

**Gabrielly dos Santos Peregrino**

**Estudo da composição mineral de  
cabelo relacionada com o uso de  
tratamentos estéticos**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

Rio de Janeiro

Abril de 2016



**Gabrielly dos Santos Peregrino**

**Estudo da composição mineral de cabelo  
relacionada com o uso de tratamentos  
estéticos**

**Dissertação de Mestrado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Tatiana Dillenbourg Saint'Pierre

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Adriana Haddad Nudi

Rio de Janeiro

Abril de 2016



## **Gabrielly dos Santos Peregrino**

### **Estudo da composição mineral de cabelo relacionada com o uso de tratamentos estéticos**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Avaliadora abaixo assinada.

**Prof.<sup>a</sup> Tatiana Dillenburg Saint’Pierre**  
Orientadora  
Departamento de Química – PUC-Rio

**Prof.<sup>a</sup> Adriana Haddad Nudi**  
Coorientadora  
Departamento de Química – PUC-Rio

**Prof.<sup>a</sup> Daniela Silveira Soluri**  
Departamento de Química – PUC-Rio

**Prof.<sup>a</sup> Christiane Bèatrice Duyck**  
UFF

**Prof. Márcio da Silveira Carvalho**  
Coordenador Setorial do Centro  
Técnico-Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 13 de abril de 2016.

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da autora e do orientador.

### **Gabrielly dos Santos Peregrino**

Gabrielly dos Santos Peregrino é graduada em Química pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 2012. Atua como tutora a distância em curso de graduação do consórcio CEDERJ. Servidora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFRJ).

#### Ficha Catalográfica

Peregrino, Gabrielly dos Santos

Estudo da composição mineral de cabelo relacionada com o uso de tratamentos estéticos / Gabrielly dos Santos Peregrino ; orientadora: Tatiana D. Saint’Pierre ; co-orientadora: Adriana H. Nudi. – 2016.

85 f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2016.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Cabelo. 3. ICP-MS. 4. Mineralograma. 5. Tratamentos estéticos. 6. Estatística. I. Saint’Pierre, Tatiana D. II. Nudi, Adriana H. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

## Agradecimentos

Primeiramente a **Deus**, sem O qual jamais teria a inspiração, energia e saúde para realizar este trabalho.

A minha orientadora e coorientadora, **Tatiana e Adriana Nudi**, obrigada por me aceitarem e me receberem tão bem, mesmo da forma tumultuada como as conheci. Foram luz na minha vida!

Às alunas de Iniciação Científica do LabSpectro **Júlia, Raiza, Maria Eduarda e Gabrielle**, além do técnico mais atencioso e prestativo: **Rafael** e da secretária Fátima, MUITO obrigada! Sem vocês seria impossível realizar este trabalho! Gratidão imensa!

Aos meus pais, **Eliana e Agnaldo**, fontes eternas de amor e paciência! Obrigada por tudo que fizeram e fazem por mim, amo muito vocês!

Ao meu marido, **Mauricio**, pela compreensão nos momentos em que foi preciso silêncio e ausência, além de sempre me ajudar no possível e impossível! Te amo!

À minha irmã, **Giselly**, sempre meu exemplo de vida, desde que nasci! Seus passos serão sempre seguidos por mim, portanto, nunca pare de evoluir! Te amo!

Aos meus **amores com penas**: Cotó, Pitita, Pudim, Liloco, Piu e Piuí, mostraram que não importa a fase de turbulência, sempre haverá amor gratuito e gritinhos sem fim.

À minha **família do IFRJ Campus São Gonçalo**, que me concedeu tempo para realizar a pesquisa e o texto! Gratidão!

As minhas queridas amigas **Danielly Mariano e Andressa Moraes**, que se mostraram muito queridas lendo e opinando neste trabalho! Gratidão pela existência de vocês na minha vida!

## Resumo

Peregrino, Gabrielly dos Santos, Saint’Pierre, Tatiana Dillenburg, Nudi, Adriana Haddad. **Estudo da composição mineral de cabelo relacionada com o uso de tratamentos estéticos.** Rio de Janeiro, 2016. 85p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

O mineralograma capilar é uma análise multielementar que provê informações sobre a saúde da pessoa. A utilização de tratamentos estéticos para o cabelo, como tinturas ou alisamentos, representam a exposição a substâncias que podem ser prejudiciais à saúde, tanto para os utilizadores, quanto para os profissionais que as aplicam, e podem dificultar a interpretação dos dados do mineralograma. O objetivo deste trabalho foi estabelecer correlações entre os tratamentos estéticos e a composição mineral do cabelo de voluntários de diferentes idades e sexos, além de realizar a análise estatística dos dados. Amostras de cabelo foram coletadas da região occipital de voluntários, que responderam a um formulário contendo informações importantes para análise dos dados. As amostras de cabelos previamente lavadas e secas, foram decompostas com ácido nítrico, o teor mineral foi determinado utilizando ICP-MS e os resultados estatísticos avaliados com o auxílio do *Statistica for Windows*. Os elementos analisados foram classificados como essenciais ou tóxicos. Os metais que apresentaram diferenças estatísticas significativas em mulheres que utilizam algum tratamento estético nos cabelos foram: Mg, K, Ca, V, Mn, Fe, Co, Cu, Mo, Zn e Sr, e os metais tóxicos: Ni, Ba e U. Quando comparados cabelos naturais, sem tratamento, houve diferença significativa entre homens e mulheres para Mg, Ca, Sr, Mo e Au, entretanto, todas as medianas ficaram abaixo dos limites máximos da referência utilizada neste trabalho para fins de comparação. Considerando elementos tóxicos, nenhum apresentou diferença, sendo que as mulheres apresentaram uma concentração mais elevada deste metal.

## Palavras chave

Cabelo; ICP-MS; mineralograma; tratamentos estéticos; estatística.

## Abstract

Peregrino, Gabrielly dos Santos, Saint’Pierre, Tatiana Dillenburg (advisor), Nudi, Adriana Haddad (co-advisor). **Study of hair mineral composition related to aesthetic treatments.** Rio de Janeiro, 2016. 85p. MSc. Dissertation - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The hair mineralogram is a multielemental analysis that provides information about the person's health. The use of aesthetic treatments for hair, such as dyes or straightening, represent exposure to substances that can be harmful to health, both for users and for the professionals who apply them, and may hamper the interpretation of mineralogram data. The objective of this work was to establish correlations between beauty treatments and hair mineral composition of volunteers of different ages and genders, and perform statistical data analysis. Hair samples were collected from the occipital region of volunteers, who answered a form containing important information for data analysis. The samples previously washed and dried were decomposed with nitric acid, the mineral content determined using ICP-MS and the statistical results evaluated with the help of “Statistica for Windows”. The elements analyzed were classified as essential or toxic. Elements presenting statistically significant differences in women using some hair cosmetic treatment were: Mg, K, Ca, V, Mn, Fe, Co, Cu, Mo, Zn and Sr, and the toxic metals: Ni, Ba and U. When compared natural hair, without treatment, significant differences between men and women were observed for Mg, Ca, Sr, Mo and Au, however, all medians were below the upper limit of the reference used in this work. Considering the toxic elements, no one was different, and that women had a higher concentration of this metal.

## Keywords

Hair; ICP-MS; mineralogram; aesthetic treatments; statistic.

# Sumário

1	Introdução	15
2	Revisão da literatura	17
2.1.	Cabelo	17
2.1.1.	Cutícula	18
2.1.2.	Córtex	19
2.1.3.	Medula	20
2.2.	Mineralograma capilar	20
2.2.1.	Histórico	20
2.3.	Determinação multielementar em cabelo por ICP-MS	27
2.3.1.	Introdução de amostras	27
2.3.2.	Fonte de plasma: geração dos íons	28
2.3.3.	Interface	29
2.3.4.	Analísadores de massa quadrupolares	29
2.3.5.	Detector	29
2.3.6.	Interferências	30
2.3.6.1.	Interferências espectrais	30
2.3.6.2.	Interferências não espectrais	32
2.4.	Testes estatísticos	33
2.4.1.	Testes não paramétricos	35
2.4.1.1.	Teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors e teste de Shapiro-Wilk	35
2.4.1.2.	Teste de Mann-Whitney U	35
2.4.1.3.	Teste de Kruskal-Wallis	36
2.4.1.4.	Método de Dunn	37
3	Objetivo	38



3.1. Objetivo geral	38
3.2. Objetivos específicos	38
4 Metodologia	39
4.1. Amostras de cabelo	39
4.1.1. Coleta das amostras	39
4.1.2. Lavagem do cabelo	40
4.1.3. Preparo da amostra	40
4.2. Soluções analíticas	40
4.2.1. Padrão interno	41
4.3. Análise por ICP-MS	41
4.4. Parâmetros analíticos de mérito	41
4.4.1. Linearidade das curvas analíticas empregadas	42
4.4.2. Limites de detecção e quantificação	42
4.4.3. Exatidão	43
4.5. Análise estatística dos resultados	43
4.5.1. Natureza estatística da distribuição das amostras	44
4.5.2. Gráficos do tipo <i>box plot</i>	44
5 Resultados e Discussões	46
5.1. Parâmetros analíticos de mérito	46
5.1.1. Avaliação da exatidão do método	48
5.2. Análise das amostras de cabelo dos voluntários	49
5.2.1. Elementos essenciais e outros	49
5.2.1.1. Amostras de cabelo de mulheres: comparação entre amostras sem e com tratamento estético	49
5.2.1.2. Amostras de cabelo natural (sem tratamento estético): comparação entre amostras de mulheres e homens	59
5.2.2. Análise dos elementos tóxicos	67
5.2.2.1. Mulheres com cabelos naturais e tratados	67
5.2.2.2. Amostras de cabelo natural (sem tratamento estético): comparação entre amostras de mulheres e homens	70

6 Conclusões	74
7 Referências bibliográficas	76
Apêndice I	79
Apêndice II	82
Anexo I	83
Anexo II	84

## Lista de figuras

- Figura 1 - Interpretação gráfica do gráfico do tipo *box plot*. 44
- Figura 2 - Dendrograma vertical com todas variáveis de todas as mulheres para elementos essenciais. 50
- Figura 3 - *Box plot* para os elementos essenciais e outros, considerando todas as mulheres voluntárias. No gráfico dos elementos onde se rejeitou a hipótese nula há letras (a, b e c) que mostram os grupos que apresentaram diferenças significativas entre si. Há também uma linha vermelha que indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO *et al.* (2002), enquanto a azul, o mínimo. A = alisamento, T = tintura, N = natural e TeA = tintura e alisamento. O asterisco (\*) representa valores *outliers*. 54
- Figura 4 - *Box plot* para os elementos essenciais e outros, considerando todas as mulheres voluntárias. No gráfico dos elementos onde se rejeitou a hipótese nula há letras (a, b e c) que mostram os grupos que apresentaram diferenças significativas entre si. Há também uma linha vermelha que indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO *et al.* (2002), enquanto a azul, o mínimo. A = alisamento, T = tintura, N = natural e TeA = tintura e alisamento. O asterisco (\*) representa valores *outliers*. 55
- Figura 5 - *Box plot* para os elementos essenciais e outros, considerando todas as mulheres voluntárias. No gráfico dos elementos onde se rejeitou a hipótese nula há letras (a, b e c) que mostram os grupos que apresentaram diferenças significativas entre si. Há também uma linha vermelha que indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO *et al.* (2002), enquanto a azul, o mínimo. A = alisamento, T = tintura, N = natural e TeA = tintura e alisamento. O asterisco (\*) representa valores *outliers*. 56
- Figura 6 - *Scree plot*: um método gráfico para selecionar o número de autovalores. 57

- Figura 7 - Avaliação da concentração de Ca no cabelo das voluntárias em relação à faixa etária: abaixo de 10 anos, entre 10 e 20 anos, 20 e 30 anos, 30 e 40 anos, 40 e 50 anos, e acima de 50 anos. 59
- Figura 8 - *Box plot* das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. As retas azul (mínimo) e vermelha (máximo) são valores de referência segundo (CARNEIRO *et al.*, 2002). O asterisco (\*) representa valores *outliers*. 61
- Figura 9 - *Box plot* das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. As retas azul (mínimo) e vermelha (máximo) são valores de referência segundo (CARNEIRO *et al.*, 2002). O asterisco (\*) representa valores *outliers*. 62
- Figura 10 - *Box plot* das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. As retas azul (mínimo) e vermelha (máximo) são valores de referência segundo (CARNEIRO *et al.*, 2002). O asterisco (\*) representa valores *outliers*. 63
- Figura 11 - Proporção de variação de cada componente principal. 65
- Figura 12 - Correlação entre os metais nos voluntários do sexo feminino e masculino que possuem cabelos naturais. 66
- Figura 13 - Análise dos componentes principais para os voluntários do sexo feminino e masculino. 67
- Figura 14 - *Box plot* dos elementos tóxicos e os valores do teste de Kruskal Wallis (KW), além das linhas vermelhas que indicam os valores máximos segundo valores de referência (CARNEIRO *et al.*, 2002). No gráfico dos elementos que apresentaram diferenças estatísticas significativas no teste de KW (estão em negrito), há a letra “a” que indica onde está a diferença segundo teste *post-hoc* de Dunn,. A = alisamento, T = tintura, N = natural e TeA = tintura e alisamento. O asterisco (\*) indica *outliers*. 69
- Figura 15 - *Box plot* dos elementos tóxicos e os valores do teste de Kruskal Wallis (KW), além das linhas vermelhas que indicam os valores máximos segundo valores de referência (CARNEIRO *et al.*, 2002). No gráfico dos elementos que apresentaram diferenças estatísticas significativas no teste de KW (estão em negrito), há a letra

“a” que indica onde está a diferença segundo teste <i>post-hoc</i> de Dunn,. A = alisamento, T = tintura, N = natural	70
Figura 16 - <i>Box plot</i> das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. A reta vermelha corresponde ao valor máximo de referência segundo (CARNEIRO <i>et al.</i> , 2002). O asterisco (*) indica <i>outliers</i> .	72
Figura 17 - <i>Box plot</i> das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. A reta vermelha corresponde ao valor máximo de referência segundo (CARNEIRO <i>et al.</i> , 2002). O asterisco (*) indica <i>outliers</i>	73
Figura 18 - Correlação entre os metais, na forma gráfica, nas voluntárias do sexo feminino.	82

## Lista de tabelas

Tabela 1 - Problemas ocasionados por excessos ou faltas de elementos no organismo. n/d = não determinado; < LD = abaixo do limite de detecção. (CAMPBELL (2001), XIA et al. (2004), TORRENTE; COLOMINA; DOMINGO (2005), MIEKELEY et al. (2001), LANGLEY; DAMERON (2013)).	21
Tabela 2 - Resumo das características dos voluntários participantes.	39
Tabela 3 - Parâmetros operacionais utilizados nas medidas por ICP-MS.	41
Tabela 4 - Coeficientes de correlação das curvas analíticas, limites de detecção instrumentais e limites de quantificação por grama de amostra para os elementos estudados.	47
Tabela 5 - Resultados obtidos da análise da amostra certificada de cabelo, média ± desvio-padrão.	48
Tabela 6 - Testes de normalidade para os elementos das amostras de voluntárias do sexo feminino. Número total amostras = 116.	51
Tabela 7 - Autovalores e percentual da variância explicada de cada componente para os elementos essenciais nas amostras de voluntárias do sexo feminino.	57
Tabela 8 - Matriz de correlação para todas as voluntárias do sexo feminino. Os números destacados em negrito são os que indicam forte correlação e, sublinhado, leve correlação.	58
Tabela 9 - Testes de normalidade para os elementos das amostras de voluntários do sexo masculino. Número total de amostras = 34.	60
Tabela 10 - Teste não paramétrico de Mann-Whitney U para mulheres e homens com-cabelos naturais. M = masculino, F= feminino.	64
Tabela 11 - Autovalores e percentual da variância explicada de cada componente para os elementos essenciais nos voluntários do sexo feminino e masculino que possuem cabelos naturais.	65
Tabela 12 - Testes de normalidade para os elementos da amostra de voluntárias do sexo feminino. N° total de voluntárias = 116.	68

Tabela 13 - Testes de normalidade para os elementos da amostra de voluntários do sexo masculino. Número total de voluntários = 34.	71
Tabela 14 - Teste não paramétrico de Mann-Whitney U para mulheres (F, n=31) e homens (M, n=34) com cabelos naturais.	73
Tabela 15 - Concentração média em $\mu\text{g g}^{-1}$ dos elementos essenciais e outros, e tóxicos, nos cabelos dos voluntários, além dos intervalos utilizados como referência para este trabalho.	80

# 1 Introdução

A exposição demasiada dos consumidores a produtos químicos, principalmente estéticos, como tonalizantes e alisantes para cabelos, vem gerando uma crescente preocupação com os efeitos causados por uma série de substâncias tóxicas contidas nestes produtos, inclusive elementos tóxicos. Os elementos químicos são naturalmente excretados, e esta eliminação pode ocorrer através dos tecidos, fluidos corporais, cabelos ou unhas. Porém, quando presentes em excesso no organismo podem causar uma série de doenças.

Uma forma de avaliar a interação desses produtos com o organismo é através da técnica de biomonitoramento, que utiliza os próprios materiais biológicos, como sangue, urina, fezes, cabelos e unhas, para acompanhar estas alterações biológicas. Através desta técnica é possível determinar o que está em excesso e como estão sendo eliminados pelo corpo (DONGARRA *et al.*, 2012; MARTORELL *et al.*, 2015; SAHOO *et al.*, 2015; SAMANTA *et al.*, 2004; SENOFONTE; VIOLANTE; CAROLI, 2000; KEMPSON; LOMBI, 2011; MENEZES *et al.*, 2004).

Utilizar amostras de cabelo para biomonitoramento é interessante, pois normalmente a eliminação de metais é feita pelos cabelos e unha. Além disso, o cabelo é uma amostra facilmente coletada, armazenada e preparada, que inclusive pode conter informações temporais sobre o organismo do indivíduo. Entretanto, existem alguns problemas nessa utilização: há dificuldades na interpretação dos resultados, além de não haver valores de referência universais, entretanto é possível encontrar alguns estudos que consideram valores regionais.

Esta dificuldade em se ter valores de referência decorre do fato de existir uma variação natural da composição de cada cabelo – em consequência da idade, sexo, cor do cabelo, etnia, hábitos alimentares, dentre outros (CHOJNACKA *et al.*, 2010; CHOJNACKA; *et al.*, 2012; CHOJNACKA *et al.*, 2012; CHOJNACKA *et al.*, 2011; SHIOBARA; YOSHIDA; SUZUKI, 1998; SKALNY *et al.*, 2015).



Também é importante considerar que não há uma metodologia padrão para o pré-tratamento da amostra - como a etapa de lavagem - que é de extrema importância, uma vez que se deve apenas retirar contaminantes exógenos, e não as substâncias endógenas (RAPOSO *et al.*, 2014; CHOJNACKA *et al.*, 2012; MORTON; CAROLAN; GARDINER, 2002). Os elementos endógenos são aqueles incorporados às proteínas do cabelo, já os exógenos são os que se adsorvem pelo contato com o meio externo, após o cabelo ter sido formado.

Na maioria dos trabalhos publicados, a intenção é verificar os níveis de vários metais, em determinada região, cidade ou apenas em um grupo específico de pessoas, para saber a que contaminantes estão suscetíveis ou para avaliar níveis de metais tóxicos em alguns casos. Já o objetivo deste trabalho foi verificar se há influência significativa no resultado do exame que avalia as concentrações de elementos utilizando uma mecha de cabelo como amostra – chamado de mineralograma capilar - em cabelos que passaram por alguma transformação química, como tintura e/ou alisamento.

Este trabalho fez parte do projeto aprovado em 2013 na Chamada Nº 18/2013 MCTI/CNPq/SPM-PR/Petrobras - Meninas e Jovens Fazendo Ciências Exatas, Engenharias e Computação, em colaboração com a escola de Ensino Médio Inovador CIEP Ayrton Senna da Silva, na Rocinha. Nele, buscou-se aprofundar a linha de pesquisa multidisciplinar relacionada à análise de cabelo. Isto foi feito através da ampliação do banco de dados de amostras de cabelo, fazendo a inclusão de amostras de cabelo que passaram por algum tratamento estético capilar. Os resultados obtidos foram avaliados através de programa estatístico, a fim de estudar correlações ainda pouco conhecidas e identificar possíveis fontes de contaminação por elementos tóxicos.

## 2 Revisão da literatura

A análise de cabelo é uma alternativa interessante para diagnóstico de exposição a elementos tóxicos e determinação dos níveis dos elementos traço essenciais no organismo. A análise elementar do cabelo apresenta vantagem, quando comparada a análises de sangue e urina, pois a amostra é facilmente coletada, além de poder ser armazenada e transportada sem a necessidade de procedimento especial. Cabe ressaltar que a coleta de amostras não é um método invasivo. Ademais, o cabelo humano cresce numa taxa aproximada de 1 cm por mês, portanto, as concentrações de um elemento no cabelo refletem o nível presente no corpo e um histórico da exposição do indivíduo a este elemento.

### 2.1. Cabelo

A composição química do fio do cabelo é bastante complexa. O cabelo origina-se na derme a partir de cavidades chamadas folículos que se estendem até a epiderme e para a superfície da pele. Cada folículo piloso é uma miniatura de um órgão, contendo músculos e glândulas (HOPPS, 1977).

Segundo WAGNER e JOEKES (2006):

“As subestruturas do cabelo são formadas por processos de diferenciação celular no sentido radial de fora para dentro da fibra, que duram até o fio chegar à epiderme, ou seja, quando o cabelo não sofre alterações biológicas depois que sai do couro cabeludo”.

Sendo assim, após sair do couro cabeludo é uma estrutura morta e tudo que ocorre após – danos, por exemplo – é cumulativo.

As fibras do cabelo crescem de uma forma cíclica, composta de 3 fases: anágena (crescimento), catágena (transição) e telógena (repouso).

A fase anágena dura de 2 a 6 anos e é essencial para a formação de cabelo saudável. Neste período o metabolismo do bulbo capilar é muito ativo, as células da matriz se dividem rapidamente, garantindo que novo cabelo se forme e cresça. Esta fase é muito sensível e fatores externos como doenças e estresse podem interromper esta fase do crescimento capilar.

A fase catágena é uma transição e dura algumas semanas, é o momento que o fio se desconecta da papila e a base do folículo começa a subir em direção à superfície da pele.

A fase de repouso, chamada de telógena, dura entre 3 a 4 meses e é o momento onde o fio se solta do folículo, ou quando um novo fio começa a crescer e empurra o anterior, reiniciando o ciclo.

Após a fibra ser formada - a partir da queratinização de células epiteliais - ela contém 3 ou mais unidades ou estruturas diferentes. As camadas de cutícula ficam ao redor do córtex, as células dessa região conferem certa proteção à parte mais externa do cabelo. O córtex possui a maior parte da massa do fio de cabelo e contém as proteínas fibrosas do cabelo. As células dessa região ficam alinhadas em formato de carretel ao longo do eixo da fibra. Esses 2 tipos de células são as existentes em cabelos finos, já os mais espessos possuem ainda uma região porosa: a medula. Ela fica localizada próxima ao centro da fibra de forma desordenada. A quarta unidade é o complexo da membrana celular que une as células e, em conjunto com outros componentes, formam a principal via de difusão para dentro das fibras (ROBBINS, 2001).

### **2.1.1. Cutícula**

A cutícula é formada por células planas sobrepostas, e envolve toda a fibra capilar no sentido da raiz para as pontas, ocorrendo sobreposição de 5 a 10 camadas. Cada cutícula tem a espessura aproximada de 0,3 a 0,5  $\mu\text{m}$  e comprimento de 5 a 10  $\mu\text{m}$  (BHUSHAN, 2010). A estrutura da cutícula se divide em estruturas sublamelares.

- Epicutícula: é a camada mais externa da cutícula constituída de membrana lipoproteica.
- Camada A: é a região mais superficial da cutícula, possui grande quantidade de cistina (aproximadamente 30 %). Ela é muito reticulada

e isso confere resistência mecânica e química, além do caráter hidrofóbico, por ser revestida por um filme lipídico (BHUSHAN, 2010).

- Exocutícula: é adjacente à camada A e também tem alto teor de cistina na sua composição (aproximadamente 15 %), tem resistência mecânica e química, e é hidrofóbica.
- Endocutícula: possui baixo teor de cistina (aproximadamente 3 %), é formada por material não-queratinoso e aminoácidos básicos e ácidos e, por conta disso, apresenta baixa resistência química e tem caráter hidrofílico.
- Complexo da membrana celular: é uma estrutura lamelar composta da camada  $\beta$  interna, camada  $\delta$  e camada  $\beta$  externa (esta separa as células da cutícula entre si) (BHUSHAN, 2010). É a única fase contínua da fibra capilar, e a principal via para a difusão de substâncias para dentro do fio do cabelo.

Baseado nas diferenças de composição, as subunidades da cutícula apresentam reatividades diferentes a tratamentos cosméticos e água. Há duas vias de difusão principais para o interior da fibra (WAGNER; JOEKES, Ines, 2006):

- transcelular – na qual as substâncias penetrariam para o interior do cabelo através da cutícula;
- intercelular – a difusão ocorreria entre as cutículas, ou seja, pelo complexo da membrana celular.

A via intercelular é preferida por processos cosméticos, pois considera que a difusão se dá a partir de componentes pobres em ligações cruzadas dissulfídicas derivadas da cistina, para os componentes mais ricos. Estudos mostram que a difusão para o interior da fibra é mais rápida quando o cabelo está danificado (há menos pontes dissulfídicas na estrutura do cabelo) (WAGNER; JOEKES, Ines, 2006).

### **2.1.2. Córtex**

A fibra capilar é composta, em massa, em sua maior parte, pelo córtex. Ele é o responsável pelas propriedades mecânicas da mesma.

O córtex é composto pelas células corticais, matriz intermacrofibrilar e complexo da membrana celular. As células corticais têm diâmetro que varia de 1 a 6  $\mu\text{m}$  e comprimento de cerca de 100  $\mu\text{m}$ , alinhadas paralelamente ao eixo da fibra, e elas contêm grânulos de melanina dispersos, que são os responsáveis pela coloração do cabelo (WAGNER; JOEKES, Ines, 2006).

As macrofibrilas são as componentes majoritárias das células corticais e têm forma de espiral, com diâmetro de 0,1 a 0,4  $\mu\text{m}$  (BHUSHAN, 2010). Cada macrofibrila é constituída de filamentos cristalinos intermediários arranjados em  $\alpha$ -hélice, denominados microfibrilas e de uma matriz amorfa (BHUSHAN, 2010; PAULA; JOEKES, Inés, 2001).

O complexo da membrana celular é formado por membranas celulares e um material que une a cutícula e as células corticais (BHUSHAN, 2010).

### **2.1.3. Medula**

A medula no cabelo humano nem sempre está presente, mas, quando está, não representa uma grande porcentagem em massa do cabelo. Também não contribui significativamente para as propriedades mecânicas.

## **2.2. Mineralograma capilar**

### **2.2.1. Histórico**

No cabelo, é possível encontrar todos os minerais que estão presentes no corpo humano. O mineralograma capilar reflete a quantidade de elementos essenciais, não essenciais e tóxicos que estão presentes no organismo. A coleta é rápida e indolor, sendo necessário apenas coletar uma amostra de cabelo da região próxima à nuca, aproveitando só os 3 primeiros centímetros da mecha.

Algumas informações que podem ser obtidas através da determinação dos elementos no cabelo, resumidas na Tabela 1. Mas é importante considerar ainda o parecer médico, os hábitos de vida e a alimentação. Não se deve superinterpretar a tabela, pois ela apresenta apenas algumas das possíveis interpretações da variação da concentração dos elementos.

Tabela 1 - Problemas ocasionados por excessos ou faltas de elementos no organismo. n/d = não determinado; < LD = abaixo do limite de detecção. (CAMPBELL (2001), XIA et al. (2004), TORRENTE; COLOMINA; DOMINGO (2005), MIEKELEY et al. (2001), LANGLEY; DAMERON (2013)).

<b>Elemento</b>	<b>Excesso</b>	<b>Falta</b>	<b>Intervalo de Referência (CARNEIRO et al. 2002) (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>
Al	Problemas neurológicos, depressão, impotência sexual.	-	< 14
As	Astenia, diarreia, problemas renais.	-	
Ba	Inibição na absorção de cálcio, vitamina C, entre outros.	-	< 3,0
Be	Depleção de magnésio.	-	
Bi	Problemas no sistema nervoso central.	-	n/d
Cd	Artrite, osteoporose, hiperatividade infantil, entre outros.	-	< 0,27
Pb	Irritabilidade, agressividade, sangramentos, perda da capacidade de memória, dificuldade de aprendizagem, entre outros.	-	< 10
Ca	Doença periodontal, litíase renal.	Problemas ósseos, distúrbios gastrointestinais.	180 - 660
Cu	Oxidação de vitamina A, perda de vitamina C, dores musculares e nas juntas.	Lesões pancreáticas, calvície, doenças do fígado	10 – 35
Cr	Dor de cabeça, insônia, diarreia, anemia, insuficiência renal.	Desnível da insulina.	< 0,32
Fe	Cirrose, diabetes, insuficiência cardíaca.	Cansaço excessivo, queda de cabelo, falta de apetite, entre outros.	0,15 – 1,0
P	Hipertensão, confusão mental.	Dor nos ossos, falta de apetite, taquicardia, entre outros.	160 – 250
Li	Tremores nos membros inferiores e superiores, fraqueza, edemas nos membros.	-	< LD
Mg	Pressão baixa, náuseas, insuficiência respiratória, boca seca.	Doenças nas articulações e musculares, hipertensão arterial, entre outros.	12 – 60

<b>Elemento</b>	<b>Excesso</b>	<b>Falta</b>	<b>Intervalo de Referência (CARNEIRO <i>et al.</i> 2002) (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>
Mn	Pode atuar no crescimento de células cancerígenas.	Perda de peso, náusea, afeta o metabolismo de carboidratos.	0,15 – 1,0
Hg	Danos renais, na medula óssea, no aparelho respiratório, entre outros.	-	< 2,4
Mo	Dores articulares e alterações no ácido úrico.	-	0,02 – 0,05
Ni	Vertigem, fraqueza, alergias.	-	< 0,7
Au	Danos renais, distúrbios gastrointestinais, lesões na pele.	-	0,002 – 0,09
Pd	Dificuldades na respiração, urticárias, tosse, secreção nasal.	-	
K	Batimentos cardíacos irregulares, náusea, vômito.	Irritabilidade, fraqueza, hiperglicemia.	n/d
Se	Irritação respiratória, diarreia, irritabilidade, cansaço, dor nas articulações.	-	
Na	Hipertensão, cálculo renal, entre outros.	Problemas no sistema nervoso e muscular.	n/d
V	Perda de apetite, irritação do trato respiratório.	Fadiga, cansaço.	0,006 – 0,04
Zn	Dores de cabeça, vômitos, diarreia.	Problemas alérgicos, baixa imunidade.	138 – 240

A primeira análise de cabelo foi publicada em 1858 por Hoppe, em um estudo sobre a determinação de arsênio nos cabelos de cadáveres exumados 11 anos depois do sepultamento. Mais tarde, em 1945, Flesch propôs a utilização de cabelo como material de biópsia para determinar elementos traço no corpo humano, por entender que este funciona como um órgão excretor. Com o tempo, a análise de cabelo foi deixada de lado por conta das dificuldades de interpretação, sendo as análises de sangue e urina preferidas para diagnósticos. Alguns anos depois, em 1979, o trabalho de Baumgartne revolucionou a área de determinação de drogas em cabelo, determinando a concentração de opiáceos (drogas derivadas do ópio que diminuem a dor e aumentam o sono) através de extração com metanol e detecção por radioimunoensaio (POZEBON; DRESSLER; CURTIUS, 1999).

Na década de 1980, com a aplicação de novas técnicas analíticas, em especial a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS), a

espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), surgiram novos horizontes para a análise de cabelo. O problema é que, como se tornou possível quantificar elementos traço, houve uma supervalorização da análise de cabelo, o que desencadeou alguns diagnósticos equivocados (POZEBON; DRESSLER; CURTIUS, 1999).

Desde então, o mineralograma é feito em larga escala, mas há de se ter cautela com a interpretação dos resultados. Apesar de haver muitos dados na literatura, há discrepância dos resultados, pois é difícil diferenciar entre contaminações exógenas e endógenas. Outro fato importante é que não há procedimentos de análise padronizados em todo o mundo, e nem controle de qualidade da análise em escala global, mas há materiais e procedimentos certificados para coleta e preparo de amostras.

O trabalho de KHALIQUE *et al.* (2005) foi norteado por uma comparação envolvendo voluntários de ambos os sexos, com idade entre 3 e 100 anos, sendo moradores de uma área rural no Paquistão. Os metais Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Co, Cr e Ni foram determinados por ICP OES. Nesse estudo, foi observado que a concentração de Ca, Fe, Zn e Mg diminuía consideravelmente com o aumento da idade, no caso dos homens. Segundo os pesquisadores, no cabelo das pessoas mais idosas, havia acúmulo de Cu, Co e Cr. Nas voluntárias, foram encontrados níveis elevados de Ca, Mg, Zn e Cu, o que os autores justificam como uma retenção metabólica no processo de envelhecimento. O Co foi o único que demonstrou dependência negativa com a idade. Fizeram ainda a consideração de todas as amostras com respeito ao aumento da idade, e apenas as concentrações de Ca e Fe diminuíram. Os voluntários desse estudo não haviam sido nem estavam expostos a poluentes ambientais comparados aos das grandes cidades.

RAPOSO *et al.* (2014) fizeram a pesquisa na região norte da Espanha, entre homens e mulheres, considerando idade e hábitos alimentares ou o fato de ser, ou não, fumante. O grupo estudou 22 elementos: As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, V e Zn, e utilizou técnicas de ICP-MS e ICP OES para realizar a análise. A concentração dos elementos, para os homens, ficou em uma faixa mais estreita que a das mulheres para todos os elementos. Os elementos essenciais (Al, Ca, K, Sr, Na e Zn) apresentaram concentrações acima de 100 mg kg<sup>-1</sup>. Os metais que excederam 10 mg kg<sup>-1</sup> foram: Mg, Fe e Cu. Outros



metais com concentrações maiores que  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  foram: Hg, Ni e Ti. As menores concentrações foram encontradas para Mn, Pb, Cr, Cd e As. Uma conclusão importante a respeito desse estudo, e avaliada através de componentes principais, é que os voluntários do sexo masculino foram classificados de acordo com metais originários do ambiente, enquanto as mulheres ficaram agrupadas segundo influência dos metais provenientes de tratamentos capilares (Ti, por exemplo, de tinturas) ou dos hábitos alimentares (Hg, proveniente de uma alimentação rica em peixes).

A utilização do cabelo como material para biomonitoramento é objeto de estudo de vários trabalhos, como o trabalho desenvolvido pelo grupo de YADAV; PILLAY; JHA (2014), em uma região rural na Índia. Eles estudaram a exposição dos voluntários a Cr, Fe, Ni, Cu, Zn e Pb e encontraram valores elevados apenas de Pb, em alguns deles, quando comparados com valores de outros doadores de uma grande cidade da Índia (Delhi).

A pesquisa de SAMANTA *et al.* (2004) foi focada em pessoas que estavam expostas a uma área afetada por arsênio. Foram determinados ainda outros elementos: Se, Hg, Pb, Ni, Cd, Mn, Cu e Fe, por ICP-MS. Foram encontrados altos níveis de As, Mn, Pb e Ni, elementos tóxicos provavelmente originados por consumo de água e comida da região. Eles observaram o efeito de outros elementos na toxicidade do As. Foram encontradas baixas concentrações de Zn e Se, e altas de Mn, Ni e Pb, mas as interações com arsênio ainda precisam ser melhor estudadas. O estudo mostrou a importância de um monitoramento frequentemente para avaliar possíveis envenenamentos por arsênio.

SENOFONTE; VIOLANTE e CAROLI (2000) estudaram jovens de 3 a 15 anos de idade de várias regiões urbanas de Roma e analisaram alguns elementos, fazendo as medidas em ICP OES: Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Se, V e Zn, além do potencial tóxico de Al, As, Cd, Sr, Pb e Ti. Assim como em outros trabalhos, formaram subgrupos de sexo e idade e perceberam diferença significativa de alguns elementos com estes. Em relação ao sexo, não houve variação para a maioria dos elementos, exceto Ca, Mg, Sr, Ni e P. Níquel está presente na enzima arginase e P é o elemento constituinte dos ossos; então, é esperado que sofra alguma influência em função do sexo. Já Ca é um constituinte dos ossos e tem grande importância na contração muscular; Mg participa do processo de transporte através da membrana celular, carreando Na e K no sistema neuromuscular; Sr é um

indicador de quedas e absorções de radionuclídeos no organismo. Estes têm seus efeitos mais elevados considerando homens e mulheres, com suas diferenças metabólicas. Considerando o subgrupo idade, é interessante observar que eles encontraram diferenças estatísticas significativas quando estudaram grupos de 3 a 6, 7 a 10 e 11 a 13 anos. Ainda considerando idade e sexo simultaneamente, obtiveram as seguintes conclusões:

- Para homens, houve tendência de aumento com a idade, para Ca, Co, Mg, P e Zn. Já para as mulheres, houve aumento nas concentrações de Ca, Cu, P e Zn.

- Para homens, houve pouca variação com a idade, para As e Mn; e, para mulheres: Cu, Fe e Mn.

DONGARRA *et al.* (2011) mediram 18 elementos (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Sr, U, V e Zn) em 137 crianças com idade entre 11 a 13 anos na Itália. Na classificação por gênero, houve diferença estatística em: Al, Ba, Cr, Li, Rb, Sb, Sr, V e Zn. Nos cabelos das meninas, as concentrações de Al, Ba, Sr e Zn estavam estatisticamente mais elevadas que nos meninos; já no caso deles, Cr, Li, Rb, Sb e U estavam maiores. Segundo os autores, não há explicações para o teor elevado de Al nas garotas, todavia, os outros metais podem ser devido às alterações que ocorrem na puberdade, na massa óssea e na composição corporal. Os elementos com taxas mais altas nos meninos (Cr, Li, Rb, Sb e U) foram justificados como reflexo das atividades que costumam exercer fora de casa como, por exemplo: correr, andar de bicicleta, etc., em comparação com as meninas, que costumam brincar mais dentro de casa. De forma geral, os resultados desse estudo e de SENOFONTE; VIOLANTE e CAROLI (2000) convergem. Apesar dos valores mais elevados no estudo realizado em Roma, as diferenças mais significativas foram para Pb (elevado no estudo em Roma) e Sr (menor no estudo em Roma). A taxa elevada de Pb foi atribuída a aditivos a base de Pb na gasolina na época da coleta dos cabelos, tanto que há estudos posteriores nos quais os níveis de Pb decresceram. Já os níveis baixos de Sr na região de Roma são devidos às características morfológicas entre a cidade e Palermo.

MARTORELL *et al.* (2015) também estudaram os cabelos de crianças de 10 a 13 anos que moravam próximas a um incinerador de resíduos perigosos na região da Catalunha. Eles mediram os níveis de As, Be, Cd, Cs, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb, Sn, Tl, U e V, utilizando ICP-MS. As maiores concentrações obtidas foram de Cr, Pb e Hg, enquanto As, Be, Cs, Tl e V ficaram abaixo do limite de detecção em todas as

amostras. Os resultados foram comparados com pesquisas realizadas na mesma área entre 1998 e 2012 e observada diminuição significativa de Cd, Hg, Mn, Ni, Pb e Sn, sendo que apenas Cr apresentou concentração elevada, resultado este que se revelou correspondente à análise do solo da vizinhança. Dessa maneira, a emissão dos metais sobre a exposição humana não foi relevante naquele local.

Um estudo realizado na Índia considerando faixas etárias e sexos diferentes foi realizado por RAO *et al.* (2002) para determinação de Fe, Co, Ni, Mn, Zn, Cu, Cd e Pb utilizando ICP-MS. Observou-se que não houve variação entre gênero e idade para Ni, Cd e Pb, mas houve aumento com a idade para Fe, Mn, Zn e Cu e diminuição somente para Co. Houve algumas anormalidades na concentração de Pb em algumas amostras, o que pode ser devido à diferença geográfica, uma vez que foram coletadas amostras em diferentes cidades na Índia. A variação no Pb pode ser explicada pela variação de poluição em cada cidade. Os resultados encontrados foram corroborados por outros trabalhos baseados na população indiana.

Niska Banja, no sul da Sérvia, foi a área de estudo de SAHOO *et al.* (2015) para determinar U, Th, Mn, Ni, Cu, Sr, Cd e Cs por ICP-MS, comparando resultados obtidos em cabelos e unhas. Apesar de terem composições semelhantes, os resultados de cabelos e unhas não se relacionaram. A baixa correlação pode ser devido à utilização de tratamentos estéticos nos cabelos e utilização de cosméticos nas unhas, como esmaltes, por exemplo. Em relação aos elementos, apenas o Th apresentou taxas elevadas tanto nos cabelos quanto nas unhas, embora os níveis tenham sido normais no solo. Os autores levantaram algumas hipóteses a respeito, como utilização de água de poço para consumo ou cocção de alimentos, consumo de vegetais produzidos na região e exposição à poeira. Essas possibilidades foram descartadas: os voluntários indicaram que não utilizavam água de poço; o Th no solo apresentou concentrações normais, então, não haveria motivo para os vegetais estarem com concentração aumentada desse metal, e, como sua concentração estava normal no solo, não haveria motivo para ocorrer concentração elevada na poeira ressuspendida. Por fim, provavelmente há outro motivo que eles não identificaram.

Diferentemente de outros locais e estudos, CARNEIRO *et al.* (2002) estudaram amostras de cabelo de 1775 voluntários da cidade do Rio de Janeiro e encontraram baixa influência do gênero nos resultados. No entanto, detectaram que a idade e região de onde o cabelo era coletado eram fatores significativos. Há ainda comparações ao longo do trabalho entre laboratórios internacionais e outros

estudos. A partir disso, pode-se observar que ocorrem discrepâncias significativas para alguns elementos, o que pode ser motivado por fatores ambientais, alimentação, geoquímica, dentre outros.

### **2.3. Determinação multielementar em cabelo por ICP-MS**

A revisão bibliográfica foi focada nas técnicas com plasma indutivamente acoplado, pois esta é a técnica empregada na grande maioria dos trabalhos envolvendo mineralograma, devido às suas vantagens, que envolvem análise multielementar sequencial rápida de alta sensibilidade.

A técnica de ICP-MS mescla uma fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP) a altas temperaturas com um espectrômetro de massa (MS). O princípio da técnica consiste na ionização química para gerar íons carregados positivamente, sua separação através das razões massa-carga ( $m/z$ ) e quantificação. O princípio fundamental utilizado no ICP-MS é um plasma com temperatura elevada, que gera íons positivamente carregados.

ICP-MS é uma técnica analítica utilizada para determinar elementos e é utilizada em diversas áreas distintas, como laboratórios de análise geoquímica, área ambiental, biológica e de alimentos. É largamente utilizada por ser um método multielementar, seletivo, com baixo limite de detecção e rápida detecção.

São 5 as partes principais do ICP-MS: sistema de injeção de amostras, ICP, interface, sistema analisador e sistema de detecção de íons.

#### **2.3.1. Introdução de amostras**

As amostras podem ser introduzidas no estado sólido, líquido ou gasoso. A maneira mais utilizada é a líquida, que tem como vantagem o fato de ser homogênea e de fácil manipulação.

O componente mais crítico do espectrômetro de ICP-MS é o de introdução da amostra por nebulização pneumática, com o qual apenas 1-2 % da amostra atinge o plasma. O mecanismo de introdução da amostra líquida pode ser dividido em 2 etapas separadas: geração do aerossol utilizando o nebulizador e a seleção de gotículas.

A amostra líquida é, geralmente, bombeada através de uma bomba peristáltica à velocidade aproximada de  $1 \text{ mL min}^{-1}$  para o nebulizador. Depois que a amostra entra no nebulizador o líquido é quebrado em um aerossol fino através do fluxo de gás (taxa aproximada de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ ). O fluxo de argônio carrega o aerossol até a tocha do ICP, onde é dessolvatado, vaporizado, atomizado e ionizado.

A câmara de nebulização tem, como objetivo primário, permitir que haja apenas a presença de pequenas gotículas no plasma para dissociação, atomização, e finalmente, ionização dos componentes elementares da amostra. O objetivo secundário é de atenuar os pulsos que venham a ocorrer durante o processo de nebulização (em razão da bomba peristáltica).

No processo de seleção do tamanho da gotícula na câmara de nebulização, as gotículas percorrem o comprimento do tubo, onde as maiores (acima de, aproximadamente,  $10 \text{ }\mu\text{m}$  de diâmetro) são condensadas e saem através do tubo de drenagem, na extremidade da câmara de nebulização. As gotículas menores (entre  $5$  a  $10 \text{ }\mu\text{m}$  de diâmetro) emergem da câmara de nebulização e são transportadas para dentro do injetor de amostra do plasma.

### **2.3.2. Fonte de plasma: geração dos íons**

O plasma é um gás com átomos neutros, elétrons e íons positivos livres. Ele é gerado na tocha, que consiste de 3 tubos concêntricos de quartzo para o transporte de gás.

O argônio é geralmente utilizado para formar o plasma. Ele passa entre os tubos externos e do meio com fluxo aproximado de  $12$  a  $17 \text{ L min}^{-1}$ . Outro fluxo de gás, um gás auxiliar, passa entre o tubo intermediário e o injetor de amostra, à taxa aproximada de  $1 \text{ L min}^{-1}$ , para resfriar e deslocar o plasma, evitando assim que a tocha seja danificada. Um terceiro gás, o nebulizador, também à taxa de  $1 \text{ L min}^{-1}$ , carrega a amostra em forma de aerossol (THOMAS, 2001).

A tocha é adaptada a uma bobina de indução, resfriada por água ou argônio e alimentada por um gerador de radiofrequência (RF), normalmente na horizontal na maioria dos equipamentos, a uma distância de  $10$ - $20 \text{ mm}$  da interface. Um campo magnético oscilante é gerado através da corrente de RF que circula através da bobina, e este produz uma região de indução. Uma faísca inicia o processo de ionização do fluxo de argônio, onde os íons e elétrons livres ficam oscilando e

colidem com outros átomos de argônio, produzindo assim mais íons e chegando a temperaturas de 7500 a 8000 K, nas regiões mais quentes. Quando é atingida a temperatura de ionização, o processo continua sozinho e o plasma é formado.

### 2.3.3. Interface

A interface acopla a tocha do ICP ao analisador (espectrômetro de massas). Vale ressaltar que o primeiro opera à pressão atmosférica e o segundo precisa de pressões menores que  $10^{-4}$  Torr, por isso é necessária a interface, para que os íons formados no plasma cheguem ao sistema de alto vácuo, onde estão a lente iônica e o quadrupolo.

A interface consiste em dois cones: o amostrador e o *skimmer*, que são metálicos com um pequeno orifício (aproximadamente 1 mm) no centro. Os íons entram pelo orifício do amostrador e, por conta da baixa pressão desta zona, há expansão e aceleração da nuvem iônica e, conseqüentemente, seu esfriamento. Uma parte do gás passa pelo furo do *skimmer* e, em seguida, para uma câmara com a mesma pressão do espectrômetro de massas. O sistema de lentes magnéticas iônicas rejeita as moléculas gasosas neutras e íons com carga negativa, uniformizando e focalizando o feixe de íons para direcioná-los ao analisador de massas.

### 2.3.4. Analisadores de massa quadrupolares

Quando os íons entram no espectrômetro de massas, eles são separados pelas suas razões massa-carga ( $m/z$ ). O quadrupolo é o analisador mais utilizado e consiste de quatro hastes condutoras, paralelas, equidistantes e mantidas numa configuração duas a duas. Nesse analisador aplica-se correntes de voltagens alternadas e contínuas no par de hastes opostas. Essas voltagens são rapidamente alternadas junto com um campo de RF e, como resultado, tem-se um filtro eletrostático, onde apenas íons de determinada  $m/z$  chegam ao detector em um determinado momento.

### 2.3.5. Detector

A função principal do detector é traduzir a quantidade de íons que chega em um sinal elétrico que possa ser mensurado e relacionado ao número de átomos do

elemento presente na amostra, através do uso de padrões de calibração. Quando o íon atinge uma superfície ativa do detector (diodo), uma quantidade de elétrons se desprende para, em seguida, atingir outro diodo e, assim por diante, amplificando o sinal.

### **2.3.6. Interferências**

A técnica de ICP-MS pode sofrer interferências espectrais e não espectrais.

#### **2.3.6.1. Interferências espectrais**

Ocorre quando há alguma espécie iônica no plasma com a mesma razão  $m/z$  do íon do analito. São classificadas de acordo com o tipo de íon interferente, conforme apresentado a seguir.

##### **2.3.6.1.1. Isobáricas**

A sobreposição isobárica ocorre quando dois elementos possuem massas coincidentes, mas raramente isso é motivo para impedir uma determinação, já que a maioria dos elementos possuem de 1 a 3 isótopos que estão livres da sobreposição isobárica. Apenas o índio é uma exceção: ele possui dois isótopos estáveis  $^{113}\text{In}$  e  $^{115}\text{In}$ , sendo que o primeiro se sobrepõe ao  $^{113}\text{Cd}$  e o segundo, ao  $^{115}\text{Sn}$ . Geralmente, esse tipo de interferência ocorre no isótopo mais abundante, e se faz necessário a utilização do segundo isótopo mais abundante. O maior problema, neste caso, é se o isótopo escolhido for de abundância muito pequena e a concentração a ser determinada muito baixa. Como as razões de abundância são bem conhecidas e estáveis para a maioria dos elementos, os instrumentos comerciais possuem correções matemáticas em seus programas de computador, bastando apenas aplicar a correção apropriada (NAVARRO, 2004; SANTOS, 2007; VEIGA, 2000).

##### **2.3.6.1.2. Íons poliatômicos**

As espécies mais abundantes do plasma e na matriz do analito (Ar do gás de arraste, O e H da água e ácidos, N, S e Cl, dos ácidos utilizados na preparação da amostra) podem se combinar entre si e gerar espécies poliatômicas. Os íons moleculares formados podem causar interferências, particularmente em elementos

de razão  $m/z$  abaixo de 82. Esta é uma das principais causas dos baixos limites de detecção nesta faixa de massa. Algumas das interferências atômicas mais sérias são:  $^{14}\text{N}_2^+$  com  $^{28}\text{Si}^+$ ,  $\text{NOH}^+$  com  $^{31}\text{P}^+$ ,  $^{16}\text{O}_2^+$  com  $^{32}\text{S}^+$ ,  $^{40}\text{ArO}^+$  com  $^{56}\text{Fe}^+$  e  $^{40}\text{Ar}_2^+$  com  $^{80}\text{Se}^+$  (SANTOS, 2007). Na interferência do  $^{40}\text{ArO}^+$  com  $^{56}\text{Fe}^+$ , é possível diminuir a formação do íon poliatômico interferente com o uso do “plasma frio”, que faz a ionização do Ar diminuir (SANTOS, 2007). Geralmente a remoção dos interferentes é mais efetiva que os procedimentos de correção (SANTOS, 2007; VEIGA, DA, 2000), mas é possível corrigir algumas interferências com:

- 1) uso de um branco,
- 2) uso de um isótopo diferente do analito,
- 3) correções matemáticas,
- 4) ajuste experimental das condições do plasma,
- 5) dessolvatação,
- 6) introdução de um gás alternativo,
- 7) separação cromatográfica, entre outros.

#### **2.3.6.1.3. Íons de dupla carga**

Como os íons são filtrados no analisador de massas com base na razão  $m/z$ , os íons de dupla carga aparecerão no espectro com metade da massa do íon desejado. Desta forma, pode ocorrer perda de sinal e causar interferência em isótopos de massas semelhantes. Os elementos que estão mais suscetíveis a isso são os alcalinos terrosos, alguns metais de transição e os terras-raras, já que possuem baixo potencial de ionização. O controle desta situação pode ser realizado aumentando a vazão do gás (resfriando o plasma) ou diminuindo a potência da radiofrequência (VEIGA, 2000).

#### **2.3.6.1.4. Espécies óxido e hidróxido**

É o tipo de interferência mais sério que pode ocorrer, envolve óxidos e hidróxidos formados pelo analito, pela matriz dos componentes, pelos gases do plasma e pelo vapor de água transportado (porque o analito pode ser atomizado em meio a excesso de átomos de oxigênio). A quantidade de água introduzida no plasma também poderá afetar o equilíbrio do mesmo.



O controle da resposta de óxidos em uma análise é determinado pela razão  $MO^+/M^+$ , onde M representa o analito ou o elemento de matriz, e dependem de parâmetros de operação como potência do plasma, velocidade do fluxo do gás carreador, distância entre a bobina de RF e o cone amostrador, assim como o tamanho dos orifícios dos cones (amostrador e *skimmer*) (NAVARRO, 2004). A otimização dos parâmetros instrumentais, o uso de plasma de alta potência e a baixa velocidade de fluxo de gás carregador para aumentar o tempo de residência são caminhos para reduzir e controlar a produção das razões de óxidos para níveis menores que 0,02 (2 %) (NAVARRO, 2004).

A eliminação ou remoção dos óxidos é fundamental, pois se relaciona com a força de ligação entre o metal e o oxigênio. Um exemplo são os cinco isótopos naturais de Ti:  $^{46}\text{Ti}$ ,  $^{47}\text{Ti}$ ,  $^{48}\text{Ti}$ ,  $^{49}\text{Ti}$ ,  $^{50}\text{Ti}$ , cujos óxidos correspondentes ( $^{16}\text{O}$ ) se sobrepõem às massas dos respectivos analitos:  $^{62}\text{Ni}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Zn}$ ,  $^{65}\text{Cu}$  e  $^{66}\text{Zn}$  (SANTOS, 2007; VEIGA, 2000).

### 2.3.6.2. Interferências não espectrais

São devidas ao comportamento físico e químico dos elementos da matriz e analitos em vários locais: no sistema de introdução da amostra, no plasma, na região de interface e nas lentes, incluindo efeitos de transporte, equilíbrio de ionização e amostragem de íons.

Os elementos presentes na matriz com concentrações entre 500 a 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (SANTOS, 2007) causam as maiores interferências de efeito de matriz. Este efeito pode causar redução (o mais usual) ou aumento do sinal do analito (VEIGA, 2000). O efeito de matriz depende da quantidade do elemento causador da interferência, assim, é possível reduzi-lo utilizando a amostra diluída, alterando o procedimento de introdução da amostra, separando espécies interferentes ou utilizando padrões internos (NAVARRO, 2004; SANTOS, 2007; VEIGA, 2000).

O efeito de memória decorre da lenta diminuição do sinal - da ordem de 0,1 % do sinal total - quando a solução do analito é substituída pelo branco (VEIGA, 2000). Alguns elementos apresentam esta interferência após a passagem de amostras mais concentradas, devido à aderência a partes do sistema de introdução de amostras (SANTOS, 2007), ou excesso de analito nas paredes a câmara de

nebulização, que torna-se pior para componentes mais voláteis da solução, como os compostos de Hg, Pb, Cd, Li ou I (VEIGA, 2000).

As interferências de transporte ocorrem por diferenças nas propriedades físico-químicas das soluções de amostra e analítica que afetam a vazão de aspiração e a nebulização das soluções, como viscosidade, densidade e tensão superficial, além do depósito de sólidos no orifício do cone amostrador. Para minimizá-las pode-se recorrer à diluição da amostra, separação do analito da matriz, matrização, ou seja, preparar soluções padrões que mimetizem ao máximo a composição da matriz da amostra, utilização de padrões internos e técnica de adição de analito (BARBOUR, 2011).

A supressão de sinal, ou interferências de ionização, pode ocorrer quando o excesso de elemento facilmente ionizável na amostra diminui a ionização do analito. O contrário também pode acontecer, como quando se tem excesso de carbono. Para minimizar essa interferência pode-se realizar a diluição isotópica ou separar o analito da matriz.

Efeito espaço-carga é outra possível interferência, onde elementos muito pesados são preferencialmente focalizados em detrimento dos elementos leves. Evita-se esta possível interferência através da diluição da amostra, diluição isotópica e separação do analito da matriz (BARBOUR, 2011).

## **2.4. Testes estatísticos**

As análises químicas vêm se desenvolvendo bastante ao longo dos anos, com o avanço de tecnologias ópticas, mecânicas e de microeletrônica, além do uso crescente da computação para a geração e o tratamento dos dados. Isso traz um grande desafio para os químicos em suas pesquisas. Uma grande quantidade de dados é gerada a partir dos equipamentos. Entretanto, para obter dados de melhor qualidade e extrair o máximo de informações significativas, é preciso lançar mão de técnicas matemáticas e testes estatísticos.

A apresentação dos dados, em geral, é feita na forma de tabelas. E, quando é preciso criar várias colunas de dados, ou seja, muitas variáveis para uma mesma amostra, é mais difícil usar gráficos para obter conclusões, pois, para cada variável, seria necessária uma dimensão. Desta forma, é preciso utilizar técnicas estatísticas

multivariadas, que permitem a apresentação de dados multivariados através da redução do número de dimensões.

A Análise de Componentes Principais (PCA) é a técnica estatística mais utilizada, muitas vezes servindo de ponto de partida para outras técnicas multivariadas.

Para o tratamento dos dados, primeiramente, é importante verificar o tipo de estatística a ser usada. Existem dois tipos de estatística: a estatística paramétrica e a estatística não paramétrica.

A estatística paramétrica presume que os dados de uma amostra seguem uma distribuição de probabilidade, fazendo assim inferências para uma população. Na estatística paramétrica, a distribuição normal é considerada como um dos modelos estatísticos mais importantes e tantos dados foram, e são, adequadamente descritos por esta distribuição que, no passado, chegou-se a pensar que ela representaria o comportamento natural de qualquer tipo de erro experimental e que, se os erros não seguissem uma gaussiana, a coleta de dados não havia sido feita de forma apropriada. Ou seja, é desejável que os dados tenham pequena variação em torno de uma linha central. Entretanto, atualmente, já se conhecem várias situações, com a coleta de dados realizada de forma apropriada, em que a estatística paramétrica não é válida.

A estatística não paramétrica trata dos dados que não satisfazem as suposições assumidas pelas técnicas tradicionais. Ela não especifica condições sobre os parâmetros da população da qual a amostra foi obtida. O uso de testes não paramétricos pode fornecer vantagens ao pesquisador, pois estes são menos exigentes e mais eficientes do que os métodos paramétricos quando a população não tem uma distribuição normal. Quando a população é normalmente distribuída, sua eficiência, em alguns casos, é levemente inferior à paramétrica. Estes testes dispensam a normalidade dos dados e independem da forma da população da qual a amostra foi obtida e são, em geral, de mais fácil aplicação. Entretanto, a estatística não paramétrica, em geral, não leva em consideração a magnitude dos dados, transformando valores para simples ordem ou sinais. Em muitos casos isso se traduz num desperdício de informações. Para minimizar esta restrição e obter eficiência, devem ser usados para um número maior de amostras, como é o caso deste trabalho.

### **2.4.1. Testes não paramétricos**

Em casos onde não é possível garantir a simetria e normalidade da distribuição, pode-se lançar mão de testes não paramétricos. Eles podem ser utilizados quando os dados puderem ser ordenados por ordem de grandeza, ou classificados em categorias (dados qualitativos).

#### **2.4.1.1. Teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors e teste de Shapiro-Wilk**

Esses testes averiguam se uma amostra pode ser considerada vinda de uma população com uma determinada distribuição e é utilizado para distribuições contínuas.

São testadas as hipóteses:

$H_0$ : a população tem uma determinada distribuição  $D$ ;

$H_1$ : a população não tem uma determinada distribuição  $D$ .

A hipótese testada neste trabalho foi a de que a distribuição é normal e como consequência da utilização das estimativas, o teste tende a aceitar a hipótese  $H_0$  mais vezes do que deveria. Para contornar esta situação, foi proposta a utilização da correção de Lilliefors quando a distribuição em teste é normal (MARTINS, [s.d.]).

Nas amostras com dimensão igual ou maior que 30, aconselha-se o teste de Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors; para amostras de dimensão mais reduzida é mais indicado o teste de Shapiro-Wilk.

O p-valor é o menor nível de significância com o qual a hipótese nula não seria rejeitada. Caso seja igual ou maior que 0,2, é aceita a hipótese de normalidade da população (hipótese nula).

#### **2.4.1.2. Teste de Mann-Whitney U**

Este teste compara dois grupos e avalia a igualdade das medianas de duas populações contínuas e independentes, onde as amostras não precisam ter a mesma dimensão. A hipótese nula em teste seria a igualdade das medianas, e a hipótese alternativa, a diferença.

O teste t não é aconselhável quando se trabalha com amostras pequenas e quando se tem dúvidas sobre a normalidade dos dados, ou ainda quando as variâncias não são homogêneas. Outro problema de utilização deste teste é o caso de haver algum *outlier* no grupo, que levaria ao aumento da média, podendo levar à rejeição da hipótese nula equivocadamente. Nestas situações, o teste não paramétrico de Mann-Whitney U é indicado.

A lógica do teste se baseia na ordenação dos dados por ordem crescente, juntando as amostras A e B num novo grupo denominado W e faz-se um *ranking* com as posições de cada valor das amostras. No caso de haver um mesmo valor em duas ou mais posições, faz-se a média destas posições e a utiliza. O cálculo ocorre da seguinte maneira (BARBOUR, 2011; MILLER; MILLER, 2010):

- Forma-se um outro conjunto (W) com os dados das duas amostras (A e B);
- O conjunto W é ordenado de forma crescente;
- Anota-se a ordem de cada elemento deste novo conjunto;
- Separa-se novamente as amostras em A e B
- Soma-se todas as posições da amostra A,  $T_A$
- Soma-se todas as posições da amostra B,  $T_B$
- Chama-se de  $T_{AB}$  a soma de  $T_A + T_B$
- Calcula-se U para cada amostra, sabendo que é a diferença entre o maior valor possível para T na amostra (é um valor calculado teoricamente) e o valor de  $T_A$ , que é observado.

Na hipótese nula espera-se que os valores de  $U_A$  e  $U_B$  se aproximem. Tendo um valor menor de U, há maior evidência de que as populações diferem, o motivo é que como U está relacionado à soma das ordens, seu valor será baixo se em uma amostra estiverem os primeiros da ordem e, como consequência, na outra estarão os de ordem superior (BARBOUR, 2011; “Inferential Statistics”) De forma geral, quanto menor o U, mais significativas serão as diferenças entre as ordens das situações.

#### **2.4.1.3. Teste de Kruskal-Wallis**

Utilizado para comparar 3 ou mais amostras independentes, indicando se há diferença entre pelo menos dois deles. É importante observar que o tamanho

mínimo de cada amostra deve ser de 6. Este teste apenas indica se há ou não diferença entre os grupos, mas não é capaz de mostrar quais são diferentes.

#### **2.4.1.4. Método de Dunn**

No caso de os grupos apresentarem diferenças no teste de Kruskal-Wallis (ou seja, rejeitar a hipótese nula) sabe-se que há, pelo menos, dois grupos diferentes. Este método é capaz de testar os grupos 2 a 2 para encontrar o que causou a rejeição da hipótese nula.

### **3**

## **Objetivo**

### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar mudanças significativas nos intervalos de concentração de elementos medidos em amostras de cabelos tratados com alisamento ou tintura, quando comparados com cabelos naturais.

### **3.2. Objetivos específicos**

- Gerar um banco de dados de amostras correlacionando-as com hábitos de vida;

- Estabelecer níveis de concentrações para elementos essenciais e tóxicos para o conjunto amostral;

- Avaliar os dados aplicando ferramentas estatísticas que indiquem correlações ou diferenças significativas entre as amostras com diferentes características.

## 4 Metodologia

### 4.1. Amostras de cabelo

O estudo foi realizado com 151 pessoas do Rio de Janeiro, de ambos os sexos, com ou sem tratamento cosmético nos cabelos, no período de fevereiro a agosto de 2016. Os voluntários foram selecionados ao acaso. Antes de coletar as amostras de cabelo, os voluntários preencheram um formulário relativo a questões referentes aos seus hábitos de vida, alimentação e se realizavam ou não algum tratamento cosmético nos cabelos (Anexo I). A faixa etária dos participantes foi de 4 a 88 anos, sendo 116 mulheres e 35 homens. A Tabela 2 resume as características dos voluntários. Todos os participantes concordaram em participar deste estudo e foram informados que seriam determinadas quantidades de elementos presentes em seus cabelos.

Tabela 2 - Resumo das características dos voluntários participantes.

	<b>Mulher</b>	<b>Homem</b>
<b>Total</b>	116	35
<b>Cor da pele</b>		
<b>Branco</b>	86	29
<b>Preto</b>	9	1
<b>Pardo</b>	21	5
<b>Tratamento cosmético no cabelo</b>		
<b>Sem tratamento</b>	31	34
<b>Tintura</b>	45	1*
<b>Alisamento</b>	15	0
<b>Tintura e Alisamento</b>	25	0

\* Amostra excluída por não ser significativa.

#### 4.1.1. Coleta das amostras

A amostra coletada dos voluntários é relativa a uma mecha de cabelo, da qual se utilizam os primeiros 3 cm a partir da raiz e descarta-se o restante.



As amostras de cabelo foram coletadas da região occipital, logo acima da nuca e rente à raiz do cabelo, utilizando tesoura de aço inoxidável, que foi descontaminada com etanol antes de cada coleta. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em sacos plásticos com a identificação do voluntário. Antes da lavagem das amostras dos cabelos, estas foram pesadas, em balanças analíticas diretamente nos tubos de polipropileno de 50 mL, com tampa. A massa de cabelo deveria ser de, pelo menos, 500 mg. O valor da massa do tubo de polipropileno com a amostra foi anotado e o cabelo foi, então, cortado em tamanho menor com a tesoura de aço inox. Prosseguiu-se com a lavagem dos cabelos.

#### **4.1.2. Lavagem do cabelo**

A lavagem foi feita utilizando água deionizada e acetona, alternadamente, mantendo-se em banho de ultrassom por dez minutos com cada solvente, repetindo-se este procedimento por mais duas vezes e encerrando-se a lavagem com acetona. Após, levou-se para secar em estufa a 60 °C por uma noite (período aproximado de 12 h). Pesou-se 250 mg das amostras ao décimo de miligrama.

#### **4.1.3. Preparo da amostra**

As amostras foram acidificadas com 2,5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado (sub-bidestilado). Deixou-se a decomposição ocorrer em temperatura ambiente por uma noite (aproximadamente doze horas). Em seguida, levou-se à chapa de aquecimento, à temperatura de 70 °C, por uma hora.

Após retirar os tubos da chapa e aguardar o tempo até atingirem a temperatura ambiente, utilizou-se um dispensador automático e avolumou-se com água até 25 mL. Procedeu-se, enfim, com a determinação dos elementos em ICP-MS.

## **4.2. Soluções analíticas**

As soluções utilizadas para construção das curvas analíticas foram preparadas a partir de soluções monoelementares de As, Hg e Se 1000 µg L<sup>-1</sup>, P 40 µg mL<sup>-1</sup>, Sn 1000 µg mL<sup>-1</sup>; Au 500 µg mL<sup>-1</sup>, V 500 µg L<sup>-1</sup> e Mo 500 µg L<sup>-1</sup>, além da solução Merck 23 - que é uma solução comercial composta por Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co,

Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Ni, Pb, Na, Ag, Sr, Tl, Zn - a  $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ ; Pd  $4000 \mu\text{g L}^{-1}$ ; Ge, Be e Sb  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ; U e Th  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ .

#### 4.2.1. Padrão interno

Foi empregada, como padrão interno, uma solução de Rh  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  adicionada em linha a todas as soluções: brancos, soluções analíticas e soluções das amostras.

#### 4.3. Análise por ICP-MS

O espectrômetro de ICP-MS utilizado para a determinação dos elementos foi de baixa resolução (quadrupolo), modelo DRC-II da PerkinElmer/Sciex. As condições operacionais e instrumentais estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros operacionais utilizados nas medidas por ICP-MS.

Vazão de argônio do plasma	$15,0 \text{ L min}^{-1}$
Vazão de argônio auxiliar	$1,0 \text{ L min}^{-1}$
Vazão de argônio do nebulizador	$0,90 - 1,10 \text{ L min}^{-1}$
Concentração do Rh	$40 \mu\text{g kg}^{-1}$
% de óxidos ( $\text{CeO}^+$ )	< 3 %
% de íons bivalentes ( $\text{Ba}^{2+}$ )	< 3 %
Fundo ( <i>background</i> ) em $m/z=220$	1 cps
Modos de varredura	<i>Peak-hop</i>
Tempo de permanência no pico ( <i>dwell time</i> )	60 ms
Varreduras por leitura	1
Número de replicatas	3
Potência da radiofrequência	1200 W

#### 4.4. Parâmetros analíticos de mérito

Para que se tenha confiança nas respostas analíticas obtidas, é preciso garantir que a metodologia seja reprodutível e exata. Para tal, foram avaliados os limites de detecção (LD), limites de quantificação (LQ) e exatidão de cada analito. A determinação desses parâmetros deu-se de acordo com as recomendações do

documento orientativo sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, do Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO, 2011).

#### 4.4.1. Linearidade das curvas analíticas empregadas

As curvas analíticas foram construídas em intervalos de concentração diferentes para diferentes grupos de analitos, conforme metodologia desenvolvida no Labspectro, baseada nos diversos trabalhos do grupo (Carneiro *et al.* 2002). Tendo os resultados de medida de cada analito em cada solução analítica, pode-se construir gráficos de intensidade de sinal (em contagens por segundo, cps), em função da concentração do analito, e traçar a melhor reta entre os pontos obtidos. A linearidade de cada reta obtida é estimada a partir da equação de regressão pelo método dos mínimos quadrados. A expressão matemática utilizada para o cálculo da concentração do analito é dada pela equação da reta obtida:  $y = mx + b$ , onde  $y$  = resposta medida;  $x$  = concentração;  $m$  = inclinação da reta;  $b$  = interseção com o eixo  $y$ .

Pode-se utilizar o coeficiente de correlação linear ( $R^2$ ) para indicar se uma reta pode ser adequada como modelo matemático. De acordo com o INMETRO, são aceitos valores acima de 0,90, e o método poderá ser considerado livre de tendências se o intervalo de confiança da reta de regressão linear contiver a origem (INMETRO, 2011).

#### 4.4.2. Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação instrumentais são dependentes da inclinação da curva analítica e foram calculados como 3 e 10 vezes, respectivamente, os valores de desvio-padrão das concentrações medidas no branco, conforme as Equações 1 e 2. Nestas equações, “ $S_b$ ” é o desvio padrão de 10 medidas de intensidade de sinal do branco e “ $m$ ” a sensibilidade (inclinação da curva de regressão linear).

$$LD = \frac{3 S_b}{m} \quad (1)$$

$$LQ = \frac{10 S_b}{m} \quad (2)$$

Para o limite de quantificação do método foi considerado o fator de diluição da amostra.

#### 4.4.3. Exatidão

É interessante utilizar o material de referência certificado (MRC), sempre que possível, para avaliação da exatidão de um método analítico. De maneira geral, um MRC possui um valor de concentração média e incerteza associada para cada elemento. Na avaliação dos resultados, comparam-se os valores obtidos no laboratório com os do certificado (INMETRO, 2011).

O MRC utilizado neste estudo foi o NCS DC73347a da *China National Analysis Center for Iron and Steel*, 2015, cujo certificado encontra-se no Anexo II. A exatidão foi avaliada através do cálculo de recuperação dos valores certificados. A recuperação analítica é definida como a porcentagem do valor obtido em relação ao valor certificado, como mostra a Equação 3. Para fins deste trabalho, serão considerados aceitáveis valores de recuperação entre 80 % e 120 %.

$$\frac{\text{valor observado}}{\text{valor esperado}} \times 100 \% \quad (3)$$

#### 4.5. Análise estatística dos resultados

As concentrações obtidas de cada elemento e as informações preenchidas no formulário por cada voluntário foram adicionadas a uma planilha no Microsoft Excel e analisados estatisticamente utilizando o *Statistica for Windows* (versão 6, da StatSoft Inc.).

Para tal, trabalhou-se com 2 grupos:

- o primeiro, composto apenas por mulheres que realizavam ou não algum tratamento capilar;
- o segundo, composto por mulheres e homens, todos com cabelos naturais, sem tratamento estético nos cabelos.

Foram gerados gráficos do tipo *box plot* para cada elemento nos grupos acima mencionados, separando-se entre “elementos essenciais e outros” e “elementos tóxicos”.

#### 4.5.1. Natureza estatística da distribuição das amostras

Para verificar se as amostras seguiam distribuição normal, ou não, utilizou-se os testes de Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors (K-S) e de Shapiro-Wilk (S-W), por meio do pacote estatístico *Statistica*. Os testes de normalidade foram realizados com grau de confiança de 95 % (nível de significância,  $\alpha$ , de 5 %).

A avaliação dos testes tem por base a análise dos valores p e  $\alpha$ , sendo  $\alpha$  o nível de significância. Quando o p-valor é menor que  $\alpha$  (neste trabalho  $\alpha = 0,05$ ) a hipótese nula é rejeitada e admite-se a hipótese alternativa, onde a amostra não segue distribuição normal.

#### 4.5.2. Gráficos do tipo *box plot*

Foram feitos gráficos do tipo *box plot* para todos os elementos analisados. Os valores extremos (discrepantes) foram retirados da visualização do gráfico sem perda da informação estatística envolvida. A Figura 1 mostra a interpretação do gráfico tipo *box plot*.



Figura 1 - Interpretação gráfica do gráfico do tipo *box plot*.

No estudo envolvendo mulheres e homens com cabelos naturais utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney U e observou-se se o p-valor possuía, ou

não, diferença estatística significativa entre os grupos. O nível de significância adotado ao longo de todas as análises foi de 95 % ( $p < 0,05$ ).

## **5**

### **Resultados e Discussões**

#### **5.1. Parâmetros analíticos de mérito**

Na Tabela 4, são apresentados os coeficientes de correlação da curva analítica, os limites de detecção instrumentais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e limites de quantificação considerando o fator de diluição da amostra ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), obtidos para cada elemento estudado.

Tabela 4 - Coeficientes de correlação das curvas analíticas, limites de detecção instrumentais e limites de quantificação por grama de amostra para os elementos estudados.

<b>Elemento</b>	<b>Coeficiente de correlação</b>	<b>Limite de detecção instrumental (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Limite de quantificação (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>
<b>Ag</b>	0,9997	$4,4 \times 10^{-3}$	$1,5 \times 10^{-3}$
<b>Al</b>	0,9995	2,3	$7,5 \times 10^{-1}$
<b>As</b>	0,9998	$3,0 \times 10^{-2}$	$9,7 \times 10^{-3}$
<b>Au</b>	0,9974	$3,8 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-3}$
<b>B</b>	0,9993	1,6	$5,2 \times 10^{-1}$
<b>Ba</b>	0,9999	$9,2 \times 10^{-2}$	$3,0 \times 10^{-2}$
<b>Be</b>	0,9999	$8,4 \times 10^{-2}$	$2,8 \times 10^{-2}$
<b>Bi</b>	0,9994	$2,4 \times 10^{-3}$	$7,9 \times 10^{-4}$
<b>Br</b>	0,9999	1,3	$4,4 \times 10^{-1}$
<b>Ca</b>	1,0000	$4,5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^1$
<b>Cd</b>	0,9998	$4,6 \times 10^{-3}$	$1,5 \times 10^{-3}$
<b>Co</b>	0,9992	$4,8 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-3}$
<b>Cr</b>	0,9998	$1,9 \times 10^{-1}$	$6,2 \times 10^{-2}$
<b>Cu</b>	0,9997	$8,1 \times 10^{-2}$	$2,7 \times 10^{-2}$
<b>Fe</b>	1,0000	8,1	2,7
<b>Ge</b>	0,9997	$3,3 \times 10^{-2}$	$1,1 \times 10^{-2}$
<b>Hg</b>	1,0000	$6,8 \times 10^{-2}$	$2,3 \times 10^{-2}$
<b>I</b>	1,0000	$1,1 \times 10^{-1}$	$3,6 \times 10^{-2}$
<b>K</b>	0,9999	4,6	1,5
<b>Li</b>	0,9991	$1,4 \times 10^{-2}$	$4,7 \times 10^{-3}$
<b>Mg</b>	1,0000	$3,8 \times 10^{-1}$	$1,2 \times 10^{-1}$
<b>Mn</b>	0,9999	$3,0 \times 10^{-2}$	$9,8 \times 10^{-3}$
<b>Mo</b>	0,9996	$1,1 \times 10^{-2}$	$3,7 \times 10^{-3}$
<b>Ni</b>	0,9998	$3,1 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-2}$
<b>P</b>	1,0000	$2,2 \times 10^1$	7,3
<b>Pb</b>	1,0000	$2,9 \times 10^{-2}$	$9,6 \times 10^{-3}$
<b>Pd</b>	0,9999	$6,8 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-3}$
<b>S</b>	0,9999	$1,2 \times 10^3$	$4,1 \times 10^2$
<b>Sb</b>	0,9999	$7,3 \times 10^{-3}$	$2,4 \times 10^{-3}$
<b>Se</b>	0,9997	$6,9 \times 10^{-1}$	$2,3 \times 10^{-1}$
<b>Sr</b>	0,9998	$1,1 \times 10^{-2}$	$3,6 \times 10^{-3}$
<b>Th</b>	0,9999	$4,0 \times 10^{-2}$	$1,3 \times 10^{-2}$
<b>U</b>	0,9992	$3,2 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-3}$
<b>V</b>	1,0000	$2,5 \times 10^{-2}$	$8,2 \times 10^{-3}$
<b>Zn</b>	1,0000	$8,1 \times 10^{-1}$	$2,7 \times 10^{-1}$



### 5.1.1. Avaliação da exatidão do método

A exatidão do método foi avaliada através da determinação dos elementos em uma amostra certificada de cabelo (NCS DC73347a da *China National Analysis Center for Iron and Steel*, 2015), cujo certificado encontra-se no Anexo II. Os resultados presentes na

Tabela 5 são relativos apenas aos elementos que possuem seus valores certificados de acordo com o Anexo II, excluindo-se os que constam como valores de referência informados.

Tabela 5 - Resultados obtidos da análise da amostra certificada de cabelo, média  $\pm$  desvio-padrão.

Elemento	Concentração certificada ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Concentração medida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Recuperação (%)
As	$0,28 \pm 0,05$	$0,29 \pm 0,01$	105,2
B	$2,9 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,2$	82,1
Ba	$11,4 \pm 0,6$	$10,3 \pm 0,3$	90,3
Be	$0,11 \pm 0,07$	$0,10 \pm 0,01$	94,1
Bi	$0,021 \pm 0,002$	$0,020 \pm 0,001$	96,4
Ca	$1450 \pm 20$	$1239 \pm 19$	85,5
Cd	$0,07 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,01$	97,3
Co	$0,045 \pm 0,009$	$0,041 \pm 0,01$	90,8
Cr	$0,41 \pm 0,12$	$0,47 \pm 0,01$	114,0
Cu	$14,3 \pm 1,6$	$13,5 \pm 1,2$	94,3
Fe	$36 \pm 5$	$31,0 \pm 1,2$	85,0
Hg	$0,67 \pm 0,1$	$0,64 \pm 0,1$	96,0
I	$0,8 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,1$	81,8
Mn	$2 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,1$	90,0
Mo	$0,17 \pm 0,03$	$0,16 \pm 0,01$	92,1
Ni	$0,43 \pm 0,12$	$0,40 \pm 0,01$	91,9
P	$140 \pm 20$	$139 \pm 3$	99,6
Pb	$5,7 \pm 0,5$	$5,4 \pm 0,3$	94,8
S	$41900 \pm 1100$	$37652 \pm 2125$	89,9
Se	$0,58 \pm 0,12$	$0,64 \pm 0,03$	110,9
Sr	$7,7 \pm 0,4$	$6,2 \pm 0,1$	80,5
Th	$0,064 \pm 0,011$	$0,061 \pm 0,001$	95,8
U	$0,099 \pm 0,015$	$0,092 \pm 0,001$	92,7
V	$0,50 \pm 0,18$	$0,4 \pm 0,01$	86,3
Zn	$137 \pm 9$	$127 \pm 5$	92,7

## 5.2. Análise das amostras de cabelo dos voluntários

Todos os resultados de concentração média e desvio padrão de cada elemento (essenciais e outros, e tóxicos) medidos nas amostras dos voluntários, homens e mulheres, com tratamento capilar ou não, estão apresentados na Tabela 15 (Apêndice I).

Dos elementos determinados, foram selecionados os elementos que tiveram resultados concordantes com os valores certificados ou informados da amostra certificada para a avaliação estatística dos resultados das amostras dos voluntários.

Como apenas um voluntário masculino apresentava tratamento estético nos cabelos, as análises estatísticas foram realizadas comparando-se cabelos com ou sem tratamento estético apenas das voluntárias mulheres e comparando-se cabelos naturais de homens e mulheres.

Os elementos determinados foram divididos em dois grupos, de acordo com CARNEIRO *et al.* (2002), e a análise estatística será apresentada empregando essa mesma divisão:

- Li, B, Mg, P, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Sr, Mo e Au formaram o grupo dos “Elementos Essenciais e outros”;
- Al, Ni, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Hg, Pb, Bi, Th e U, dos “Elementos tóxicos”.

### 5.2.1. Elementos essenciais e outros

#### 5.2.1.1. Amostras de cabelo de mulheres: comparação entre amostras sem e com tratamento estético

##### 5.2.1.1.1. Avaliação estatística dos dados

Primeiramente fez-se a análise de cluster (ou análise de conglomerados), que é uma metodologia numérica multivariada que engloba uma variedade de técnicas e algoritmos, com o objetivo de encontrar e separar objetos em grupos similares, propondo uma estrutura classificatória, ou de reconhecimento da existência de grupos homogêneos, segundo algum critério de homogeneidade. O dendrograma, também chamado de gráfico em árvore, representa uma síntese gráfica desta análise.

Realizou-se a análise de *cluster* aplicada a todos os elementos essenciais de todas as amostras de cabelos de mulheres, com e sem tratamento estético, para classificar os elementos em grupos relativamente homogêneos, chamados conglomerados.

No dendrograma vertical, a leitura é feita da direita para esquerda, no qual as linhas verticais, ou o eixo y, indicam as distâncias entre os grupos formados e o eixo x, representa os grupos unidos por ordem decrescente de semelhança. Utilizou-se o método de Ward e as distâncias euclidianas que indicam dissimilaridade, ou seja, quanto menor a distância euclidiana, maior é a semelhança entre os grupos. A Figura 2 mostra o dendrograma vertical resultante desta análise. O eixo da ordenada indica o nível de dissimilaridade, e na abscissa estão as variáveis agrupadas. A linha vermelha indica o local onde foi feito o corte para separação dos grupos. Este corte é arbitrário e depende de avaliação pessoal.

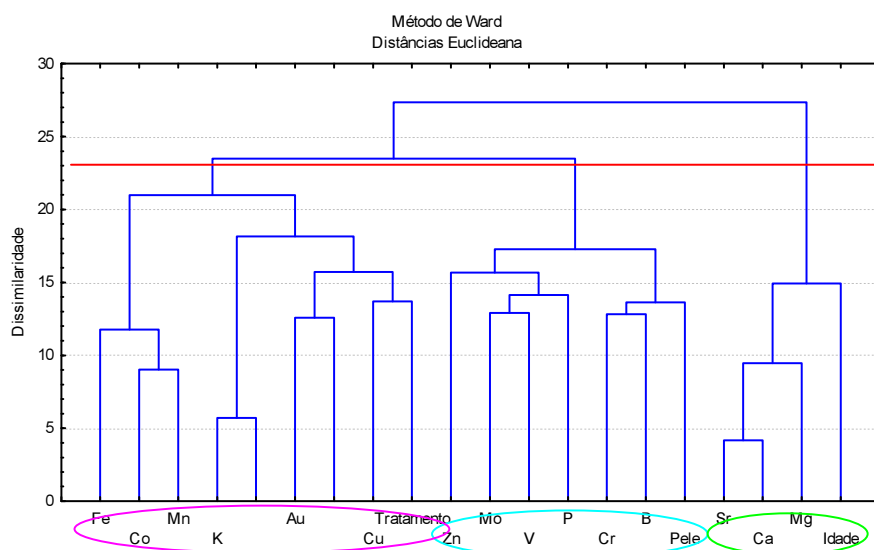


Figura 2 - Dendrograma vertical com todas variáveis de todas as mulheres para elementos essenciais.

Com base na Figura 2, é possível observar três *clusters*:

- 1) Idade, Mg, Ca, Sr;
- 2) Cor da pele, B, Cr, P, V, Mo, Zn;
- 3) Tratamento utilizado no cabelo, Cu, Au, K, Mn, Co, Fe.

Esta classificação nos leva a considerar primeiramente que os metais Ca, Mg e Sr estão relacionados de alguma forma com a idade. A cor da pele pode influenciar nos níveis de B, Cr, P, V, Mo e Zn, mas vale ressaltar que este é um parâmetro

subjetivo, uma vez que a resposta foi obtida por autodeclaração. Já Cu, Au, K, Mn, Co e Fe estariam relacionados com tratamentos estéticos no cabelo.

A seguir, realizou-se o tratamento estatístico dos dados, primeiramente verificando se os dados obtidos possuíam ou não distribuição normal. O resultado da análise encontra-se na Tabela 6. Ambos os testes, Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors (K-S) e de Shapiro-Wilk (S-W), apresentaram resposta semelhante, exceto para P e Mo, que no teste de K-S apresentaram p-valor  $> \alpha$  (para  $\alpha = 0,05$ ) e no S-W, não. Desta forma, como todos os p-valores foram menores que  $\alpha$  (para  $\alpha = 0,05$ ), rejeitou-se a hipótese nula e admitiu-se que os elementos não seguem distribuição normal nas amostras.

Tabela 6 - Testes de normalidade para os elementos das amostras de voluntárias do sexo feminino. Número total amostras = 116.

	Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors		Shapiro-Wilk	
	Estatística	p-valor	Estatística	p-valor
<b>Mg</b>	0,20544	<0,01	0,80676	0
<b>P</b>	0,05159 *	0,2	0,97175	0,01492
<b>K</b>	0,29667	<0,01	0,52482	0
<b>Ca</b>	0,16538	<0,01	0,84315	0
<b>V</b>	0,10181	<0,01	0,93855	0,00005
<b>Cr</b>	0,11653	<0,01	0,92148	0
<b>Mn</b>	0,29108	<0,01	0,44808	0
<b>Fe</b>	0,23143	<0,01	0,51063	0
<b>Co</b>	0,32432	<0,01	0,37886	0
<b>Cu</b>	0,43983	<0,01	0,10952	0
<b>Zn</b>	0,27282	<0,01	0,39354	0
<b>Sr</b>	0,14473	<0,01	0,8618	0
<b>Mo</b>	0,08569 *	<0,05	0,94519	0,00013

\* Não se rejeita a  $H_0$

Para visualizar os aspectos importantes dos subgrupos das voluntárias, realizou-se gráficos do tipo *box plots* para os elementos essenciais e outros, além da análise de Kruskal-Wallis e o teste de Dunn como *post hoc*. O resultado pode ser observado nas Figuras 3 a 5.

Nelas, pode-se observar que os elementos Mg, K, Ca, V, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Sr e Mo apresentaram diferenças significativas e, por isso, foram submetidos ao teste de Dunn para observar quais eram os grupos diferentes quando comparados dois a dois (os resultados podem ser vistos nas mesmas figuras). Para distingui-los, rotulou-se com a mesma letra (a, b ou c) os subgrupos diferentes estatisticamente.

Também podemos perceber que na análise dos resultados de Mn, Fe, Co, Cu, Zn e Mo todas as medianas estiveram entre os limites utilizados como referência neste trabalho, embora alguns subgrupos dentro destes elementos apresentem diferença entre si. Os elementos que mostraram comportamentos diferentes foram:

- Fe, entre cabelos naturais e os tingidos;
- Co, entre cabelos alisados e tingidos.
- Cu, entre cabelos alisados e naturais, e entre alisados e tingidos;
- Zn, entre cabelos naturais e tingidos/ alisados;
- Mo, entre cabelos naturais e tingidos, naturais e tingidos/ alisados.

Entre os elementos que não apresentam limites mínimo e máximo, segundo trabalho de Carneiro *et al.* (2002), o potássio apresentou diferenças entre os subgrupos: cabelos naturais e com tinta/ alisamento. Como K é um elemento encontrado facilmente na forma de sal, pode estar presente na formulação de diversas tintas e alisamentos, além do próprio shampoo.

Nos resultados de fósforo, todas as medianas dos subgrupos estiveram abaixo do limite mínimo, e equivalentes entre si. O contrário, ou seja, todas as medianas acima do limite mínimo, foi observado para V e Cr.

O Mg, Ca e Sr apresentaram medianas acima dos limites nos casos onde havia, ao menos, tinta envolvida.

Se fizermos dois grandes grupos - cabelos tratados e cabelos naturais - observamos que os metais Mg, K, Ca, V, Fe, Cu, Mo, Zn e Sr apresentaram diferenças estatísticas.

SOUZA; PAIVA; POGGI (2009) encontraram alteração na concentração do Zn para mulheres que pintavam o cabelo em comparação ao grupo denominado saudável. O resultado daquele trabalho foi contrário ao obtido neste estudo, em que a concentração do Zn foi mais elevada nos cabelos sem tratamentos cosméticos e

tratados, apresentando diferença estatística significativa entre os grupos com tintura e com alisamento.

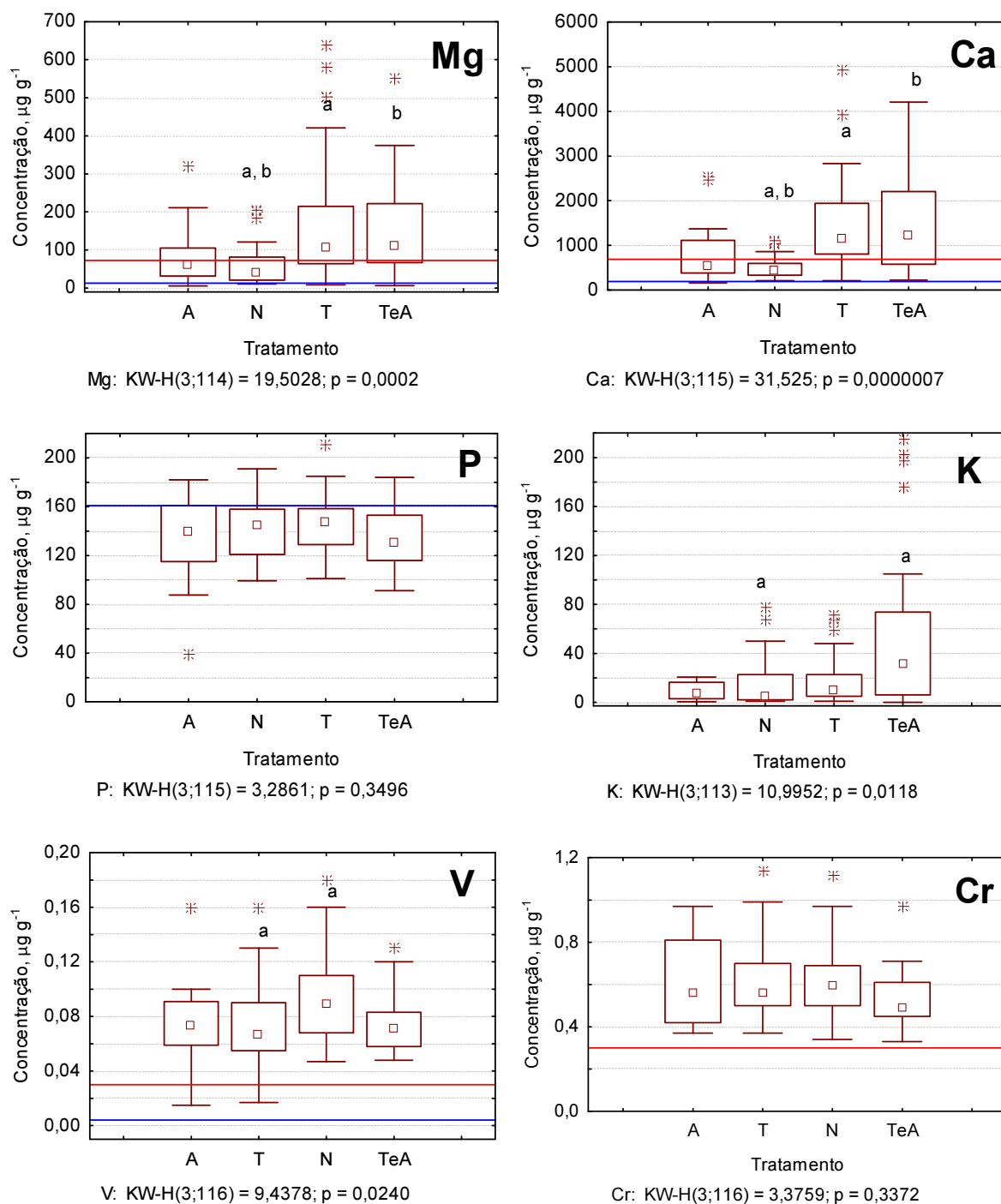


Figura 3 - Box plot para os elementos essenciais e outros, considerando todas as mulheres voluntárias. No gráfico dos elementos onde se rejeitou a hipótese nula há letras (a, b e c) que mostram os grupos que apresentaram diferenças significativas entre si. Há também uma linha vermelha que indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO *et al.* (2002), enquanto a azul, o mínimo. A = alissamento, T = tintura, N = natural e TeA = tintura e alissamento. O asterisco (\*) representa valores *outliers*.

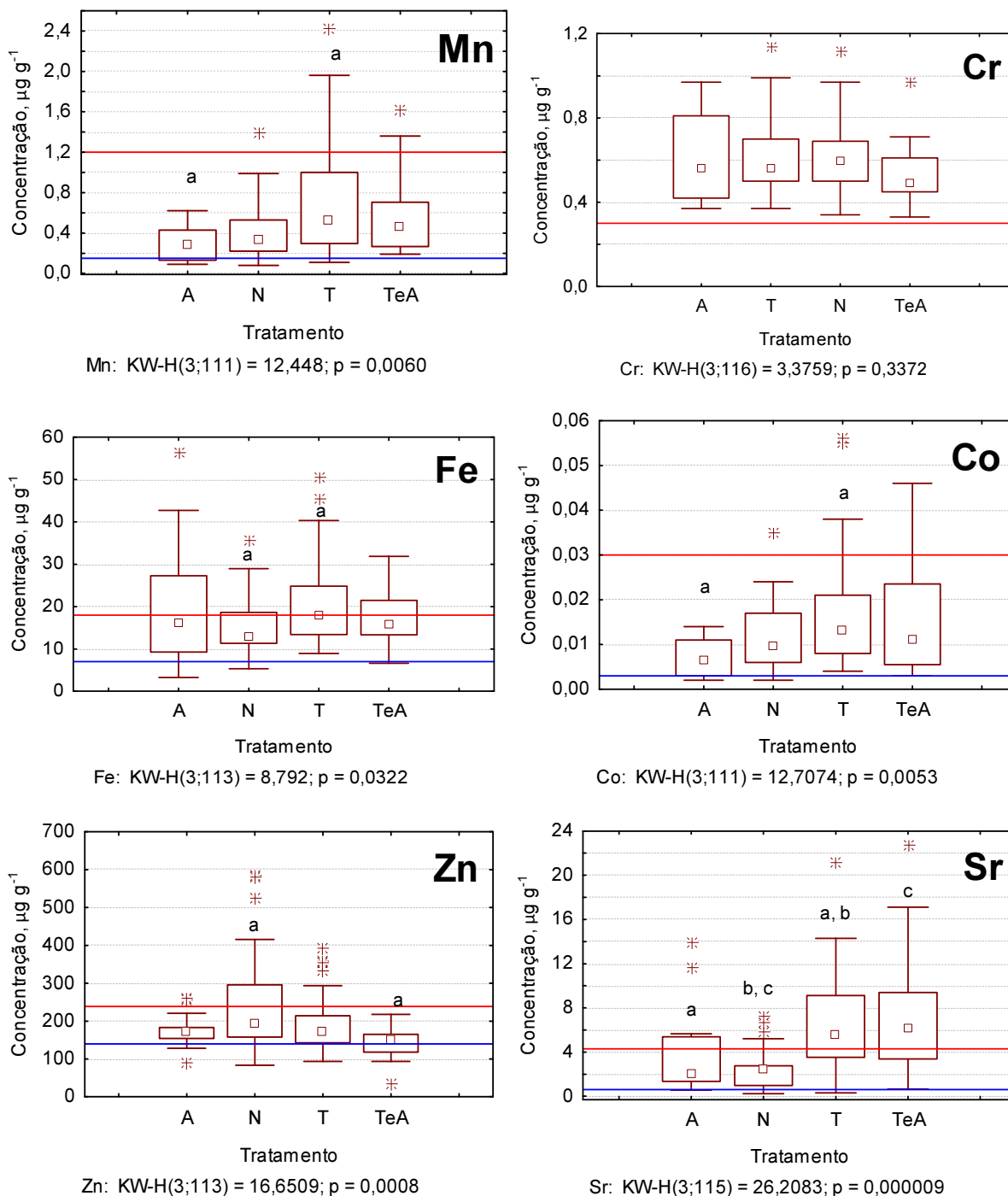


Figura 4 - *Box plot* para os elementos essenciais e outros, considerando todas as mulheres voluntárias. No gráfico dos elementos onde se rejeitou a hipótese nula há letras (a, b e c) que mostram os grupos que apresentaram diferenças significativas entre si. Há também uma linha vermelha que indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO *et al.* (2002), enquanto a azul, o mínimo. A = alisamento, T = tintura, N = natural e TeA = tintura e alisamento. O asterisco (\*) representa valores *outliers*.



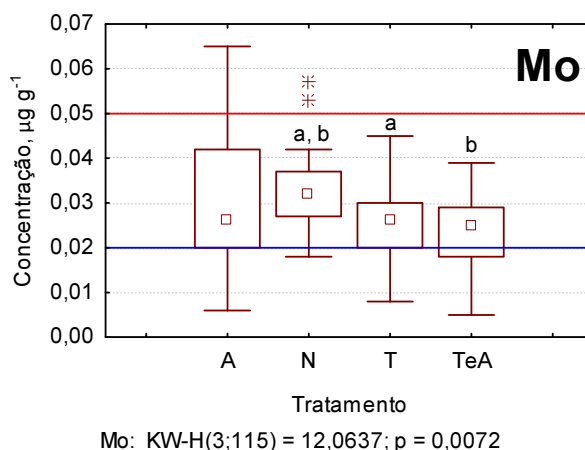


Figura 5 - *Box plot* para os elementos essenciais e outros, considerando todas as mulheres voluntárias. No gráfico dos elementos onde se rejeitou a hipótese nula há letras (a, b e c) que mostram os grupos que apresentaram diferenças significativas entre si. Há também uma linha vermelha que indica o valor máximo segundo os valores de referência obtidos por CARNEIRO *et al.* (2002), enquanto a azul, o mínimo. A = alissamento, T = tintura, N = natural e TeA = tintura e alissamento. O asterisco (\*) representa valores *outliers*.

#### 5.2.1.1.1.1. Análise multivariada

A análise fatorial múltipla (AFM) é uma das técnicas da análise multivariada e visa reduzir o número de variáveis e evidenciar relações de semelhança ou diferença. Neste trabalho a AFM auxilia na seleção de variáveis que tenham maior contribuição com o tipo de tratamento estético apresentado ou não nas amostras.

A AFM foi realizada com os onze (11) metais que originaram diferença significativa utilizando-os como variáveis (Mg, K, Ca, V, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Sr e Mo). Nesta análise, os cinco primeiros fatores explicam cerca de 76 % da variância total, sendo que: o Fator 1 (F1) explica 29,8 % dessa variância, o Fator 2 (F2) 15,5 %, o Fator 3 (F3) 12,7 %, o Fator 4 (F4) 9,1 % e o Fator 5 (F5) 8,6 % (Tabela 7).

Tabela 7 - Autovalores e percentual da variância explicada de cada componente para os elementos essenciais nas amostras de voluntárias do sexo feminino.

F	Autovalores	% de variância explicada	Autovalores acumulados	% de variância explicada acumulada
1	3,576962	29,80802	3,576962	29,80802
2	1,862464	15,52054	5,439426	45,32855
3	1,529164	12,74303	6,968590	58,07159
4	1,089448	9,07874	8,058039	67,15032
5	1,029155	8,57629	9,087194	75,72661

Outra maneira de representar os fatores que mais afetam as diferenças entre os subgrupos é através de um gráfico chamado *Scree Plot* (Figura 6), que relaciona os autovalores aos fatores, em ordem decrescente. Podemos ver que os outros componentes, além dos cinco primeiros, apresentam uma baixa explicação e, portanto, evita-se incluí-los na análise.

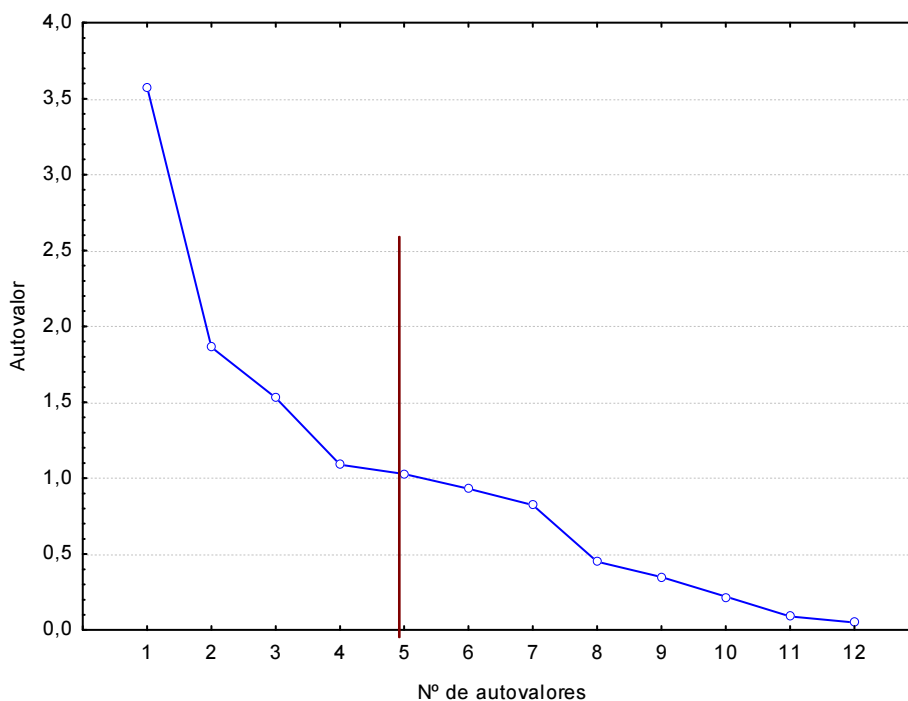


Figura 6 - *Scree plot*: um método gráfico para selecionar o número de autovalores.

A Tabela 8 apresenta o resultado da matriz de correlação entre as variáveis, ou seja, elementos que possuem relação com outros. No Apêndice II, há o mesmo resultado na forma gráfica. Através dela podemos observar os elementos com correlação forte ou leve. Os metais que apresentaram forte correlação são: Fe e Mn, Co e Ca, Co e Fe, Co e Sr. No gráfico, esta visualização fica por conta do ajuste dos

pontos à reta, e na tabela numérica, ao número, onde quanto mais próximo de  $\pm 1$ , mais forte a correlação (podendo ser positiva ou negativa).

O comportamento de Ca, Sr e Mg é semelhante - apresentam propriedades químicas semelhantes e se correlacionam fortemente (Tabela 8 e Figura 18) - e levando em consideração a idade, é possível observar que os teores destes elementos aumentam até 30 anos, para em seguida diminuir (Figura 7). Nas voluntárias de idade adulta os teores estão elevados, mas é devido ao cabelo ser um tecido excretor (CARNEIRO *et al.*, 2002). Outro fato importante, segundo estudos, mostra que concentrações elevadas de Ca e P no cabelo, associados a outros elementos como Mg e Ba, são frequentes em mulheres na pré-menopausa, onde os desequilíbrios hormonais são mais acentuados e aumentam a excreção para fluidos corporais e cabelos (CARNEIRO *et al.*, 2002).

Tabela 8 - Matriz de correlação para todas as voluntárias do sexo feminino. Os números destacados em negrito são os que indicam forte correlação e, sublinhado, leve correlação.

	<b>Mg</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>V</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Co</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Sr</b>	<b>Mo</b>
<b>Mg</b>	1,00	0,10	<b>0,72</b>	-0,01	0,08	0,19	0,35	0,07	-0,07	<b>0,85</b>	-0,30
<b>K</b>	0,10	1,00	0,21	-0,16	0,21	0,25	0,03	-0,12	-0,19	0,17	-0,04
<b>Ca</b>	<b>0,72</b>	0,21	1,00	-0,28	0,42	0,43	<u>0,55</u>	0,07	-0,07	<b>0,89</b>	-0,42
<b>V</b>	-0,01	-0,16	-0,28	1,00	-0,15	-0,44	-0,03	0,23	-0,18	-0,05	0,23
<b>Mn</b>	0,08	0,21	0,42	-0,15	1,00	<u>0,46</u>	0,62	0,24	0,08	0,28	-0,07
<b>Fe</b>	0,19	0,25	0,43	-0,44	<u>0,46</u>	1,00	<u>0,49</u>	0,04	0,28	0,23	0,05
<b>Co</b>	0,35	0,03	<u>0,55</u>	-0,03	0,62	<u>0,49</u>	1,00	0,38	0,13	<u>0,47</u>	-0,11
<b>Cu</b>	0,07	-0,12	0,07	0,23	0,24	0,04	0,38	1,00	-0,02	0,11	0,04
<b>Zn</b>	-0,07	-0,19	-0,07	-0,18	0,08	0,28	0,13	-0,02	1,00	-0,19	0,14
<b>Sr</b>	<b>0,85</b>	0,17	<b>0,89</b>	-0,05	0,28	0,23	<u>0,47</u>	0,11	-0,19	1,00	-0,44
<b>Mo</b>	-0,30	-0,04	-0,42	0,23	-0,07	0,05	-0,11	0,04	0,14	-0,44	1,00

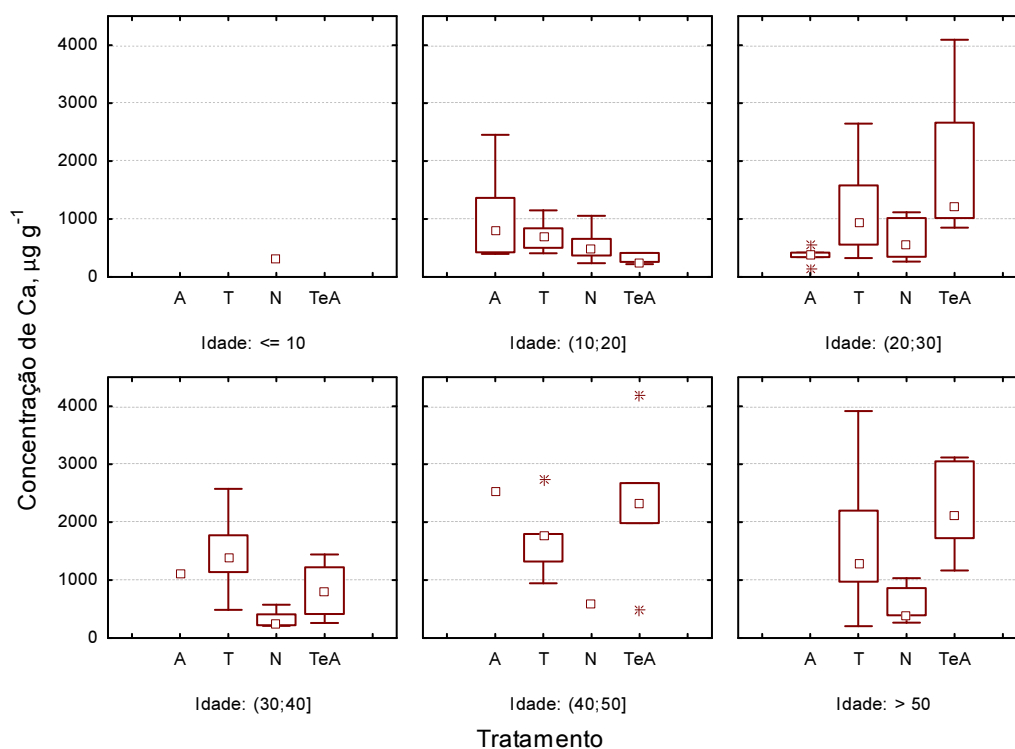


Figura 7 - Avaliação da concentração de Ca no cabelo das voluntárias em relação à faixa etária: abaixo de 10 anos, entre 10 e 20 anos, 20 e 30 anos, 30 e 40 anos, 40 e 50 anos, e acima de 50 anos.

### 5.2.1.2. Amostras de cabelo natural (sem tratamento estético): comparação entre amostras de mulheres e homens

Para fins comparativos, analisou-se os resultados obtidos para os voluntários do sexo masculino com as do sexo feminino que declararam possuir cabelos sem quaisquer tratamentos estéticos.

#### 5.2.1.2.1. Avaliação estatística dos dados

Da mesma maneira como foi aplicado para amostras de cabelos de mulheres, foi avaliada a distribuição dos elementos nas amostras de cabelos naturais, ou seja, não tratados com tintura e/ou alisamento, a fim de se observar se existem diferenças entre cabelos de homens e de mulheres. Os resultados dos testes de normalidade dos dados (teste de Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors e teste de Shapiro-Wilk) estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Testes de normalidade para os elementos das amostras de voluntários do sexo masculino. Número total de amostras = 34.

	Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors		Shapiro-Wilk	
	Estatística	p-valor	Estatística	p-valor
<b>Mg</b>	0,27315	<0,01	0,54899	0
<b>P</b>	0,08849 *	>0,20	0,95770 *	0,20826
<b>K</b>	0,37692	<0,01	0,35953	0
<b>Ca</b>	0,16967	<0,01	0,80651	0,00003
<b>V</b>	0,12596 *	>0,20	0,90671	0,00693
<b>Cr</b>	0,22913	<0,01	0,72464	0
<b>Mn</b>	0,2008	<0,01	0,87911	0,00135
<b>Fe</b>	0,12020 *	>0,20	0,92747	0,02641
<b>Co</b>	0,14278 *	<0,10	0,94715 *	0,10088
<b>Cu</b>	0,37071	<0,01	0,43646	0
<b>Zn</b>	0,2426	<0,01	0,63177	0
<b>Sr</b>	0,24421	<0,01	0,70586	0
<b>Mo</b>	0,14192 *	<0,05	0,8572	0,00041
<b>Au</b>	0,2208	<0,01	0,69286	0

\* Não se rejeita  $H_0$

A fim de obter informações a respeito da distribuição e dos valores discrepantes realizou-se gráficos do tipo *box plot* para os elementos essenciais separando por gênero: feminino e masculino. O resultado pode ser visto nas Figuras 8 a 10.

Como os dados não possuem distribuição normal, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney U, o resultado desta análise pode ser visto na Tabela 10. Os valores em negrito correspondem aos metais que apresentaram diferença estatística significativa entre os gêneros: Mg, Ca, Sr, Mo e Au. Apesar disso, observa-se nas Figuras 8 a 10 que os valores das medianas encontram-se dentro dos limites da referência considerada neste trabalho.

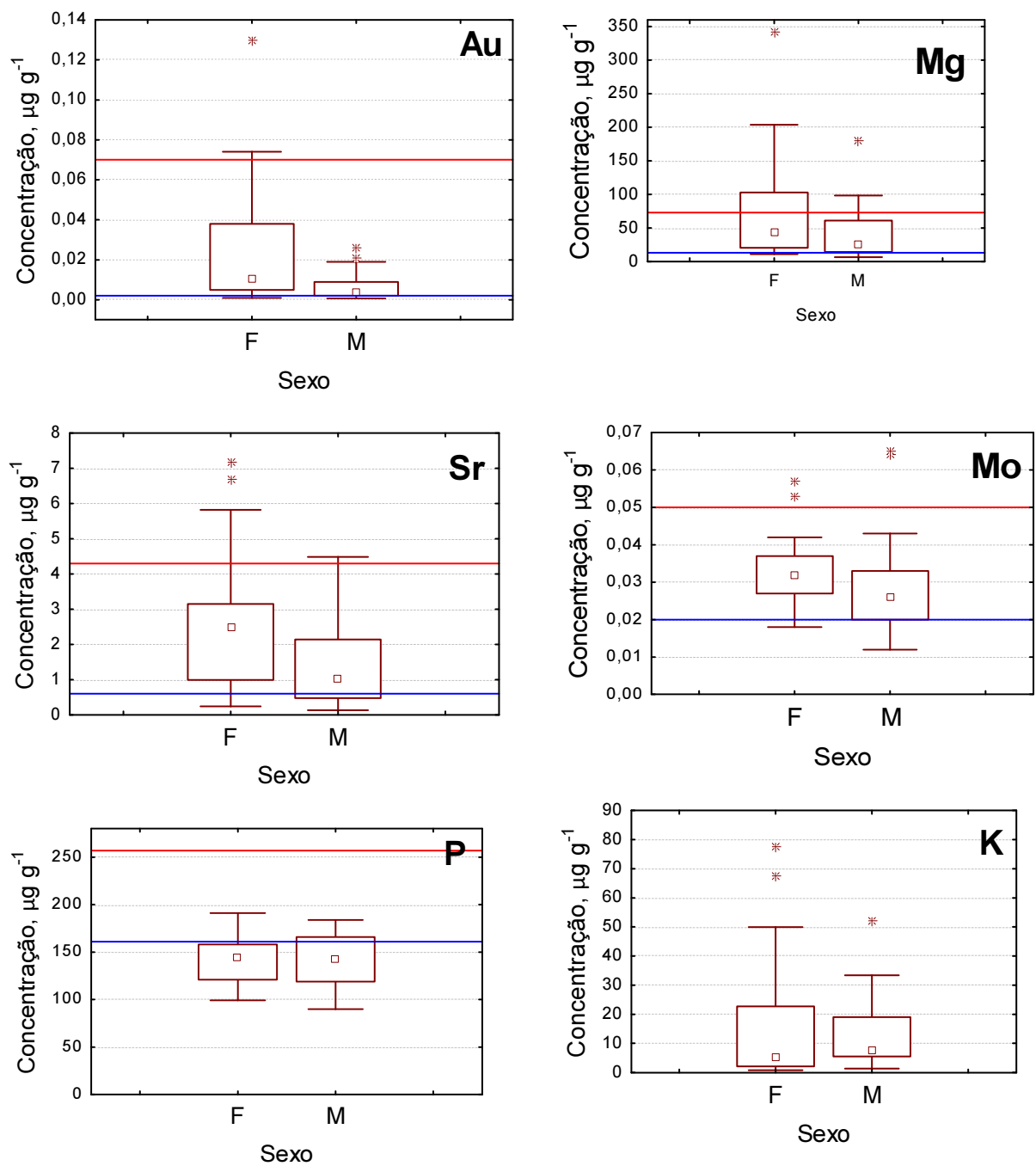


Figura 8 - *Box plot* das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. As retas azul (mínimo) e vermelha (máximo) são valores de referência segundo (CARNEIRO *et al.*, 2002). O asterisco (\*) representa valores *outliers*.

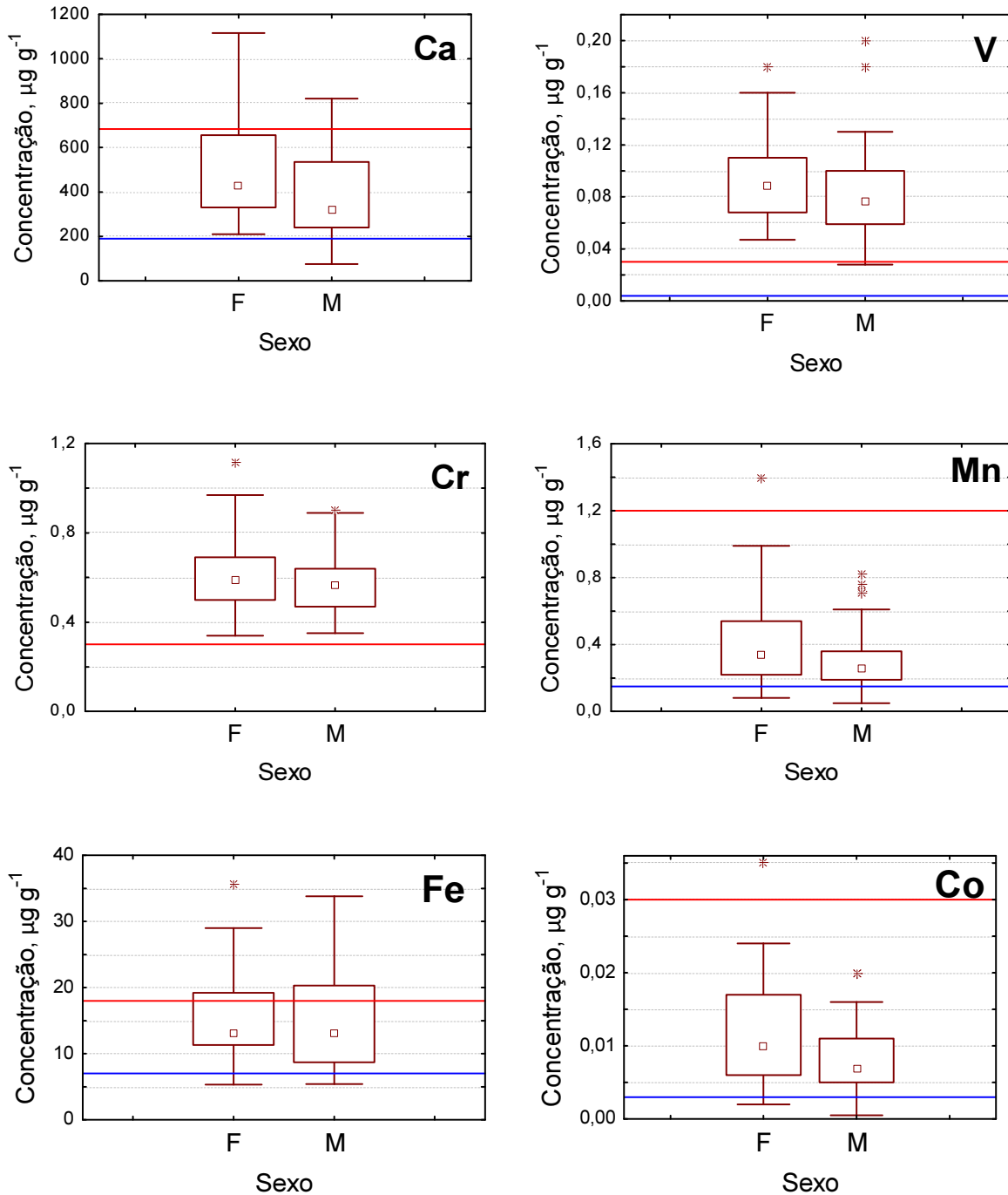


Figura 9 - Box plot das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. As retas azul (mínimo) e vermelha (máximo) são valores de referência segundo (CARNEIRO *et al.*, 2002). O asterisco (\*) representa valores *outliers*.

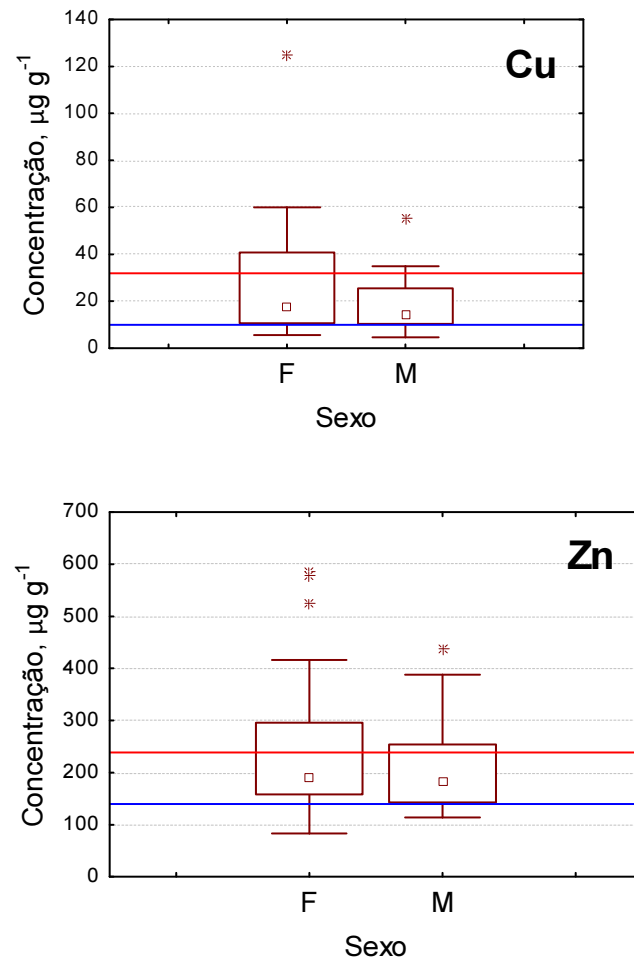


Figura 10 - *Box plot* das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. As retas azul (mínimo) e vermelha (máximo) são valores de referência segundo (CARNEIRO *et al.*, 2002). O asterisco (\*) representa valores *outliers*.



Tabela 10 - Teste não paramétrico de Mann-Whitney U para mulheres e homens com cabelos naturais. M = masculino, F= feminino.

	Soma M	Soma F	U	Z	p-valor	Z ajustado	p-valor	Nº M	Nº F	2*1 bicaudal p
<b>Mg</b>	952,000	1193,000	357,0000	<b>-2,23279</b>	<b>0,025564</b>	<b>-2,23279</b>	<b>0,025564</b>	34	31	<b>0,025297</b>
<b>P</b>	1093,000	1052,000	498,0000	-0,38089	0,703287	-0,38098	0,703219	34	31	0,710026
<b>K</b>	1252,000	893,000	397,0000	1,70743	0,087744	1,70744	0,087741	34	31	0,089052
<b>Ca</b>	966,500	1178,500	371,5000	<b>-2,04234</b>	<b>0,041118</b>	<b>-2,04241</b>	<b>0,041112</b>	34	31	<b>0,040547</b>
<b>V</b>	1023,500	1121,500	428,5000	-1,29370	0,195769	-1,29447	0,195505	34	31	0,197175
<b>Cr</b>	1056,500	1088,500	461,5000	-0,86028	0,389636	-0,86083	0,389335	34	31	0,392154
<b>Mn</b>	994,500	1150,500	399,5000	-1,67459	0,094016	-1,67527	0,093883	34	31	0,094169
<b>Fe</b>	1056,000	1089,000	461,0000	-0,86685	0,386027	-0,86692	0,385985	34	31	0,392154
<b>Co</b>	981,500	1163,500	386,5000	-1,84533	0,064990	-1,84909	0,064445	34	31	0,064729
<b>Cu</b>	1042,500	1102,500	447,5000	-1,04416	0,296414	-1,04418	0,296403	34	31	0,298590
<b>Zn</b>	1040,500	1104,500	445,5000	-1,07042	0,284429	-1,07058	0,284361	34	31	0,286537
<b>Sr</b>	905,500	1239,500	310,5000	<b>-2,84352</b>	<b>0,004462</b>	<b>-2,84358</b>	<b>0,004461</b>	34	31	<b>0,003979</b>
<b>Mo</b>	942,000	1203,000	347,0000	<b>-2,36413</b>	<b>0,018073</b>	<b>-2,36661</b>	<b>0,017952</b>	34	31	<b>0,017676</b>
<b>Au</b>	909,000	1236,000	314,0000	<b>-2,79755</b>	<b>0,005149</b>	<b>-2,80498</b>	<b>0,005032</b>	34	31	<b>0,004736</b>

#### 5.2.1.2.1.1. Análise multivariada

A análise multivariada realizada foi a fatorial com os cinco (5) metais que originaram diferença estatística significativa como variáveis (Mg, Ca, Mo, Sr e Au), portanto poderia haver 5 fatores que corresponderiam às variáveis originais. A escolha dos fatores considerou os componentes que levaram à variância explicada acumulada de mais de 70 %. Na Tabela 11 observa-se que os dois primeiros autovalores representam cerca de 77 % da variância, ou seja, poderíamos explicar cerca de 77 % da variância dos dados originais.

Tabela 11 - Autovalores e percentual da variância explicada de cada componente para os elementos essenciais nos voluntários do sexo feminino e masculino que possuem cabelos naturais.

F	Autovalores	% de variância explicada	Autovalores acumulados	% de variância explicada acumulada
1	2,858108	57,16216	2,858108	<b>57,1622</b>
2	0,994874	19,89748	3,852982	<b>77,0596</b>
3	0,852115	17,04231	4,705097	94,1019
4	0,236980	4,73961	4,942078	98,8416
5	0,057922	1,15844	5,000000	100,0000

Outra forma de obter os fatores que explicam a variância de grande parte dos dados é através do gráfico *Scree Plot*, apresentado na Figura 11. Este gráfico representa os dados da Tabela 11. Podemos ver que os outros componentes, além dos dois primeiros, acrescentariam baixa explicação e, portanto, evita-se incluí-los na análise, pois desejamos trabalhar com a menor quantidade de variáveis possível.

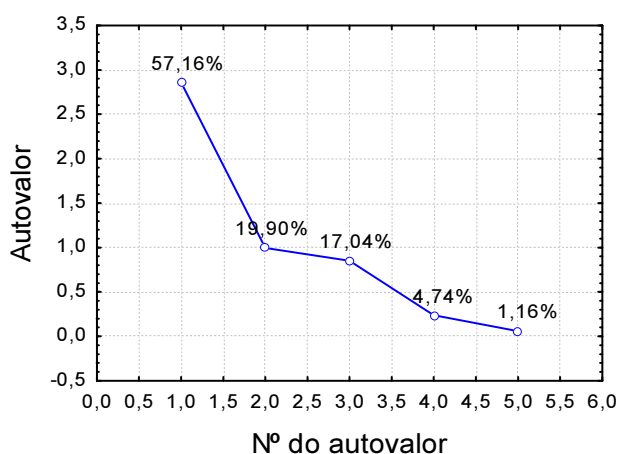


Figura 11 - Proporção de variação de cada componente principal.

A Figura 12 apresenta o resultado da matriz de correlação entre as variáveis. Através dela podemos observar os metais com forte correlação entre si. O Ca está fortemente correlacionado com o Sr, assim como há uma correlação forte entre Mg e Sr e uma moderada em Mg e Ca, o mesmo resultado obtido na análise envolvendo apenas mulheres.

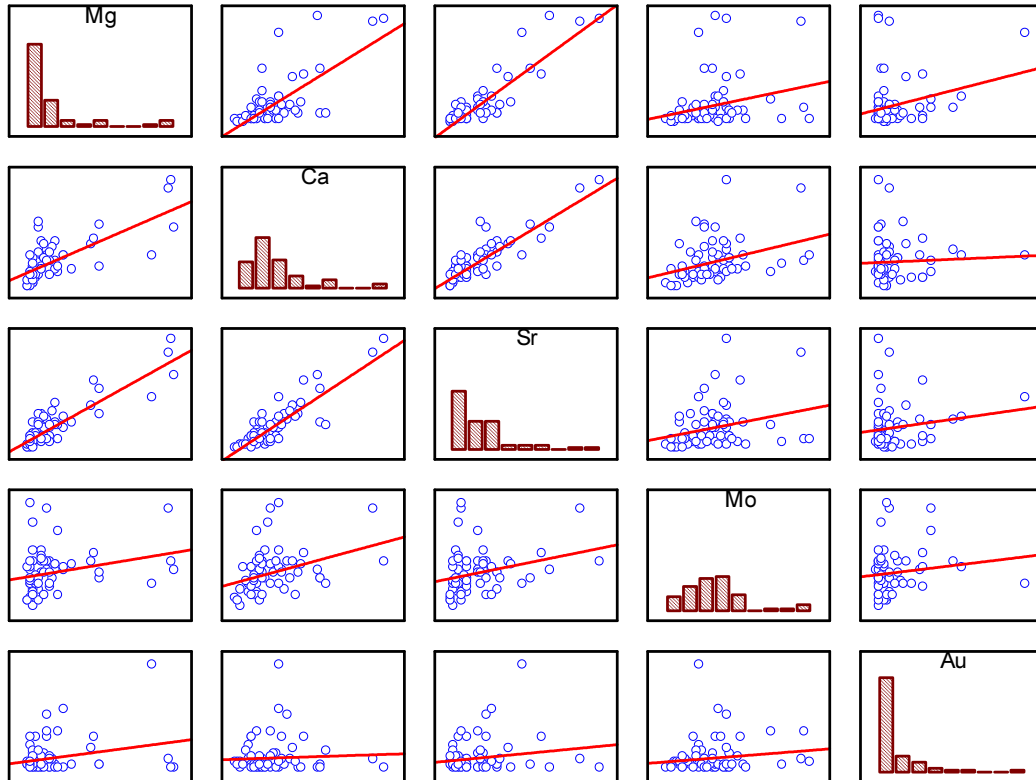


Figura 12 - Correlação entre os metais nos voluntários do sexo feminino e masculino que possuem cabelos naturais.

Na Figura 13 é possível ver os resultados da análise dos componentes principais em um plano. Na projeção do fator 1 x 2, observamos que Ca, Sr e Mg estão relacionados e possuem contribuições maiores no fator 1. Já o fator 2 possui alta porcentagem de Au.

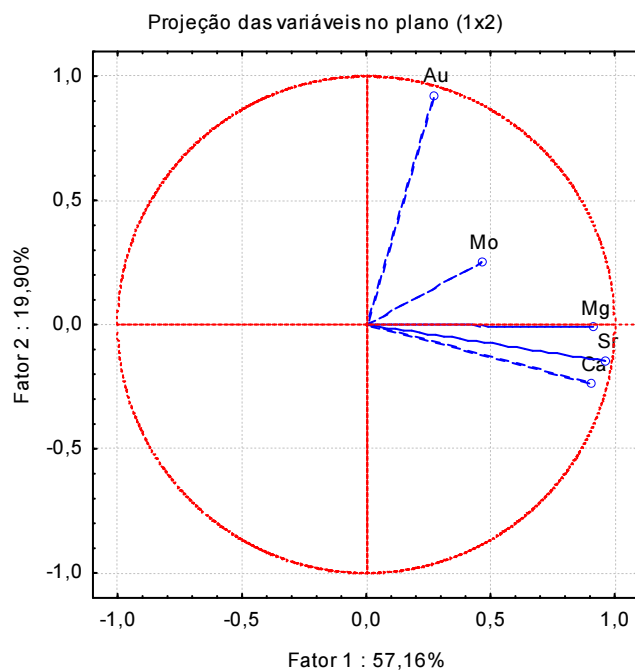


Figura 13 - Análise dos componentes principais para os voluntários do sexo feminino e masculino.

## 5.2.2. Análise dos elementos tóxicos

### 5.2.2.1. Mulheres com cabelos naturais e tratados

#### 5.2.2.1.1. Avaliação estatística dos dados

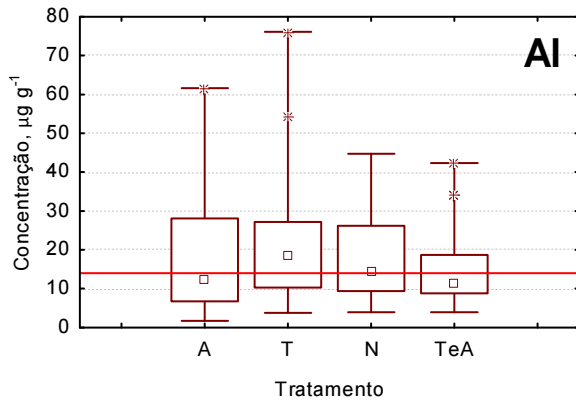
O resultado da análise dos dados para averiguar a normalidade ou não dos resultados encontra-se na Tabela 12.

Tabela 12 - Testes de normalidade para os elementos da amostra de voluntárias do sexo feminino. N° total de voluntárias = 116.

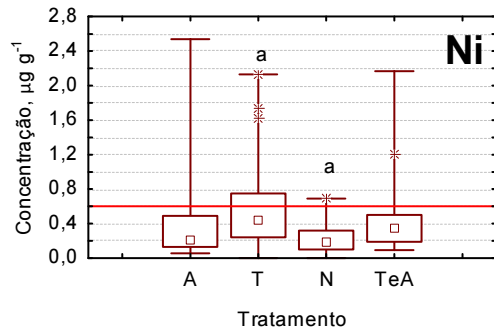
	Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors		Shapiro-Wilk	
	Estatística	p-valor	Estatística	p-valor
<b>Al</b>	0,1823	<0,01	0,87676	0,0000
<b>Ni</b>	0,19234	<0,01	0,73425	0,0000
<b>Ag</b>	0,35953	<0,01	0,31564	0,0000
<b>Cd</b>	0,22131	<0,01	0,80986	0,0000
<b>Sb</b>	0,14802	<0,01	0,88168	0,0000
<b>Ba</b>	0,19354	<0,01	0,68436	0,0000
<b>Hg</b>	0,22178	<0,01	0,63887	0,0000
<b>Pb</b>	0,24514	<0,01	0,58131	0,0000
<b>Bi</b>	0,25117	<0,01	0,59352	0,0000
<b>U</b>	0,2189	<0,01	0,64344	0,0000

Realizou-se gráficos do tipo *box plot* para os elementos tóxicos no grupo referente a todas as voluntárias do sexo feminino e o resultado pode ser visto nas Figuras 14 e 15, acompanhado do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os metais Ni, Ba, Pb, e U apresentaram diferença estatística significativa. Nestes casos, realizou-se em seguida o teste de Dunn para observar quais os grupos apresentaram diferença quando comparados dois a dois. O resultado pode ser visto também nas Figuras 14 e 15, onde há letras indicando quais os grupos que causaram a diferença. Após o teste *post-hoc* de Dunn, o Pb não apresentou diferença estatística.

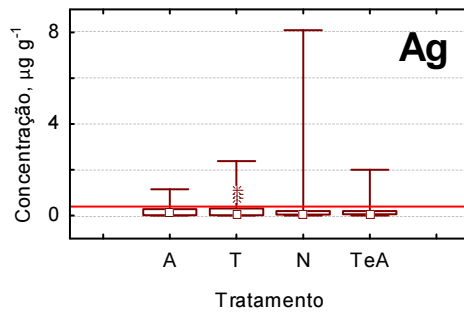
Embora haja diferença estatística para os metais Ni, Ba e U, pode-se observar nas figuras abaixo que os valores das medianas encontram-se abaixo dos limites de referência considerados, já para o Sn as medianas encontram-se próximas do limite máximo estabelecido por (CARNEIRO *et al.*, 2002).



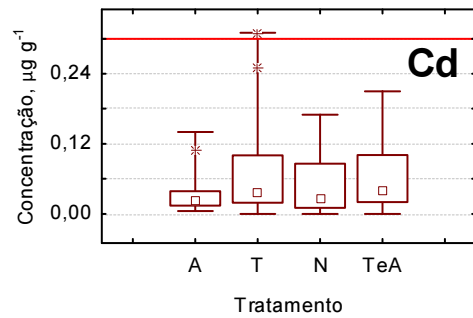
Al: KW-H(3;115) = 4,0209; p = 0,2592



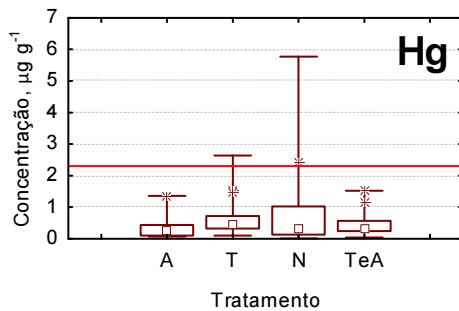
Ni: KW-H(3;113) = 17,4088; p = 0,0006



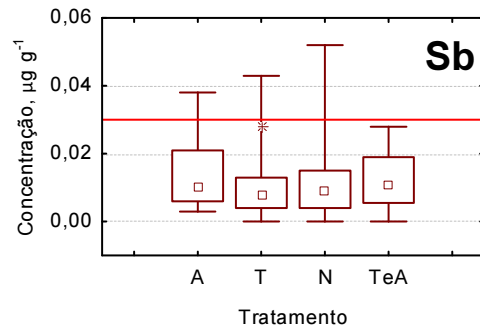
Ag: KW-H(3;112) = 0,9421; p = 0,8153



Cd: KW-H(3;114) = 4,5917; p = 0,2043

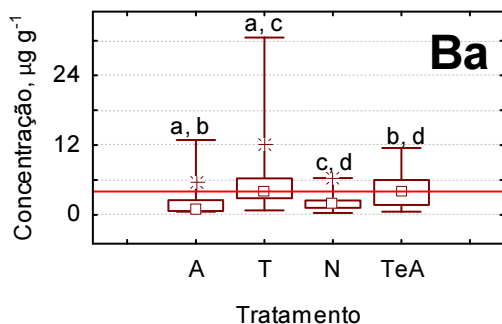


Hg: KW-H(3;113) = 6,9508; p = 0,0735

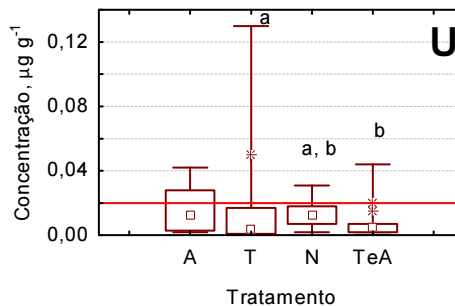


Sb: KW-H(3;114) = 3,1383; p = 0,3708

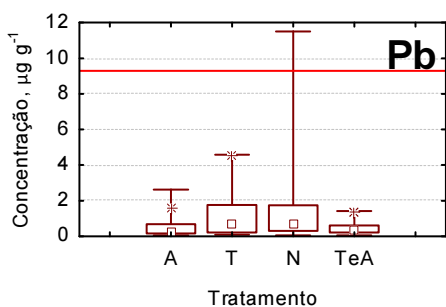
Figura 14 - Box plot dos elementos tóxicos e os valores do teste de Kruskal Wallis (KW), além das linhas vermelhas que indicam os valores máximos segundo valores de referência (CARNEIRO *et al.*, 2002). No gráfico dos elementos que apresentaram diferenças estatísticas significativas no teste de KW (estão em negrito), há a letra "a" que indica onde está a diferença segundo teste *post-hoc* de Dunn,. A = alisamento, T = tintura, N = natural e TeA = tintura e alisamento. O asterisco (\*) indica *outliers*.



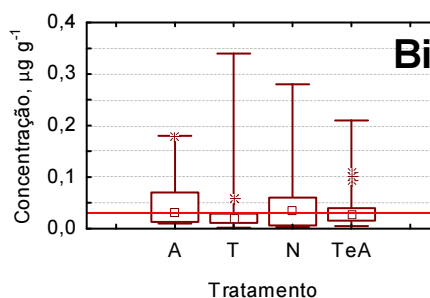
Ba: KW-H(3;114) = 30,327; p = 0,000001



U: KW-H(3;114) = 12,9434; p = 0,0048



Pb: KW-H(3;115) = 7,8546; p = 0,0491



Bi: KW-H(3;110) = 4,6222; p = 0,2016

Figura 15 - *Box plot* dos elementos tóxicos e os valores do teste de Kruskal Wallis (KW), além das linhas vermelhas que indicam os valores máximos segundo valores de referência (CARNEIRO *et al.*, 2002). No gráfico dos elementos que apresentaram diferenças estatísticas significativas no teste de KW (estão em negrito), há a letra “a” que indica onde está a diferença segundo teste *post-hoc* de Dunn. A = alisamento, T = tintura, N = natural

Não houve necessidade de apresentar a análise multivariada pois apenas 3 metais apresentaram diferença estatística significativa, e resultou na simplificação para apenas um fator, o qual houve porcentagem de explicação dos dados abaixo de 70 %.

### 5.2.2.2. Amostras de cabelo natural (sem tratamento estético): comparação entre amostras de mulheres e homens

#### 5.2.2.2.1. Avaliação estatística dos dados

A Tabela 13 exhibe os resultados que comprovam a não normalidade do grupo amostral formado apenas por homens com cabelos naturais.

Tabela 13 - Testes de normalidade para os elementos da amostra de voluntários do sexo masculino. Número total de voluntários = 34.

	<b>Kolmogorov-Smirnov com a correção de Lilliefors</b>		<b>Shapiro-Wilk</b>	
	Estatística	p-valor	Estatística	p-valor
<b>Al</b>	0,17445 *	<0,05	0,82452	0,00008
<b>Ni</b>	0,15600 *	<0,05	0,89222	0,00288
<b>Ag</b>	0,2961	<0,01	0,52916	0
<b>Cd</b>	0,26272	<0,01	0,58976	0
<b>Sb</b>	0,29348	<0,01	0,42929	0
<b>Ba</b>	0,09212 *	>0,20	0,92762 *	0,02668
<b>Hg</b>	0,32322	<0,01	0,54985	0
<b>Pb</b>	0,30483	<0,01	0,50421	0
<b>Bi</b>	0,24101	<0,01	0,76361	0,00001
<b>U</b>	0,32958	<0,01	0,55896	0

\* Não se rejeita  $H_0$

Realizou-se gráficos do tipo *box plot* para os elementos tóxicos separando por gênero: feminino e masculino, levando em conta apenas voluntários que possuem cabelos naturais, e o resultado pode ser visto nas Figuras 16 e 17. Para esse conjunto de dados foi feito uso do teste não paramétrico de Mann-Whitney U, que pode ser visualizado na Tabela 14. Nenhum elemento apresentou diferença estatística significativa entre os gêneros.



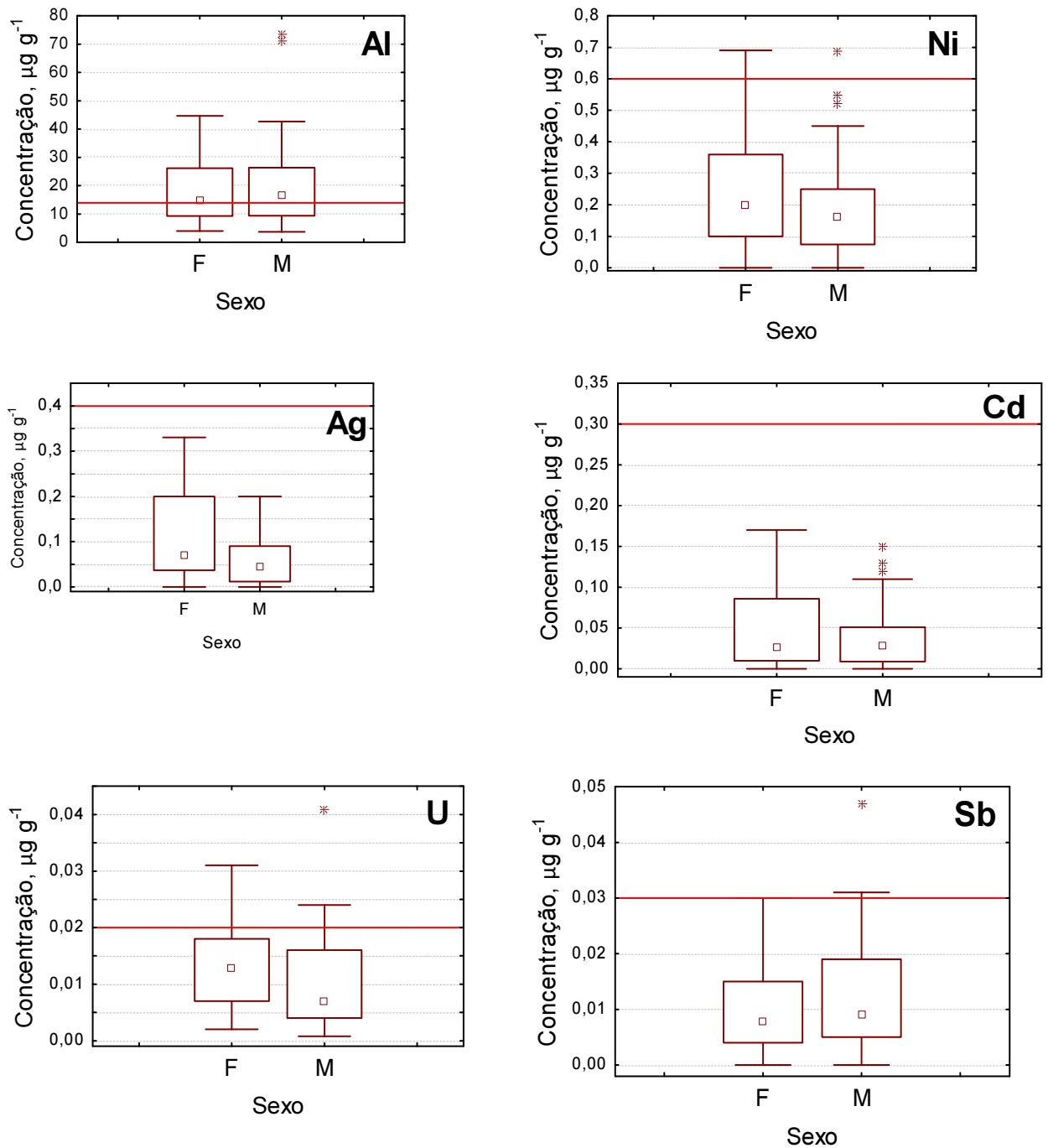


Figura 16 - Box plot das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. A reta vermelha corresponde ao valor máximo de referência segundo (CARNEIRO *et al.*, 2002). O asterisco (\*) indica outliers.

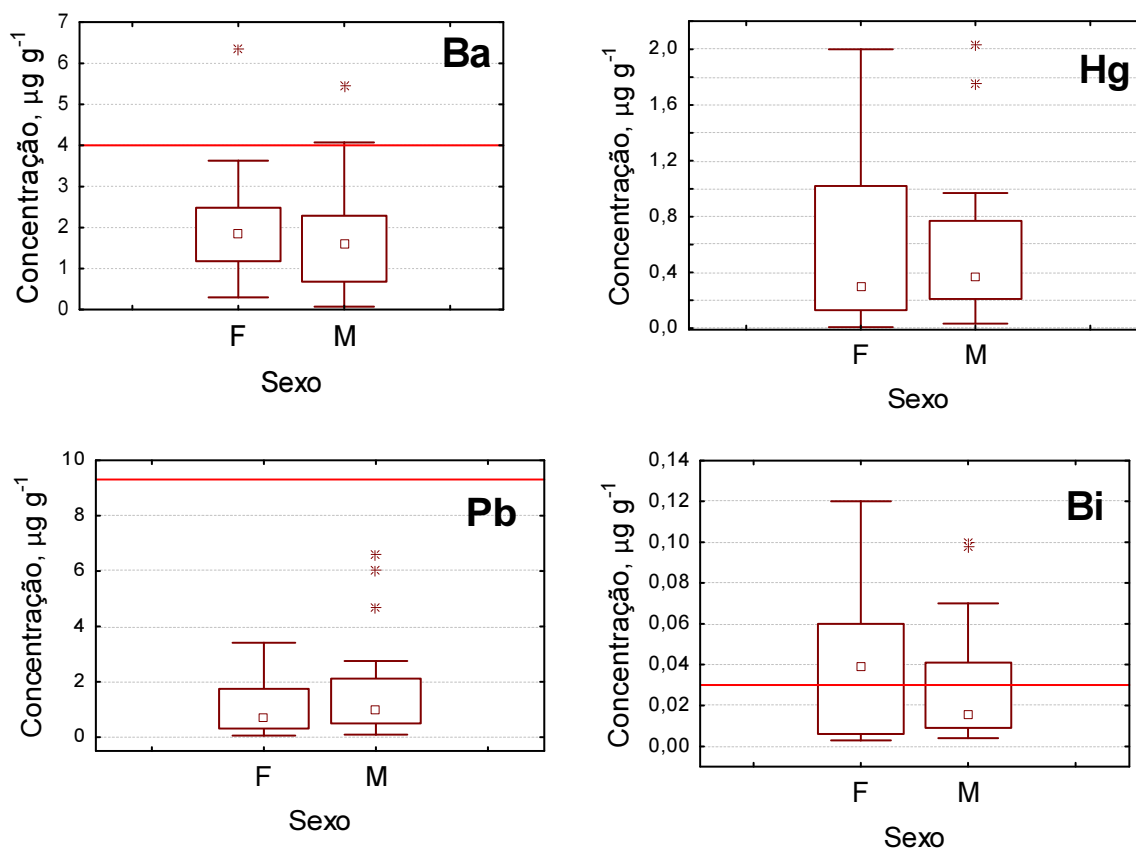


Figura 17 - Box plot das mulheres (esquerda, F) e homens (direita, M) com cabelos naturais. A reta vermelha corresponde ao valor máximo de referência segundo (CARNEIRO *et al.*, 2002). O asterisco (\*) indica outliers

Tabela 14 - Teste não paramétrico de Mann-Whitney U para mulheres (F, n=31) e homens (M, n=34) com cabelos naturais.

	Soma Rank M	Soma Rank F	U	Z	p-valor	Z ajustado	p-valor	2*1 bicaudal p
<b>Al</b>	1016,000	1129,000	520,0000	-0,09194	0,926747	-0,09194	0,926745	0,932440
<b>Ni</b>	1095,500	1049,500	454,5000	0,95222	0,340987	0,95337	0,340401	0,343367
<b>Ag</b>	1156,500	988,500	393,5000	1,75339	0,079535	1,75797	0,078753	0,079481
<b>Cd</b>	1051,500	1093,500	498,5000	0,37432	0,708166	0,37493	0,707712	0,710026
<b>Sb</b>	976,500	1168,500	480,5000	-0,61073	0,541377	-0,61229	0,540348	0,543864
<b>Ba</b>	1114,500	1030,500	435,5000	1,20176	0,229456	1,20179	0,229445	0,231170
<b>Hg</b>	972,500	1172,500	476,5000	-0,66327	0,507159	-0,66335	0,507108	0,509707
<b>Pb</b>	918,500	1226,500	422,5000	-1,37251	0,169907	-1,37260	0,169879	0,171038
<b>Bi</b>	1085,500	1059,500	464,5000	0,82088	0,411717	0,82129	0,411481	0,414272
<b>U</b>	1166,000	979,000	384,0000	1,87817	0,060359	1,87989	0,060123	0,060949

## 6 Conclusões

O trabalho buscou comparar resultados da análise do mineralograma capilar de mulheres e homens, considerando no grupo das mulheres amostras de cabelos que são normalmente descartadas neste tipo de análise por terem passado por alguma transformação química devido à utilização de tinturas e/ou alisamentos.

A avaliação dos resultados foi feita por meio de ferramentas estatísticas, como gráficos do tipo *box plot*, matrizes de correlação e análises de fatores. Com auxílio deles, foi possível verificar interrelações entre elementos e divergências estatísticas de medianas, por exemplo.

No estudo relativo aos “elementos essenciais e outros” das voluntárias do sexo feminino, as quais tinham ou não algum tratamento no cabelo, obteve-se diferença estatística na análise de Mg, K, Ca, V, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Sr e Mo. A fim de averiguar quais subgrupos eram responsáveis pelas diferenças, realizou-se teste de Dunn. Pode-se concluir que, se comparássemos dois grandes grupos, onde um seria formado por mulheres que possuem os cabelos naturais, e o outro por cabelos quimicamente modificados, teríamos observado que o Mn e o Co não sofreriam alteração em seus resultados laboratoriais. Dentro do grupo dos que divergiram, o Mg, Ca e Sr apresentaram medianas mais elevadas quando havia tintura; o V apresentou resultados acima dos limites utilizados como referência neste trabalho até mesmo nos cabelos naturais e por fim, Fe, Cu, Zn e Mo mantiveram suas medianas entre os limites, levando-nos a crer que não impactariam em uma interpretação errônea do laudo.

Em relação aos mesmos elementos estudados, mas desta vez considerando homens e mulheres sem quaisquer alterações estéticas nos fios do cabelo, obteve-se diferença estatística significativa para Mg, Ca, Sr, Mo e Au, mas todas as medianas encontraram-se dentro dos limites utilizados como referência. Assim, apesar de diferenças metabólicas e rotineiras entre os gêneros diferentes, é possível trabalhar em uma faixa comum a ambos.

Em relação aos elementos tóxicos - os quais são capazes de causar diversas doenças e disfunções se presentes em alta concentração no organismo - para o grupo formado apenas por mulheres, os metais Ni, Ba e U apresentaram diferença estatística significativa. Eles apresentaram medianas abaixo da referência utilizada neste trabalho.

Fazendo a mesma consideração dos elementos tóxicos para os voluntários (as) com cabelos naturais, nenhum elemento demonstrou diferença estatística significativa.

Por fim, é possível concluir que não é inviável a utilização de cabelos com tinturas e/ou alisamentos para a condução do exame de mineralograma, podendo o exame ser realizado nos pacientes com quaisquer tratamentos estéticos nos cabelos.

- BARBOUR, R. **Determinação de impurezas em cobre eletrolítico por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado**. Salvador: UFBA, 2011. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/9876/1/Tese%20doutorado%20final%20Reinaldo%20Barbour.pdf>>.
- BHUSHAN, B. **Springer handbook of nanotechnology**. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2010.
- BORMANN DE SOUZA, V. L.; PAIVA, A. C. DE; BRAGA POGGI, C. M. Elements in hair of an exposed group. WOS:000262673500041: **Journal of radioanalytical and nuclear chemistry**, fev. 2009. v. 279, n. 2, p. 679–680.
- CAMPBELL, J. D. Lifestyle, minerals and health. **Medical hypotheses**, nov. 2001. v. 57, n. 5, p. 521–531.
- CARLOS RAPOSO, J. *et al.* Analytical proposal for trace element determination in human hair application to the Biscay province population, northern Spain. WOS:000339134700016: **Microchemical journal**, set. 2014. v. 116, p. 125–134.
- CARNEIRO, M. *et al.* Reference intervals for minor and trace elements in human hair for the population of Rio de Janeiro city, Brazil. WOS:000173582200008: **Química nova**, fev. 2002. v. 25, n. 1, p. 37–45.
- CHOJNACKA, K. *et al.* Inter-relationship between elements in human hair: the effect of gender. WOS:000283625400028: **Ecotoxicology and environmental safety**, nov. 2010. v. 73, n. 8, p. 2022–2028.
- \_\_\_\_\_; MICHALAK, I.; *et al.* The effect of hair characteristics and treatments on mineral composition of scalp hair. WOS:000312234300006: **Polish journal of environmental studies**, 2012. v. 21, n. 5, p. 1167–1173.
- \_\_\_\_\_; SAEID, A.; *et al.* Effects of local industry on heavy metals content in human hair. WOS:000313371500006: **Polish journal of environmental studies**, 2012. v. 21, n. 6, p. 1563–1570.
- CHOJNACKA, K.; GORECKA, H.; GORECKI, H. The effect of age, sex, smoking habit and hair color on the composition of hair. WOS:000238800100009: **Environmental toxicology and pharmacology**, jul. 2006. v. 22, n. 1, p. 52–57.
- DONGARRA, G. *et al.* Concentration and reference interval of trace elements in human hair from students living in Palermo, Sicily (Italy). WOS:000292432400004: **Environmental toxicology and pharmacology**, jul. 2011. v. 32, n. 1, p. 27–34.
- GRABEKIS, A. R. *et al.* Sex dependent peculiarities of some important chemical element ratios in hair of schoolchildren. WOS:000289227600002: **Trace elements and electrolytes**, 2011. v. 28, n. 2, p. 88–90.

HOPPS, H. C. The biologic bases for using hair and nail for analyses of trace elements. PMID: 319530: **The science of the total environment**, jan. 1977. v. 7, n. 1, p. 71–89.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos. doq-cgcre-008. [S.l.], 2011. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8\\_04.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf)>. Acesso em: 6 jul. 2016.

KHALIQUE, A. *et al.* A comparative study based on gender and age dependence of selected metals in scalp hair. WOS:000228979500004: **Environmental monitoring and assessment**, maio. 2005. v. 104, n. 1-3, p. 45–57.

LANGLEY, A.; DAMERON, C. T. Copper and anesthesia: clinical relevance and management of copper related disorders. PMID: 23762044PMCID: PMC3666360: **Anesthesiology research and practice**, 2013. v. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3666360/>>. Acesso em: 28 mar. 2016.

MARTORELL, I. *et al.* Concentrations of trace elements in the hair of children living near a hazardous waste incinerator in catalonia, spain. WOS:000352123900001: **Trace elements and electrolytes**, 2015. v. 32, n. 2, p. 43–51.

MIEKELEY, N. *et al.* Elemental anomalies in hair as indicators of endocrinologic pathologies and deficiencies in calcium and bone metabolism. **Journal of trace elements in medicine and biology**, 2001. v. 15, n. 1, p. 46–55.

MORTON, J.; CAROLAN, V. A.; GARDINER, P. H. E. Removal of exogenously bound elements from human hair by various washing procedures and determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, 18 mar. 2002. v. 455, n. 1, p. 23–34.

NAVARRO, M. S. **A implantação de rotina, e seu refinamento, para a determinação de elementos terras raras em materiais geológicos por icp-oes e icp-ms. aplicação ao caso dos granitóides de piedade-ibiúna (sp) e cunhaporanga (pr)**. [S.l.]: Universidade de São Paulo, 2004. text. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/44/44135/tde-15052008-084945/>>. Acesso em: 14 jan. 2016.

PAULA, C. M. S. S. De; JOEKES, I. Alterações na ultra-estrutura do cabelo induzidas por cuidados diários e seus efeitos nas propriedades de cor. [S.l.], 9 jan. 2001. Tese de Doutorado. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000232696&fd=y>>. Acesso em: 13 nov. 2015.

POZEBON, D.; DRESSLER, V. L.; CURTIUS, A. J. Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para determinação de elementos traço e aplicações. **Química nova**, 1999. v. 22, n. 6.

RAO, K. S. *et al.* Determination of iron, cobalt, nickel, manganese, zinc, copper, cadmium and lead in human hair by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. WOS:000178492500008: **Spectrochimica acta part b-atomic spectroscopy**, 30 ago. 2002. v. 57, n. 8, p. 1333–1338.

ROBBINS, C. R. **Chemical and physical behavior of human hair**. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2001.

- SAHOO, S. K. *et al.* Distribution of uranium, thorium and some stable trace and toxic elements in human hair and nails in niska banja town, a high natural background radiation area of serbia (balkan region, south-east europe). WOS:000355499200008: **Journal of environmental radioactivity**, jul. 2015. v. 145, p. 66–77.
- SAMANTA, G. *et al.* Arsenic and other elements in hair, nails, and skin-scales of arsenic victims in west bengal, india. WOS:000221723000002: **Science of the total environment**, 29 jun. 2004. v. 326, n. 1-3, p. 33–47.
- SANTOS, S. B. Dos. **Elementos traço em soro sanguíneo medidos pelos métodos pixe e icp-ms**. [S.l.]: Universidade de São Paulo, 2007. text. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/43/43134/tde-23082007-091608/>>. Acesso em: 14 jan. 2016.
- SENOFONTE, O.; VIOLANTE, N.; CAROLI, S. Assessment of reference values for elements in human hair of urban schoolboys. **Journal of trace elements in medicine and biology**, Abril. 2000. v. 14, n. 1, p. 6–13.
- SHIOBARA, Y.; YOSHIDA, T.; SUZUKI, K. T. Effects of dietary selenium species on se concentrations in hair, blood, and urine. WOS:000076994700004: **Toxicology and applied pharmacology**, out. 1998. v. 152, n. 2, p. 309–314.
- SKALNY, A. V. *et al.* Reference values of hair toxic trace elements content in occupationally non-exposed russian population. WOS:000359175000003: **Environmental toxicology and pharmacology**, jul. 2015. v. 40, n. 1, p. 18–21.
- THOMAS, R. A beginner's guide to icp-ms. **Spectroscopy**, 2001. v. 16, n. 4, p. 38–42.
- TORRENTE, M.; COLOMINA, M. T.; DOMINGO, J. L. Metal concentrations in hair and cognitive assessment in an adolescent population. **Biological trace element research**, jun. 2005. v. 104, n. 3, p. 215–221.
- VEIGA, M. A. M. S. DA. **Determinação de elementos traço por aas e icp-ms após extração no ponto nuvem, usando dietil-ditiofosfato como agente quelante**. [S.l.]: [s.n.], 2000. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/78174>>. Acesso em: 14 jan. 2016.
- WAGNER, R. De C. C.; JOEKES, I. A estrutura da medula e sua influencia nas propriedades mecanicas e de cor do cabelo. [S.l.], 12 jul. 2006. Tese de Doutorado. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000400746>>. Acesso em: 25 out. 2015.
- XIA, L. *et al.* Single-drop microextraction combined with low-temperature electrothermal vaporization icpms for the determination of trace be, co, pd, and cd in biological samples. **Analytical chemistry**, maio. 2004. v. 76, n. 10, p. 2910–2915.
- YADAV, V. B.; PILLAY, R. H.; JHA, S. K. Application of total reflection x-ray fluorescence spectrometry for multi-elements characterization in human hair. WOS:000333122100010: **Journal of radioanalytical and nuclear chemistry**, abr. 2014. v. 300, n. 1, p. 57–60.

## Apêndice I

**Tabela referente à concentração média em  $\mu\text{g g}^{-1}$  dos elementos essenciais e outros, e tóxicos, nos cabelos dos voluntários, além dos intervalos utilizados como referência para este trabalho.**





	Mulheres		Mulheres - Naturais		Mulheres - Alisamento		Mulheres - Tintura		Mulheres - T e A		Homens		CARNEIRO <i>et al.</i> (2002)
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Intervalo de Referência
<b>Elementos tóxicos</b>													
<b>Al</b>	18,6	13,2	18,8	10,9	17,0	15,9	21,1	14,8	15,0	10,8	21,1	16,7	< 14
<b>Ni</b>	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	0,2	< 0,7
<b>Ag</b>	0,3	0,8	0,4	1,4	0,2	0,3	0,3	0,5	0,3	0,5	0,1	0,2	< 0,4
<b>Cd</b>	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	< 0,27
<b>Sb</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	< 0,03
<b>Ba</b>	4,0	4,2	1,9	1,1	2,4	3,2	5,6	5,4	4,8	3,5	1,7	1,2	< 3,0
<b>Hg</b>	0,6	0,7	0,7	1,1	0,4	0,4	0,7	0,6	0,5	0,3	1,0	1,7	< 2,4
<b>Pb</b>	1,0	1,3	1,4	2,1	0,6	0,7	1,1	1,0	0,5	0,4	2,1	3,5	< 10
<b>Bi</b>	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	n/d
<b>U</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	n/d

\*\* abaixo do limite de detecção; n/d = não determinado

## Apêndice II

Correlação entre os metais nas voluntárias do sexo feminino.

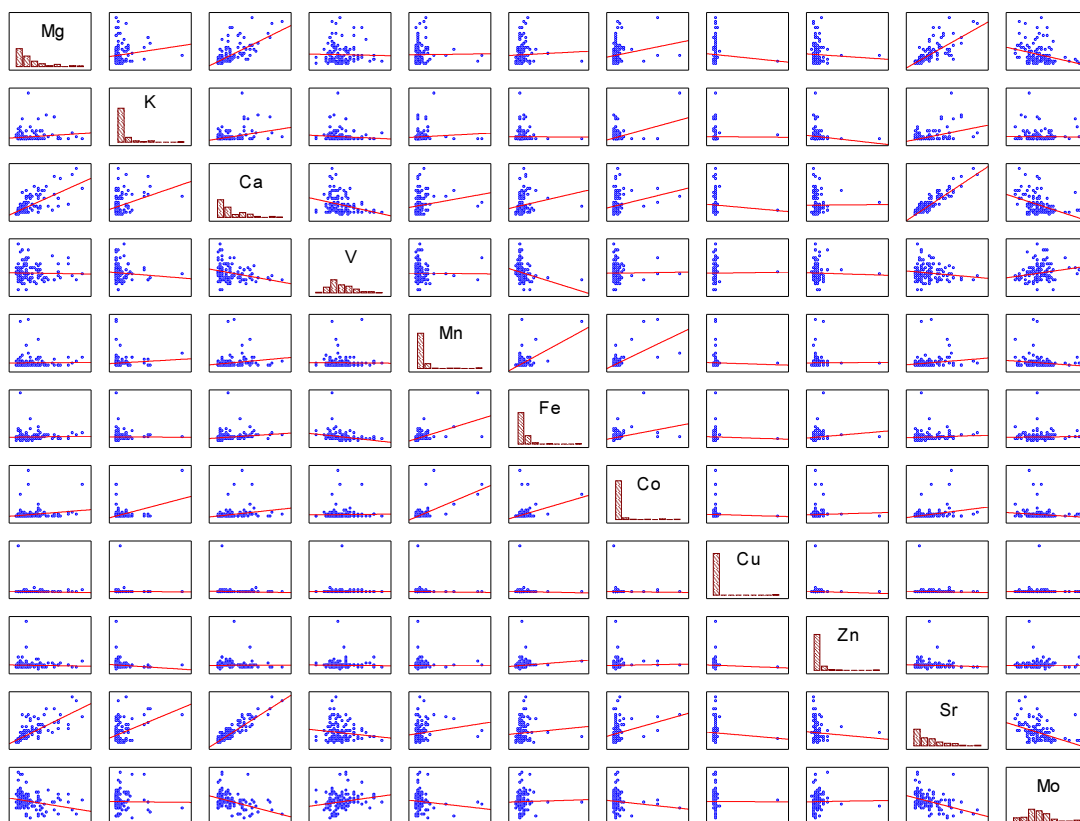


Figura 18 - Correlação entre os metais, na forma gráfica, nas voluntárias do sexo feminino.

## Anexo I

### Questionário preenchido por cada participante.

Nome:

Idade:

Sexo:

E-mail

Profissão:

Tipo de pele:  Negro  Branco  Pardo

Tipo de cabelo:  Liso  Crespo  Ondulado

Utiliza shampoo anti-caspa:  Sim  Não

Tratamentos capilares:

Tintura  Alisamento  Tintura + Alisamento  Nenhum

Se souber, indicar qual produto é utilizado no tratamento capilar:

Pratica esportes?  Sim  Não Se sim, qual?

Frequenta praia?  Sim  Não

Come frutas?  Sim  Não

Come carnes?  Sim  Não

Come frutos do mar?  Sim  Não Quais?

Ingere bebidas alcoólicas?  Sim  Não

Com que frequência?  Diariamente  Semanalmente  Raramente

Costuma consumir outros tipos de bebidas em latas de alumínio?

Sim  Não

Possui panelas de alumínio em casa?  Sim  Não

Possui algum problema de saúde crônico?  Sim  Não Qual?

Fez uso de algum remédio no último trimestre?  Sim  Não Qual?

Toma algum suplemento alimentar?  Sim  Não Qual?

Faz uso de anticoncepcional?  Sim  Não Qual?

## Anexo II

**Cópia do certificado referente ao material certificado NCS DC73347a da *China National Analysis Center for Iron and Steel*, 2015.**

## Certified values and uncertainty

Element	Certified values	Element	Certified values	Element	Certified values
Ag(10 <sup>-9</sup> )	(50)	Ce(10 <sup>-6</sup> )	(0.35)	Fe(10 <sup>-6</sup> )	36±5
Al(10 <sup>-2</sup> )	(2)	Cl(10 <sup>-2</sup> )	(0.018)	Gd(10 <sup>-9</sup> )	20±5
As(10 <sup>-6</sup> )	0.28±0.05	Co(10 <sup>-6</sup> )	0.045±0.009	Ge(10 <sup>-9</sup> )	(0.6)
B(10 <sup>-6</sup> )	2.9±0.5	Cr(10 <sup>-6</sup> )	0.41±0.12	Hf(10 <sup>-6</sup> )	(0.6)
Ba(10 <sup>-6</sup> )	11.4±0.6	Cs(10 <sup>-6</sup> )	(0.003)	Hg(10 <sup>-9</sup> )	670±100
Be(10 <sup>-9</sup> )	110±7	Cu(10 <sup>-6</sup> )	14.3±1.6	Ho(10 <sup>-9</sup> )	4.6±1.8
Bi(10 <sup>-9</sup> )	21±2	Dy(10 <sup>-9</sup> )	20±7	I(10 <sup>-6</sup> )	0.8±0.2
Br(10 <sup>-6</sup> )	(1.1)	Er(10 <sup>-9</sup> )	14±5	K(10 <sup>-2</sup> )	(0.002)
Ca(10 <sup>-2</sup> )	0.145±0.020	Eu(10 <sup>-9</sup> )	3.7±1.1	La(10 <sup>-6</sup> )	0.16±0.04
Cd(10 <sup>-6</sup> )	0.07±0.01	F(10 <sup>-6</sup> )	(11)	Li(10 <sup>-6</sup> )	(1.6)

Element	Certified values	Element	Certified values	Element	Certified values
Lu(10 <sup>-9</sup> )	(2.8)	Rb(10 <sup>-6</sup> )	(0.06)	Ti(10 <sup>-6</sup> )	(3.3)
Mg(10 <sup>-2</sup> )	(0.014)	S(10 <sup>-2</sup> )	4.19±0.11	Tl(10 <sup>-9</sup> )	7.7±1.1
Mn(10 <sup>-6</sup> )	2.0±0.3	Sb(10 <sup>-6</sup> )	(0.065)	Tm(10 <sup>-9</sup> )	21.±0.7
Mo(10 <sup>-6</sup> )	0.17±0.03	Sc(10 <sup>-6</sup> )	(0.018)	U(10 <sup>-9</sup> )	99±15
N(10 <sup>-2</sup> )	13.9±0.5	Se(10 <sup>-6</sup> )	0.58±0.12	V(10 <sup>-6</sup> )	0.50±0.18
Na(10 <sup>-6</sup> )	0.0089±0.0012	Si(10 <sup>-2</sup> )	(0.06)	Y(10 <sup>-6</sup> )	11.2±1.7
Nd(10 <sup>-6</sup> )	0.093±0.020	Sm(10 <sup>-9</sup> )	19±6	Yb(10 <sup>-9</sup> )	15±6
Ni(10 <sup>-6</sup> )	0.43±0.12	Sn(10 <sup>-6</sup> )	(0.2)	Zn(10 <sup>-6</sup> )	137±9
P(10 <sup>-2</sup> )	0.014±0.002	Sr(10 <sup>-6</sup> )	7.7±0.4	Ash(%)	(5.5)
Pb(10 <sup>-6</sup> )	5.7±0.5	Tb(10 <sup>-9</sup> )	3.3±0.9		
Pr(10 <sup>-9</sup> )	25±6	Th(10 <sup>-6</sup> )	0.064±0.011		

**Note:** Data behind "±" are uncertainty; Data with \* means percent. Data in ( ) is reference value.

1. The certified value is the mean of analytical results of no less than 6 independent laboratories.
2. Standard uncertainty U is got by

$$U = t_{0.05(n-1)} \cdot \sqrt{u_a^2 + u_b^2} = t_{0.05(n-1)} \cdot \sqrt{(s/\sqrt{n})^2 + [R/(2 \cdot \sqrt{3m})]^2}$$

$U_a$ ,  $U_b$  is type A and type B standard uncertainty respectively, t is t value of t distribution from 95% confidence interval and degree of freedom n-1; S is standard deviation; n is number of data; R is the max difference of the mean of analytical method; m is number of analytical methods for statistic ( $n \geq 2$ ). If there is only one kind of method,

3.  $s/\sqrt{N}$  is used to estimate the uncertainty.

3. The sample is packed in bottle with size less 80 meshes. The minimum weight for analysis is 0.2g. The sample should be stoved at 80 °C for 4 hours before using (for elements that easy to evaporate the temperature is 60 °C). The package is 6g/bottle.

4. The sample should be tight sealed after each use and stored in drier at dark and cool place.
5. The certification will expire in Dec.2025, although we reserve the right to make change as issue revisions. The material was provided by Institute of Geophysical and Geochemical Exploration.