quando uma sonda ultra-sônica estiver acoplada ao amostrador automático. As técnicas mais adequadas para a análise direta de suspensões são ETAAS, ETV-ICP-MS e ETV-ICP-AES, porque não apresentam problemas tais como o entupimento do nebulizador e carregamento excessivo da chama ou plasma com a matriz da amostra e solvente, além de eliminar adequadamente a matriz. A sensibilidade também é melhor quando a vaporização eletrotérmica é utilizada, o que é importante quando se deseja medir a concentração de elementos presentes em baixa concentração (Co, V, Ag, Au, Tl, Sb, Cd, entre outros)^{32,47-50}. A análise de cabelo sob a forma sólida é interessante porque o único tratamento que precisa ser dado à

amostra é a sua lavagem. Assim, Miekeley et al.⁵¹ determinaram Hg em cabelo através da introdução de 5-20mg de cabelo num forno de combustão acoplado a ICP-MS, onde somente o vapor do elemento foi introduzido no plasma. O LD obtido foi 1,9ng/g para 10mg de amostra. Sob este aspecto a análise por NAA também é vantajosa, pois a amostra é analisada sob a forma sólida. Através desta técnica, Mitiko et al.⁵² desenvolveram um método para a dermação simultânea de Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Na, Sb, Sc, Se, V e Zn, onde foram obtidos resultados exatos e precisos na análise de amostras reais e amostras certificadas.

De maneira geral, as técnicas mais utilizadas para a análise de cabelo na década de 70 foram FAAS³ e NAA. Na década seguinte, ICP-AES^{4,36} e ETAAS^{30,31,38,41} foram as mais usadas. Na década de 80 foi desenvolvida a técnica de ICP-MS⁵³, consolidada no início da década atual, que juntamente com ICP-AES são hoje as mais utilizadas para análises de rotina⁵⁴, devido à capacidade multielementar de análise, ampla faixa de concentração dinâmica e boa velocidade analítica. Além disso, através delas, é muito maior o número de elementos que podem ser detectados e a sua concentração medida, se comparadas com ETAAS e FAAS. Entretanto, a técnica de ICP-MS tem sido pouco utilizada, provavelmente porque é uma técnica ainda nova e também sofisticada, onde recursos humanos adequadamente treinados e capacitados não estão ainda amplamente disponíveis. Além disso, pelo fato da maioria dos elementos pesquisados no cabelo estarem presentes em apreciável concentração, os limites de detecção obtidos em ICP-AES já são suficientes para um grande número de elementos⁴.

Vasconcellos et al.^{55,56} estudaram a contaminação com Hg por índios da Amazônia, sendo a especiação do elemento feita através de coluna de troca iônica e detecção por CVAAS. Nestes trabalhos os autores verificaram que os índios do parque nacional do Xingu, apresentavam alto teor do elemento no cabelo, devido, principalmente, à ingestão de peixes provenientes dos rios locais, os quais são contaminados com Hg. Entretanto os índios não apresentavam qualquer sintoma, porque a maior parte do Hg estava na forma metilada, a qual é atóxica. Através de um estudo interlaboratorial, os autores observaram também que populações, supostamente não expostas ao Hg, apresentavam diferentes concentrações de Hg no cabelo, em distintas regiões do Brasil. Num dos estudos realizados por Miekeley et al.⁵⁴, foram analisadas amostras de cabelo de 1091 pessoas, por ICP-AES e ICP-MS. Algumas destas amostras foram propositadamente enviadas a quatro laboratórios estrangeiros, cujos serviços são normalmente utilizados pela comunidade médica brasileira. Os autores observaram fortes discrepâncias entre os resultados, atribuído como principal fator a insuficiente sensibilidade da técnica de ICP-AES para vários elementos, a qual é utilizada pela maioria dos laboratórios. Para determinar a concentração de elementos tais como Hg, V, Sb, Ge, As, Se, etc, técnicas mais sensíveis devem ser usadas (por exemplo, CVAAS, HGFAS, ETAAS e ICP-MS), as quais raramente são citadas pelos laboratórios comerciais. Por outro lado, observaram concordância dos resultados obtidos para aqueles elementos que podem ser adequadamente analisados por ICP-AES. Assim sendo, Miekeley et al.⁵⁴ concluíram que muitos resultados e LDs obtidos por estes laboratórios, por ICP-AES, não são corretos. Concluíram também que em alguns destes laboratórios não há total preocupação quanto a certas interferências espectrais observadas em ICP-AES.

Outras técnicas adequadas são também empregadas, conforme pode ser observado na Tabela 5, mas estas proporcionam menor velocidade analítica em análises de rotina. Técnicas não destrutivas, tais como, PIXE²³ XRF^{14,23,33}, NAA^{16,18,40} têm sido mais utilizadas para a certificação de materiais e outros trabalhos de pesquisa relacionados também à estrutura do cabelo.

Tabela 5. Métodos de digestão, preparação de suspensão e técnicas de medida para a determinação de elementos traço em cabelo.

Procedimento; Reagente(s)	Técnica/Analito	Ref.
-digestão em frasco Kjeldahl; HNO ₃ e HClO ₄	ETAAS, FAAS/ Ca, Mg, Cr, Cu, Se, Zn, Cd, K, Pb	5, 29
-digestão em forno de microondas; HF, HNO ₃ e H ₂ O ₂	ICP-AES/ Al, As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Se, Ti, V, Zn	9
-digestão em frasco Tecator DS 20; HNO ₃ e HClO ₄	HGFAAS/ As	8
-digestão em frasco fechado; H ₂ O ₂ e HNO ₃	FAAS, XRF, ICP-AES, NAA/ Não indicado	7
-digestão em copo aberto; HNO ₃	ETAAS/ Se	34
-análise de suspensão (moagem em nitrogênio líquido)	ETV-ICP-AES/ Zn, Mn e Mg	32
-análise direta da suspensão; glicerol	ETASS/ Mn, Pb, Cd	47
-digestão em forno de microondas; HNO ₃ e H ₂ SO ₄	CVFAAS/ Hg	13
-digestão em frasco fechado; HNO ₃ e HClO ₄	FAAS, ETAAS, CVFAAS/ Hg, Cd, Cr, Pb, Zn	30
-digestão em forno de microondas; HNO ₃ , HCl e HF	ICP-AES/ Al, Cu, Fe, Mn, Zn	57
-digestão em tubo de polietileno fechado (em banho-maria); HNO ₃	FAAS Cu, Zn, Mg	35
-digestão em frasco fechado (em estufa a 90°C); TMAH a 5%	FAAS, ETAAS/ Al, Cu, Zn	35
-digestão em copo aberto; KMnO ₄ , H ₂ SO ₄ e hidroxilamina	DPSV/ Sb	39
-TMAH 25%	ETAAS/ Si, Co, Ni, Cr, Fe	38
-digestão parcial com HNO ₃ 70% m/v	FAAS, ETAAS/ Mn, Fe, Cu, Zn, Cd	21, 38
-dissolução em HNO ₃ e HClO ₄	ETAAS/ Zn	38
-aquecimento por infra-vermelho; HNO ₃ e HClO ₄	ASV/ Pb	58
-digestão em forno de microondas; HNO ₃	CVAFS/ Hg	59
-digestão em célula de quartzo sob radiação ultra-violeta; HClO ₄ e H ₂ O ₂	Polarografia/ Zn, Pb, Cu	37

Tabela 6. Comparação dos limites de detecção, em µg/L. Adaptado de 56 e 63.

Elemento	ETAAS	ICP-AES	ICP-MS	INAA	FAAS
Ag	0,005	1	<0,01	-	0,9
Al	0,04	4	0,1	20	30
As	0,2	20	0,07	3	100; 0,02 ^a
B	20	2	0,1	-	700
Ba	0,1	0,1	0,01	90	8
Be	0,01	0,06	<0,01	-	1
Bi	0,1	20	0,003	0,6	20; 0,02 ^a
Cd	0,003	1	0,06	20	0,5
Co	0,01	2	<0,001	0,05	6
C	-	50	-	-	-
Cu	0,02	0,9	0,05	150	1
Fe	0,02	1	2	30	3
Hg	1	20	<0,01	-	200; 0,008 ^b
Li	0,05	0,9	0,04	-	0,5
Mn	0,01	0,4	0,04	7	1
Ni	0,1	4	0,03	60	4
Pb	0,05	20	0,06	-	10
Sb	0,2	60	0,04	0,1	30
Se	0,2	60	1	1	70; 0,02 ^a
Si	-	3	1	-	-
Sn	0,2	40	0,05	-	100
Sr	0,02	0,05	0,02	20	2
Ti	1	0,5	0,4	250	50
Tl	0,1	40	0,06	-	9
U	-	10	0,002	0,2	10000
V	0,2	2	0,03	0,8	40
Cr	0,01	2	0,05	1	2
P	30	30	1	-	50000

Cont. Tabela 6.

Elemento	ETAAS	ICP-AES	ICP-MS	INAA	FAAS
S	-	50	-	-	-
Mg	0,004	0,08	0,2	3000	0,1
K	0,05	50	-	-	2
Au	0,1	4	<0,001	-	6
W	0,2	20	0,007	1	1000
Te	0,1	50	<0,001	-	20; 0,02 ^a
Zn	0,01	1	<0,01	3	0,8
Mo	0,04	5	0,02	2	30

a: HGFAAS; b:CVFAAS

Por muitos anos, a NAA foi a técnica favorita para a determinação de elementos traço no cabelo. Esta técnica normalmente requer a mínima preparação da amostra (lavagem, secagem e encapsulamento) e permite a determinação simultânea de vários elementos, sendo mais isenta à contaminação. Entretanto, o espectro para alguns nuclídeos somente pode ser obtido após algumas horas, ou dias, de irradiação da amostra⁴⁰. Isto diminui a velocidade analítica, não sendo muito adequada para análises de rotina⁶⁰. Uma outra desvantagem é a sensibilidade inadequada para alguns elementos¹³.

A digestão seguida da determinação multielementar por ICP-AES ou ICP-MS é a rota mais comum e mais rápida de se obter a máxima informação a respeito de uma amostra⁴¹. A técnica ICP-AES permite a determinação de elementos tais como Cu, Fe, Ca, Mg, Zn e etc, enquanto que a técnica de ICP-MS é mais adequada para a determinação de elementos em baixas concentrações (V, Cr, Tl, Pb, etc).

Na Tabela 7 são mostrados os LDs de vários elementos presentes no cabelo^{30,32,38,47,59,61}, com as respectivas técnicas de medida. O LD é definido por $3s/m$, onde s é desvio padrão de 10 leituras consecutivas do branco e m é a declividade da curva analítica (obtida por adição de analito ou calibração externa)⁴⁷. O limite de quantificação (LQ) é obtido sob as mesmas condições de obtenção do LD, porém é levado em conta a massa da amostra utilizada para a análise, sua diluição e presença de interferentes que podem aumentar o sinal do branco e/ou diminuir o sinal do analito. Os LDs e LQs de uma técnica podem variar, dependendo do método de introdução da amostra (nebulização pneumática ou ultrassônica, injeção em fluxo - FIA-, vaporização eletrotérmica - ETV, etc.), separação da matriz/pré-concentração do analito, tipo de instrumento, limpeza da vidraria e pureza dos reagentes utilizados.

Conclui-se que há discrepância entre resultados obtidos na análise da mesma amostra de cabelo, bem como as faixas de concentrações consideradas normais para uma mesma população. Isto ocorre, principalmente, porque métodos padrões de coleta, lavagem e preparo da amostra não são sempre seguidos, tampouco otimizados. Grande parte do problema, possivelmente, poderia ser resolvido através de programas interlaboratoriais e de controle de qualidade, além de levantamento de dados em relação às características da população atendida. Assim, por exemplo, a concentração de determinado elemento considerada normal no cabelo de uma determinada população, pode não ser normal para outra. Além disso, os profissionais das diferentes áreas envolvidas precisam interagir entre si para a troca de informações úteis, o que pode levar a uma melhoria da qualidade da análise de cabelo.

Entretanto a análise de cabelo é bem aceita em toxicologia, poluição ambiental e criminalística, provavelmente porque neste caso as contaminações endógena e exógena são mais facilmente distinguidas. Além disso, a presença de drogas no cabelo (derivados do ópio e cocaína) dificilmente poderá ser confundida com contaminação exógena.

Tabela 7. Limites de detecção (LD) para cabelo. Adaptado de 30,32,38,47, 54,59 e 61-63.

Elemento	Técnica de medida	LD, µg/g
Zn	ETV-ICP-AES	0,4 - 0,8
Mn	ETV-ICP-AES	0,2 - 0,3
Mg	ETV-ICP-AES	1,4 - 6,6
Hg	CVAAS	0,5
Hg	ICP-AES	0,8
Hg	ICP-MS	0,005
Cd	ETAAS	0,08; 0,03*
Cd	ICP-AES	0,04
Cd	ICP-MS	0,006
Cr	ICP-AES	0,14
Cr	ICP-MS	0,01
Pb	"	0,003
Pb	ICP-AES	1,8
Zn	ICP-AES	26
Pb	DPASV	0,04
Cd	"	0,02
Zn	"	0,02
Cu	"	0,02
Hg	CVAFS	2 pg
Cu	"	0,3
Pb	"	0,1; 0,05
Zn	"	10
Al	ETAAS	0,3
Mg	"	0,1
Si	"	1
Co	"	0,1
Ni	"	0,5
Cr	"	0,1
Bi	"	0,3
Fe	"	0,2
Mn	"	0,03; 0,04*
Ag	"	0,05
Ag	ICP-AES	0,02
Ag	ICP-MS	0,001
As	ICP-AES	0,2
As	ICP-MS	0,04
Au	ICP-AES	0,4
Au	ICP-MS	0,001
Bi	ICP-AES	0,8
Bi	ICP-MS	0,001
Co	ICP-AES	0,12
Co	ICP-MS	0,001
Ge	ICP-MS	0,8
Ge	ICP-MS	0,001
Mo	ICP-MS	0,16
Mo	ICP-AES	0,003
Ni	ICP-AES	0,3
NI	ICP-MS	0,001
Sb	ICP-AES	1,2

Cont. Tabela 7.

Elemento	Técnica de medida	LD, µg/g
Sb	ICP-MS	0,005
Se	ICP-AES	1,5
Se	ICP-MS	0,05
Sn	ICP-AES	0,03
Sn	ICP-MS	0,03
Th	ICP-AES	0,4
Th	ICP-MS	0,001
U	ICP-AES	0,6
U	ICP-MS	0,001

* análise de suspensão

REFERÊNCIAS

- Sachs, H.; *Forensic Sci. Int.* **1997**, *84*, 7.
- Chatt, A. e Katz, S. A.; *Hair Analysis, Applications in the Biomedical and Environmental Sciences*, VCH Publishers, New York, 1988.
- Bencze, K.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1990**, *337*, 867.
- Caroli, S.; *Spectrochim. Acta* **1988**, *43(B)*, 371.
- Borella, P.; Rovesti, S.; Caselgrandi, E.; Bargellini, A.; *Mikrochim. Acta* **1996**, *123*, 271.
- Gordus, A.; *J. Radioanal. Chem.* **1973**, *15*, 229.
- Bencze, K.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1990**, *338*, 58.
- Bozsai, G.; *Microchem. J.* **1992**, *46*, 159.
- Caroli, S.; Senofonte, O.; Violante, N.; Fornarelli, L.; Powar, A.; *Microchem. J.* **1992**, *46*, 174.
- Katz, S. A.; Katz R. B.; *J. Appl. Toxicol.*, **1992**, *12*, 79.
- Arnold, W.; Sachs, H.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1994**, *348*, 484.
- Bermejo Barrera, A. M.; Rossi, S. S.; *Forensic Sci. Int.*, **1995**, *70*, 203.
- Wilhelm, M.; Müller, F.; Idel, H.; *Toxicol. Lett.* **1996**, *88*, 221.
- Toribara, T. Y.; Jackson, D. A.; *Clin. Chem.* **1982**, *28/4*, 650.
- Combs, D. K.; *J. Anim. Sci.* **1987**, *65*, 1753.
- Toro, E. C.; Goeij, J. J. M.; Bacso, J.; Cheng, I-d; Kinova, L.; *J. Radioanal. And Nucl. Chem.* **1993**, *167*, 413.
- Klevay, M. L.; Bistrian, B. R.; Fleming, C. R.; *Am. J. Clin. Nutr.* **1987**, *46*, 233.
- Iyengar, V.; Woittiez, J.; *Clin. Chem.* **1988**, *34/3*, 474.
- Quevauviller, P.; Maier, E. A.; Vercoutere, K.; Muntau, H.; Griepink, B.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1992**, *243*, 343.
- Caroli, S.; Coni, A. A. E.; Petrucci, F.; Senofonte, O.; Violante, N.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1994**, *24*, 363.
- Salmela, S.; Vuori, E.; Kilpiö, J.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, *125*, 131.
- Stone, S. F.; Backhaus, F. W.; Byrne, A. R.; Gangadharan, S.; Horvart, M.; Kratzer, K.; Parr, R.; Schladot, J. D.; Zeisler, R.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *352*, 184.
- Cargnello, J. A.; Powell, J. J.; Thompson, P. H.; Crocker, P. R.; Watt, F.; *Analyst* **1995**, *120*, 783.
- Willians, J.; Patsalos, P. N.; Wilson, J. F.; *Forensic Sci. Int.* **1997**, *84*, 113.
- Passwater, R. A. e Cranton, E. M.; *Trace Elements, Hair Analysis and Nutrition*, Keats Publishing Inc., New Canaan, CT, USA, 1983.
- Ciszewski, A., Wasiak, W. and Ciszewska, W.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *343*, 225.
- Robbins, C. R.; *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*, 3rd ed. Springer-Verlag, New Iork, 1994.
- Hopps, H. C.; *Sci.Total Environ.* **1977**, *7*, 71.
- Hildebrand, D. C.; White, D. H.; *Clin. Chem.* **1974**, *20/2*, 148.
- Bagliano, G.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, *123*, 45.
- Stevens, B. J.; *At. Spectrosc.* **1983**, *4*, 176.
- Voßgätter, P.; Denkhau, E.; *Spectrochim. Acta* **1996**, *B51*, 261.
- Campbell, J. L.; Faiq, S.; Gibson, R. S.; Russel, S. B.; Schulte, C. W.; *Anal. Chem.* **1981**, *53*, 1249.
- Ejaz, M. and Quresh, M. A.; *Talanta* **1987**, *34*, 337.
- Assarian, G. S.; Oberleas, D.; *Clin. Chem.* **1997**, *23/9*, 1771.
- Caroli, S.; Alimonti, A.; Femmine, P. D.; Petricci, F.; Senofonte, O.; Violante, N.; Menditto, A.; Morisi, G.; Menotti, A.; Falconieri, P.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1992**, *7*, 859.
- Liu, C.; Jiao, K.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *238*, 367.
- Alder, J. F.; Samuel, A. J.; West T. S.; *Anal. Chim. Acta* **1976**, *87*, 313.
- Beng, S.; Zhu, J.; *Analyst* **1996**, *121*, 1983.
- Dever, M.; Bresee, R. R.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, *225*, 185.
- Branch, S.; Crews, H. M.; Halls, D. J.; Taylor, A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1991**, *6*, 69R.
- Tan, S. H.; Horlick, G.; *Appl. Spectrosc.* **1986**, *40*, 445.
- Welz, B.; Bozsai, G.; Sperling, M.; Radziuk, B.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1992**, *7*, 505.
- Welz, B.; Schlemmer, G. and Mudakavi, J. R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1992**, *7*, 1257.
- Allain, P.; Jaunault, L.; Mauras, Y.; Mermet, J-M.; Dellaporta T.; *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1497.
- Larsen, E. H.; Stürup, S.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1994**, *9*, 1099.
- Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Piñeiro, A.; Moreda-Piñeiro, J.; Bermejo-Barrera, A.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1997**, *12*, 301.
- Ebdon, L.; Foulkes, M.; Sutton, K.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1997**, *12*, 213.
- Miller-Ihli, N. J.; *Spectrochim. Acta* **1995**, *50B*, 477.
- Miller-Ihli, N. J.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1990**, *337*, 271.
- Miekeley, N.; Amato, M. O.; *At. Spectrosc.* **1997**, *18*, 186.
- Saiki, M.; M. B. A.; Vasconcellos; Arrauz, L. J.; Fulfaro, R.; *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1998**, *236*, no prelo.
- Jarvis, K. E.; Gray, A. L.; Houk, R. S.; *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Blackie & Sons Ltd., New York, 1992.
- Miekeley, N.; Carneiro, M. T. W. D.; Porto Silveira, C. L.; Carvalho Fontes, L. M.; *Sci. Total Environ.* **1998**, *218*, 9.
- Vasconcellos, M. B. A.; Saiki, M.; Palleti, G.; R. M.M., Pinheiro; R. G. Baruzzi and Spindel, R. J., *Radioanal. Nucl. Chem.* **1994**, *179*, 369.
- Vasconcellos, M. B. A.; Palleti, G.; Saiki, M.; Catharino, M. G.M.; Baruzzi, R.; Rodrigues, D. A.; Byrne, A. R.; *Metals Ions in Biology and Medicine.* **1998**, *5*, 743.
- Isoyama, H.; Uchida, T.; Oguchi, K.; Iida, C.; Nakagawa, G.; *Anal. Sci.* **1990**, *6*, 385.
- Peng, J.; Jin, W.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *264*, 213.
- Vermeir, G.; Vandecasteele, C.; Dams, R.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, *242*, 203.
- Vandecasteele, C.; Block, C. B.; *Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley & Sons, New York, 1993.
- Ciszewski, A.; Wasiak, W.; Ciszewska, W.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *343*, 225.
- Wasiak, W.; Ciszewska, W.; Ciszewski, A.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, *335*, 201.
- Grenville, H.; Eaton, A.N. *Applications of Plasma Source Mass Spectrometry*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1991.