

ISABELA SIEBRA ROCHA DE ARAÚJO

DOSAGEM CAPILAR DE MINERAIS POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO

ISABELA SIEBRA ROCHA DE ARAÚJO

DOSAGEM CAPILAR DE MINERAIS POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientador: Juliano Alexandre Chaker

ISABELA SIEBRA ROCHA DE ARAÚJO

DOSAGEM CAPILAR DE MINERAIS POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Juliano Alexandre Chaker
Universidade de Brasília

Profa. Dra. Vivian da Silva Santos Universidade de Brasília

Prof. Dr. Mac-Kedson Medeiros Salviano Santos Centro Universitário Euro-Americano

AGRADECIMENTOS

Gostaria de aproveitar este espaço para agradecer àqueles que me apoiaram e me acompanharam neste caminho difícil que é a graduação em uma universidade pública, que se tornou ainda mais difícil no contexto de uma pandemia.

A minha maior gratidão é e sempre será pela minha mãe, Regina, que nunca deixou de acreditar em mim, obrigada por ser minha maior motivação. Agradeço também às minhas irmãs de coração, Mariana e Maria Luisa, por tanto apoio, conforto e motivação para seguir.

Agradeço aos meus amigos Augusto, Jéssica e Michele, que nunca deixaram faltar companheirismo, e agradeço a minha prima, amiga e confidente Elaine, que me acompanha nos altos e baixos desde antes da entrada na UnB. Agradeço a minha amiga Bruna, com quem me identifiquei tanto, pela parceria tão especial e por me permitir dizer que fiz uma amiga durante a graduação.

Agradeço ao meu amor, João, por sempre se mobilizar para me colocar para cima e ter tanta confiança em mim. Agradeço ao meu anjo da guarda, Kiara, por ser meu maior apoio emocional.

Meu último agradecimento é para o meu orientador, Juliano, pela oportunidade, e para o meu quase co-orientador, Mac-Kedson, que foi quem permitiu que esse trabalho fosse realizado.

RESUMO

Apesar da disponibilidade de técnicas para a monitoração biológica de indicadores de saúde como hormônios, minerais e vitaminas, as amostras analisadas geralmente usam sangue ou urina e, portanto, estão sujeitas a diferentes flutuações, como alterações no ritmo circadiano, estados de estresse, ou variações metabólicas. Dentre as amostras teciduais humanas, o cabelo possui grande potencial de uso e se mostra como uma alternativa às amostras que são mais comumente utilizadas. Hoje, para a análise mineral capilar, os instrumentos multi-elementos de mais uso são ICP-OES e ICP-MS, entretanto são metodologias que, nesta área, precisam ser mais exploradas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar a dosagem de minerais presentes em amostras de cabelo e correlacionar os resultados com as características metabólicas e do estado nutricional do indivíduo. Foram preparadas curvas de calibração com padrões analíticos em intervalos de concentração proporcionais aos encontrados na amostra de cabelo. Além disso, foi possível alcançar os intervalos de concentração em mg% de 23,9 a 26,2 para o cálcio, 0,3 a 0,4 para o cobre, de 0,1 a 0,3 para o potássio, de 0,9 a 1,1 para o magnésio, 0,7 a 1,1 para o sódio e para o zinco de 8,7 a 10,1 nas dosagens de minerais em equipamento ICP-OES. Os resultados mostraram ser possível a determinação dos minerais em amostra capilar, podendo ainda correlacionar o quadro nutricional do indivíduo com as características oxidantes de seus metabolismos.

Palavras-chave: Espectrometria. Minerais. Macrominerais. Cabelo. Metabolismo.

ABSTRACT

Despite the availability of techniques for biological monitoring of health indicators such as hormones, minerals and vitamins, the samples analyzed normally use blood or urine collection and are subject to different fluctuations, such as changes in circadian rhythm, humor, or metabolic variations. Among the tissue samples, the hair has great potential for use, it's an alternative to other samples that are more commonly used. Today, for capillary mineral analysis, the most used multi-element instruments are ICP-OES and ICP-MS, however, in this area, these methodologies need to be further explored. Therefore, the aim of this study is to perform the dosage of minerals and metals present in a hair sample and correlate the results with the metabolic characteristics and nutritional status. Calibration curves were prepared with analytical standards in concentration ranges proportional to those found in the hair sample. Additionally, it was possible to reach concentration ranges in mg% from 23,9 to 26,2 for calcium, 0,3 to 0,4 for copper, 0,1 to 0,3 for potassium, 0,9 to 1,1 for magnesium, 0,7 to 1,1 for sodium and 8,7 to 10,1 for zinc in mineral dosages in ICP-OES equipment. The results showed that it is possible to determine the minerals in a capillary sample, which can also correlate the individual's nutritional status with the oxidative characteristics of their metabolisms.

Palavras-chave: Spectrometry. Minerals. Macrominerals. Hair. Metabolism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Fases de crescimento do cabelo	13
Figura 02 – Corte transversal de uma fibra capilar	14
Figura 03 – Potenciais interações entre os minerais	16
Figura 04 – Fluxograma contendo etapas da metodologia	24
Figura 05 – Curvas de calibração padrão para os minerais cálcio, col	ore, potássio
magnésio, sódio e zinco	28

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 01 – Tipos e níveis de oxidação	23
Tabela 01 – Intervalo das concentrações encontradas na amostra	em ppb e
mg%	29
Tabela 02 - Razões entre as médias das concentrações (mg%) do	s minerais
encontrados na amostra	29
Tabela 03 – Razões entre minerais e suas possíveis implicações	31

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ca Cálcio

CaCl2 Cloreto de Cálcio

Cu Cobre

ETAAS Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica

HNO3 Ácido Nítrico

ICP-MS Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

ICP-OES Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente

acoplado

K Potássio

MECS3 Multi-element ICP-OES Calibration Standard 3

Mg Magnésio

Na Sódio

OMS Organização Mundial da Saúde

PPB Partes por bilhão

PPM Partes por milhão

Zn Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇAO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Estrutura e fisiologia capilar	13
2.2 Cabelo como amostra biológica	14
2.3 Minerais	15
2. 3. 1 Cálcio	18
2. 3. 2 Sódio	19
2. 3. 3 Potássio	20
2. 3. 4 Magnésio	20
2.3.5 Cobre	21
2.3.6 Zinco	21
2.4 Oxidantes	22
3 JUSTIFICATIVA	23
4 OBJETIVOS	24
4.1 Objetivo Geral	24
4.2 Objetivos Específicos	24
5 METODOLOGIA	24
5.1 Coleta das amostras	24
5.2 Digestão das amostras	25
5.3 Curvas de calibração	25
5.3.1 Preparo de soluções-padrão para sódio, potássio, z magnésio	
5.3.2 Preparo de soluções-padrão para cobre	26
5.3.3 Preparo de soluções-padrão para cálcio	26
5.3.3.1 Padronização do cálcio	26
5.3.3.1 Preparo das soluções	27
5.4 Medição	27
6 RESULTADOS	27
7 DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÃO	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXO I - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTI PESQUISA	

1 INTRODUÇÃO

Um elemento diferencial da aparência física é o cabelo. Apesar das propriedades capilares semelhantes entre os diferentes grupos étnicos, o ser humano tem características individuais únicas quando se trata do tamanho e forma do cabelo, além do seu tempo de crescimento (CRUZ *et al.*, 2016).

A análise capilar possui o potencial de avaliar e reconstruir episódios passados relevantes para a saúde, mesmo os já encerrados. Estima-se que cada centímetro do cabelo corresponde ao intervalo de 1 mês de crescimento, logo o nível de um mineral encontrado no cabelo não só reflete o seu nível no organismo como também fornece um histórico a longo prazo. Enquanto isso, a amostra de urina geralmente possui uma estreita janela de detecção, entre 36 a 72 horas, assim como a sanguínea, que é ainda mais restrita e decai rapidamente nos casos de exposição aguda. A amostra de sangue, ademais, possui um meio de coleta invasivo e com risco de transmissão de doenças enquanto manipulada (KEMPSON; LOMBI, 2011; POZEBON; SCHEFFLER; DRESSLER, 2017).

Através do biomonitoramento capilar é possível avaliar o acúmulo, e posterior eliminação, de elementos químicos pelo organismo. Tem-se, então, a possibilidade de quantificar a exposição do ser humano a elementos tóxicos, ou ainda de realizar testes diagnósticos com foco na exposição crônica a metais pesados (BLAUROCK-BUSCH et al., 2014; IZYDORCZYK et al., 2021). A exposição de um organismo humano a elementos pesados como o chumbo ou o cádmio, por exemplo, pode levar a alterações no funcionamento do sistema nervoso central e do periférico, além de hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e outros prejuízos (WOZNIAK et al., 2016).

As análises de cabelo podem ter aplicações no controle de doping, na exposição ocupacional ou acidental a determinados xenobióticos e no auxílio da avaliação do estado nutricional e do diagnóstico de doenças. Entretanto, existem alguns possíveis interferentes nas amostras capilares que são alvos de apreciação, como os tratamentos cosméticos e o uso de tinturas (DOMINGUES, 2015).

Ainda que não seja um instrumento de diagnóstico médico muito bem estabelecido no que diz respeito à exames que vão além das análises toxicológicas, a análise da concentração de minerais em amostra capilar é um método que viabiliza a avaliação do quadro nutricional do indivíduo por meio de amostra

não-invasiva, com janela de detecção que não se limita a alterações metabólicas agudas, dentre tantas outras vantagens que são frequentemente validadas.

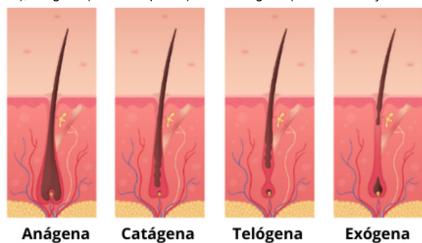
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estrutura e fisiologia capilar

O cabelo humano é um tecido complexo que basicamente tem a função biológica de proteção do couro cabeludo. Mesmo apresentando características únicas quanto a velocidade de crescimento, tamanho e forma do cabelo, existem características gerais comuns entre indivíduos de mesma origem étnica (CRUZ et al., 2016).

Podendo ser considerado um mini órgão, o folículo capilar tem sua morfogênese iniciada ainda na fase embrionária e passa por fases características conhecidas, em conjunto, como ciclo do cabelo. Esse ciclo é controlado pelas células-tronco do próprio folículo capilar e composto pelas fases anágena, catágena, telógena e exógena, esta última podendo ou não estar presente no ciclo. A fase anágena é demarcada pela diferenciação e crescimento da haste do folículo capilar, seguida de uma fase de regressão do ciclo devido a células entrando em apoptose, a fase catágena. A fase que se segue é a telógena, uma fase de repouso, podendo ainda seguir, ou não, para a fase exógena, caracterizada pela liberação do folículo (RISHIKAYSH, *et al., 2014;* VANBUREN; EVERTS, 2022). Essas fases podem ser melhor visualizadas na Figura 01.

Figura 01 – Fases de crescimento do cabelo: anágena (fase de crescimento), catágena (fase de regressão), telógena (fase de repouso) e fase exógena (fase de liberação do folículo).

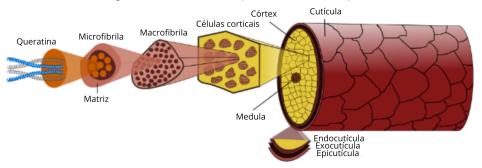


Fonte: Adaptado de Grymowicz, et al., 2020.

A estrutura do fio de cabelo é formada por três constituintes morfológicos: o córtex, que é o corpo principal do cabelo e contém uma complexidade de estruturas,

a cutícula, que é formada por pequenas camadas de escamas de queratina que se superpõem sobre o córtex servindo como uma barreira protetora e, às vezes, a medula. Além disso, é recoberto e constituído por água, aminoácidos e proteínas, lipídeos, bioelementos, principalmente de cloreto de sódio e de potássio, provenientes do suor humano e das secreções naturais do couro cabeludo (GALEMBEK; CSORDAS, 2012; CRUZ et al., 2016). A Figura 02 demonstra esquematicamente a composição das camadas do fio de cabelo.

Figura 02 – Corte transversal de uma fibra capilar. É possível visualizar no esquema os constituintes morfológicos de uma fibra capilar e outros componentes.



Fonte: Adaptado de CRUZ et al., 2016.

O cabelo, com taxa de crescimento próxima a 1 cm por mês (ALESSANDRINI; PIRACCINI, 2016), tem como principal fonte nutricional o suprimento sanguíneo, onde estão contidos traços de qualquer coisa que vem a ser ingerida pelo indivíduo, ou seja, qualquer xenobiótico e/ou seus metabólitos podem ser incorporados na matriz do cabelo em crescimento. Assim, correlações com as concentrações dos elementos na matriz capilar vêm sendo feitas (LEMI; KEMPSON, 2011).

2.2 Cabelo como amostra biológica

A monitoração biológica auxilia na avaliação da exposição do corpo humano a elementos químicos de diferentes origens, fornecendo informações sobre a absorção e via de exposição, e considerando os riscos e benefícios aos quais está sendo exposto (IZYDORCZYK *et al.*, 2021; TEHRANI; YANG; PARSONS, 2020). Para a avaliação precisa da homeostase, é interessante que a amostra usada para a análise sofra baixa influência de alterações metabólicas (KEMPSON; LOMBI, 2011).

Normalmente, as amostras de escolha para avaliação da homeostase corporal são a urina e o sangue, por já serem fortemente entendidas e possuírem resultados de diagnósticos confiáveis. Apesar disso, as análises capilares possuem grande potencial, trazendo vantagens como: facilidade de obtenção da amostra,

armazenamento e preparação simples, sem necessitar de técnicas avançadas para a preservação (KEMPSON; LOMBI, 2011; UEKI; FUKUSAKI; SHIMMA, 2021).

Quando realizada de maneira correta, a dosagem de elementos utilizando amostra de cabelo é precisa e confiável, tendo em vista que os métodos permitem as dosagens em unidades de partes por milhão (ppm) ou partes por bilhão (ppb) (WILSON, 2016). As concentrações dos elementos encontrados nessas análises capilares podem ser até 10 vezes maiores que as presentes no sangue ou urina, o que está evidenciado em trabalhos como o de Chen (2014).

A análise mineral do cabelo, em especial, permite a investigação aprofundada de aspectos nutricionais e metabólicos do corpo humano de forma rápida e não invasiva. Estudos científicos mostram a importância do biomonitoramento de metais essenciais em amostras de cabelo: atualmente, um objeto de atenção da Organização Mundial da Saúde (OMS) é em relação ao *burnout* – deficiência aguda e desequilíbrio nas concentrações de minerais essenciais como cálcio, magnésio, potássio e sódio (WILSON, 2016; PASSWATER; CRANTON, 1983).

Mesmo já se sabendo da possibilidade do uso do cabelo para determinação da presença de elementos traço 100 anos antes, nos anos 60 houve uma redescoberta dessa possibilidade, trazendo nas décadas seguintes descobertas e evoluções no conhecimento sobre o assunto, incluindo novas técnicas analíticas, destacando-se 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) (POZEBON; DRESSLER; CURTIUS, 1999). Hoje, o termo "traço" tem se tornado obsoleto, visto que a evolução da pesquisa nessa área permitiu que estes elementos fossem muito bem quantificados. Isso foi possível graças à modernização da instrumentação analítica (MOMČILOVIĆ, *et al.*, 2018).

2.3 Minerais

Os elementos essenciais que participam dos processos biológicos, responsáveis em grande parte pela homeostase orgânica, podem ser classificados em macrominerais – incluem cálcio, magnésio, sódio, potássio e fósforo, "elementos traço" - ferro, zinco, cobre, selênio, manganês, e elementos ultra-traço - conhecidos anteriormente como metais tóxicos, incluem o chumbo, mercúrio, cádmio, arsênio, alumínio e outros (WILSON, 2016). Esses bioelementos são constituintes ou

interagem com as enzimas responsáveis pelas diversas reações químicas dentro do nosso organismo (PASSWATER; CRANTON, 1983).

Sobre a importância e a complexidade dos elementos minerais, o estudo de Momčilović *et al.* (2018) afirma:

Se assumirmos os elementos como letras específicas do alfabeto da vida e, em seguida, agrupar ou separar os bioelementos que possuem propriedades químicas e/ou fisiológicas similares de um léxico de palavras, então a combinação dessas palavras em frases significativas poderia ser sua sintaxe metabólica (Momčilović *et al.*, 2018, p. 544).

Os minerais estão funcionalmente correlacionados, ou seja, o aumento significativo de um determinado mineral pode resultar na deficiência ou na interferência no metabolismo de um outro mineral. Dentre eles, os macrominerais cálcio, potássio, sódio e magnésio merecem um maior destaque devido não somente a importância dos seus níveis dosados isoladamente, mas também pelas correlações feitas, que podem trazer informações acerca do quadro nutricional do indivíduo (PASSWATER; CRANTON, 1983). Não obstante, elementos como cobre e zinco também possuem significância já que podem estar associados com diversas disfunções orgânicas consideráveis, como a anemia, e com funções que garantem a homeostase corporal (JENG; CHEN, 2022; WILSON, 2016).

A Figura 03 apresenta com objetividade as possíveis correlações existentes entre diferentes minerais no organismo. Com um mineral tendo poder de influência sobre diversos outros, o desequilíbrio deste pode ter consequências na homeostase daqueles que estão de alguma forma relacionados, ou ainda o desequilíbrio de inúmeros elementos pode convergir sobre um único mineral.

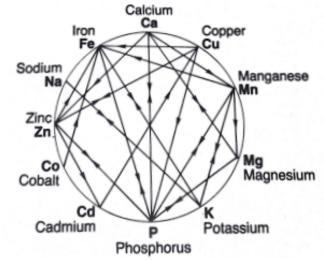


Figura 03 – Potenciais interações entre os minerais.

Fonte: Passwater e Cranton, 1983.

A OMS (1996) considera um elemento essencial quando a ausência ou a deficiência do elemento na dieta produz anormalidades tanto estruturais quanto funcionais, sendo elas consequências de alterações bioquímicas específicas que podem ser revertidas pela presença do elemento essencial. Ou seja, além dos danos que a deficiência de determinados minerais pode causar diretamente à saúde humana, à medida que a deficiência de determinados nutrientes ocorre, elementos tóxicos podem substituir quimicamente os sítios de ligação enzimáticos, abrindo portas para potenciais doenças. Oposto a isso, o excesso de minerais pode levar a uma competição pelos sítios de ligação, também prejudicando a utilização de outros (WILSON, 2016; PASSWATER; CRANTON, 1983). O desequilíbrio nos níveis dos minerais pode decorrer de desnutrição, disfunção metabólica, ou mesmo de doenças preexistentes (KEMPSON; LOMBI, 2011).

Muito se discute sobre a exposição a metais tóxicos, porém estes elementos já tiveram suas funções essenciais reconhecidas, como é o caso do selênio, crômio e arsênio, deixando até mesmo de serem referidos exclusivamente como tóxicos. É importante destacar como a determinação de determinados elementos como sendo tóxicos está caindo em desuso, visto que qualquer elemento pode vir a ser tóxico dependendo da sua concentração (PASSWATER; CRANTON, 1983; MOMČILOVIĆ, et al., 2018). É necessário, porém, levar em consideração o risco de toxicidade de alguns minerais, alguns maiores que outros, mesmo com a sua essencialidade comprovada.

Na atualidade, a análise mineral pode ter sua aplicabilidade exemplificada no estudo das consequências da COVID-19 - doenças cardiovasculares, relacionadas ao desequilíbrio de macronutrientes como sódio, cálcio, potássio e magnésio, podem ter relação com a COVID-19 tratando-se da deficiência de determinados minerais por ela causada, seja por quais forem os fatores (MELO; LACERDA, 2022; SEVERINO *et al.*, 2022).

Em função do desempenho nas atividades metabólicas, a deficiência nos níveis dos diferentes minerais acarreta prejuízos orgânicos consideráveis. Ademais, diferentes populações podem ser afetadas com a variação dos níveis destes elementos de formas distintas, podendo variar quanto a localização geográfica, idade, sexo, e outros fatores (PASSWATER; CRANTON, 1983). Muito se estuda acerca do risco nutricional, porém pouco se sabe sobre a interação entre estes

minerais, principalmente no que diz respeito a população brasileira, e sobre os impactos, além dos nutricionais, que o desequilíbrio destes minerais podem causar.

2. 3. 1 Cálcio

O cálcio é um dos elementos mais abundantemente presente no corpo humano, mais precisamente nos ossos (PEREIRA, *et al.*, 2009; SCHAFFER *et al.*, 2022; ZORODDU *et al.*, 2019), apesar de somente isso não explicar diretamente a sua importância. É um elemento que tem recebido destaque na área da saúde pública devido a sua relevância na saúde e função óssea em conjunto com a vitamina D (PEREIRA, *et al.*, 2009).

Dentre as principais funções do cálcio, é possível citar o seu papel na divisão celular, na contração e relaxamento muscular, e na regulação do sódio e potássio na permeabilidade das células. O cálcio também está envolvido na transmissão de determinados impulsos relacionados aos batimentos cardíacos, no controle hormonal das glândulas paratireoides (WILSON, 2016; PASSWATER; CRANTON, 1983) e na cascata de sinalização de diversas reações intracelulares, como a cascata de coagulação sanguínea (ZORODDU *et al.*, 2019).

A relevância deste elemento segue para além dos ossos e dentes, ainda que esteja majoritariamente concentrado nesses locais: pequenas quantidades podem estar presentes nos tecidos nervosos e no sangue, e sua deficiência pode gerar contrações musculares dolorosas, além de artrite e osteoporose, irritabilidade e insônia. Já seu excesso pode interferir tanto sobre a absorção do zinco quanto sobre o magnésio e o fósforo, principalmente, podendo levar a fraqueza muscular, dores, aterosclerose e metabolismo lento (PASSWATER; CRANTON, 1983; SCHAFFER et al., 2022). Principalmente quando analisado juntamente ao magnésio, os níveis de cálcio podem ainda mostrar relação com a mortalidade nos casos graves de COVID-19 (GUERRERO-ROMERO et al., 2022).

O cálcio tem sua disponibilidade afetada por fatores exógenos, como o sódio e a vitamina D, e endógenos, como idade, condições fisiológicas e regulações hormonais, que podem afetar sua absorção e excreção (PEREIRA, *et al.*, 2009). Um exemplo que pode ser citado é o aumento do cálcio intracelular, aumentando a contração do músculo liso e a pressão sanguínea, resultante da deficiência de magnésio - o magnésio é um bloqueador dos canais de cálcio (CHANIHOON *et al.*, 2022; KINSHELLA *et al.*, 2022).

O equilíbrio de cálcio no organismo pode ajudar na prevenção de cálculos renais em pacientes com desordens gastrointestinais, pancreáticas e hepáticas. Quanto à sua dosagem em amostra capilar, os níveis podem estar reduzidos principalmente de acordo com a idade, encontrando-se significativamente baixo em indivíduos com cabelos naturalmente grisalhos (PASSWATER; CRANTON, 1983).

2. 3. 2 Sódio

Podendo ser encontrado principalmente de forma extracelular, o sódio é um elemento monovalente de grande importância no corpo, assim como o potássio, com papel essencial no controle do pH corporal, da permeabilidade celular e do nível de água corporal (SCHAFFER *et al.*, 2022; WILSON, 2016; PASSWATER; CRANTON, 1983). Apesar da sua presença predominante no fluido celular, o sódio também possui depósitos em outros tecidos – ossos, pele e músculos (SCHAFFER *et al.*, 2022).

O excesso de sódio pode resultar no aumento da pressão arterial devido à maior retenção de água e consequente aumento no volume sanguíneo (WILSON, 2016; PASSWATER; CRANTON, 1983), assim como pode aumentar o risco de doenças cardiovasculares em indivíduos normotensos ou hipertensos em estágio 1 com alta razão sódio:potássio (XIE et al., 2022). O seu suprimento regular, porém, se faz necessário para garantir a homeostase corporal, uma vez que está em constante excreção renal (SCHAFFER et al., 2022).

Presente no sal (NaCl), a ingestão excessiva de sódio pode aumentar o risco de doenças cardíacas e renais (MINEGISHI et al., 2020) além de poder aumentar o risco de osteoporose devido a sua relação com o cálcio (PARK et al., 2015). Entretanto, diferente do que parte da população acredita, outras condições que aumentam os níveis sanguíneos de sódio podem incluir distúrbios hormonais, como o diabetes insipidus, e não somente a dieta (SCHAFFER et al., 2022). Minerais como o sódio e o potássio podem também desempenhar papéis em transtornos como depressão, por meio das suas atividades sobre o controle hormonal, por exemplo (PREJAC et al., 2012), e esquizofrenia (MA et al., 2020).

2. 3. 3 Potássio

O potássio, contrariamente ao sódio, é encontrado em sua maioria no meio intracelular. Tem função significativa na regulação osmótica e condução nervosa, principalmente no coração, também tendo atuação no controle da permeabilidade celular (WILSON, 2016; ZORODDU *et al.*, 2019).

Um mecanismo de controle dos níveis de potássio intracelular importante é a bomba de sódio/potássio-ATPase que, ao controlar a entrada e saída de potássio e sódio, respectivamente, regula a distribuição de fluidos entre os compartimentos intracelulares e extracelulares, por ação osmótica (ZORODDU *et al.*, 2019).

Apesar de ser comum nas dietas a tentativa de equilibrar os níveis de sódio e potássio, há mais potássio presente em nosso corpo do que sódio. A razão entre sódio e potássio tem grande importância clínica devido a atuação de ambos sobre o sistema cardiovascular e a pressão arterial, podendo ainda estar relacionada a edema, desidratação e alterações no ritmo cardíaco (PASSWATER; CRANTON, 1983).

2. 3. 4 Magnésio

O magnésio também é considerado um elemento estrutural, porém com um papel mais relacionado à estrutura enzimática, podendo servir como cofator de mais de 300 reações enzimáticas (KIRKLAND; SARLO; HOLTON, 2018). Outra atuação que pode ser destacada é na redução de cálculos renais, principalmente aqueles que contém oxalato de cálcio (PASSWATER; CRANTON, 1983).

Sua deficiência é comumente observada já que está pouco presente nos alimentos ingeridos nas dietas, trazendo sinais e sintomas como irritabilidade, fadiga, insônia e outros sinais inespecíficos devido a sua ampla atuação. Juntamente com o cálcio, tem sua deficiência relacionada a doenças cardíacas e pode estar mais concentrado em mulheres do que em homens devido a questões hormonais (WILSON, 2016; PASSWATER; CRANTON, 1983; MOMČILOVIĆ, *et al.*, 2018). Apesar de pouco diagnosticada por ter sua relevância subestimada, a deficiência de magnésio pode apresentar relação com a COVID-19 já que desempenha um importante papel no sistema imune (MELO; LACERDA, 2022; PASSWATER; CRANTON, 1983)

Sua função corporal está bastante relacionada ao fósforo e ao cálcio em diversos aspectos (MELO; LACERDA, 2022; PASSWATER; CRANTON, 1983). A

exemplo, os estudos de Kirkland, Sarlo e Holton (2018) e Luo *et al.* abordam a relação existente entre os níveis de magnésio e transtornos psiquiátricos - a alta ingestão de magnésio, principalmente em adultos com baixa ingestão de cálcio, pode estar associada ao aumento do risco de demência.

Outra atuação do magnésio que pode ser destacada é na redução de cálculos renais, principalmente aqueles que contém oxalato de cálcio (PASSWATER; CRANTON, 1983).

2.3.5 Cobre

O cobre é um mineral com sua importância destacada pelo seu envolvimento nos mais diversos processos metabólicos - é difícil estabelecer especificamente todas as suas funções devido ao seu envolvimento com os mais diversos processos corporais (PASSWATER; CRANTON, 1983; DZIEDZIC *et al.*, 2022). Geralmente é abordado em conjunto com o zinco por conta da relação existente entre eles, havendo uma associação importante quando atuam sobre a atividade sexual e reprodutiva, atividade cerebral, resposta ao estresse, sistema imune e outros (WILSON, 2016).

A deficiência deste mineral pode aumentar o risco de doenças cardíacas, principalmente por sua concentração sofrer influência dos níveis de zinco. É um mineral que atua na manutenção do sistema vascular e sua relação com o zinco pode ainda estar associada com quadros de anemia já que o cobre possui ação sobre a formação de hemoglobina (PASSWATER; CRANTON, 1983; PLUM; RINK; HAASE, *et al.*, 2010; WILSON, 2016).

Além da sua atuação no sistema cardiovascular, que advém da sua função sobre os tecidos conjuntivos, também tem papel sobre a produção de energia celular, glândulas tireóide e adrenais, sistema nervoso e sobre o crescimento (WILSON, 2016).

2.3.6 Zinco

Diferente de outros minerais, acreditava-se não existir deficiência de zinco por conta da sua grande disponibilidade no solo. O estudo mais sensível e preciso, assim como o melhor entendimento dos seus papéis no organismo, só foram possíveis a partir da possibilidade do uso da espectrometria de absorção atômica

para a sua análise visto que, até então, os instrumentos analíticos disponíveis não forneciam a acurácia necessária (PASSWATER; CRANTON, 1983). Hoje, porém, tem-se um cenário contrário no que diz respeito a sua disponibilidade no solo, o que pode estar associado, dentre demais fatores, a sua comum deficiência (WILSON, 2016).

Acredita-se que hoje em dia exista uma deficiência generalizada da dupla zinco e cobre (WILSON, 2016). Sua deficiência pode por exemplo impactar na atuação do sistema imune devido ao seu papel na síntese de proteínas, além de causar efeitos no sistema nervoso, no sistema reprodutor e até mesmo na pele, assim como o zinco (PASSWATER; CRANTON, 1983; PLUM; RINK; HAASE, *et al.*, 2010). Uma outra implicação dos níveis de zinco é mostrada no estudo de Zabłocka-Słowińska *et al.* (2018) - pacientes com câncer de pulmão possuem uma razão entre as concentrações séricas de cobre e zinco aumentada pela alta concentração de cobre e deficiência de zinco.

Não somente seus níveis podem afetar a concentração do cobre, mas outros minerais, como o sódio, também podem se alterar – na análise mineral capilar altos níveis de zinco podem diminuir a concentração de sódio e até mesmo a de cálcio (WILSON, 2016).

2.4 Oxidantes

Os níveis capilares de minerais são apenas uma pequena parte da análise. As proporções e os padrões dos minerais, mais complexos, fornecem mais informações quando comparados apenas aos níveis dos minerais. As razões e proporções entre os minerais permitem a classificação dos organismos em dois principais grupos – os oxidantes rápidos e os oxidantes lentos, que irão contar ainda com seis principais tipos de organismos. Esses tipos de oxidação representam diferentes quadros homeostáticos da química corporal (WILSON, 2016).

Um organismo oxidante rápido é caracterizado pelo excesso dos efeitos provocados pelas glândulas adrenais e pela tireoide, não se tratando dos níveis hormonais, e sim dos efeitos advindos das glândulas. Um organismo com rápida oxidação se encontra em um estado inicial de estresse, como um estado de luta ou fuga derivado do sistema nervoso simpático. Altos níveis de sódio na amostra de cabelo, por exemplo, pode ser uma característica de organismos com rápida oxidação (WILSON, 2016).

Os oxidantes lentos possuem os efeitos destas glândulas reduzidos e, comparados ao rápido, compõem um estado mais relacionado ao sistema nervoso parassimpático, porém não de uma forma saudável, uma vez que este estado está servindo como um mecanismo de defesa (WILSON, 2016).

Fatores que podem ter ação sobre os tipos de oxidação e as proporções dos minerais incluem o estilo de vida, características individuais, uso indiscriminado de medicamentos, diferenças hormonais, e outros. Quanto à oxidação ideal, se trata de uma oxidação flexível, que tem a capacidade de se autorregular conforme a necessidade corporal (KEMPSON; LOMBI, 2011; WILSON, 2016). O Quadro 01 exibe os principais aspectos, tanto matemáticos quanto fisiológicos, que diferem os oxidantes rápidos e os oxidantes lentos, abordando os quatro minerais essenciais.

Quadro 01 – Tipos e níveis de oxidação.

Tipos metabólicos	Oxidantes rápidos	Oxidantes lentos	
Razões entre os minerais	Ca/Mg < 4; Na/K<2,5; Ca/K < 0,5	Ca/Mg > 9; Na/K > 6; Ca/K > 100	
Concentrações elevadas	Na e K altos	Ca e Mg altos	
Características	Podem se apresentar em diferentes níveis: leve, moderado e extremo; os sintomas incluem irritabilidade, ansiedade, nervosismo e outros.	Podem apresentar os mesmos níveis dos oxidantes lentos; se tratando de um oxidante rápido temporário, as características podem ser compartilhadas com as características dos oxidantes lentos, que incluem: ansiedade, depressão, cansaço e, em alguns casos, hipotiroidismo.	

Fonte: Adaptado de Wilson, 2016.

A partir do quadro nutricional do indivíduo, visto que estes minerais basicamente advêm da dieta, é possível estabelecer padrões com diferentes interpretações, além de, em conjunto, identificar o organismo como oxidante rápido, lento ou misto (WILSON, 2016).

3 JUSTIFICATIVA

Os principais minerais presentes no nosso organismo são: Cálcio, Magnésio, Sódio e Potássio, os quais participam desde as mais simples até as mais complexas reações que acontecem em nosso corpo, além de outros que, apesar da sua extrema relevância já comprovada, são conhecidos como elementos traço, são eles o cobre e o zinco Apesar da disponibilidade de técnicas para a realização de biomonitoramento, as amostras comumente estão sujeitas a diferentes alterações metabólicas, como alterações no ritmo circadiano, no humor, ou acontecimentos momentâneos (IOB e STEPTOE, 2019). Portanto, o cabelo como uma amostra

biológica com menor influência metabólica e passível de coleta não invasiva, acaba por se tornar um valioso tecido que merece maior destaque no estudo de elementos como estes.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Realizar a dosagem de minerais e metais presentes em amostras de cabelo e correlacionar as propriedades físicas e químicas do cabelo com o estado nutricional do indivíduo.

4.2 Objetivos Específicos

- Estudar métodos de digestão do cabelo e metodologia analítica (ICP-OES)
 para viabilizar as dosagens de metais no cabelo; e
- analisar amostras reais de cabelo e correlacionar, em pares de minerais e metais, com possíveis impactos na saúde do indivíduo.

5 METODOLOGIA

A Figura 04 apresenta as atividades realizadas no processo metodológico a fim de melhorar o entendimento do fluxo de atividades.

Construção das curvas de calibração

Padronização do Ca

Soluções-padrão Ca

Análise das curvas de calibração

Soluções-padrão Cu

Metodologia

Coleta das amostras

Digestão das amostras

Medição no ICP-OES

Figura 04 – Fluxograma contendo etapas da metodologia.

Fonte: de autoria própria.

5.1 Coleta das amostras

A coleta foi realizada com o auxílio de tesoura de aço inox, utilizando-se luvas sem pó. O corte foi feito rente ao couro cabeludo, enrolando a parte coletada até

atingir a espessura aproximada de 5 mm e amarrando a parte a ser cortada com elástico. Com 3 dias de antecedência em relação a coleta, o cabelo passou por processo de lavagem com sabão neutro. O cabelo utilizado como amostra possuía coloração.

Após o acondicionamento em tubo Falcon de 50 mL, já no laboratório, as amostras foram pesadas em balança analítica de forma a atingir o valor próximo de 150 mg e foram novamente acondicionadas. Para minimizar os riscos de contaminação por COVID-19, as tesouras passaram por processo de sanitização com solução de álcool antes e depois da coleta.

5.2 Digestão das amostras

As amostras foram digeridas em digestor Microwave Reaction System SOLV – Multiwave PRO – Anton Paar. Para tanto, foram transferidas para tubos reatores herméticos, onde foram adicionados 5 mL de solução de proporção 3:2 de Ácido Nítrico (HNO₃) e água deionizada.

As amostras foram digeridas a 1000 W de potência, 200 °C de temperatura, por um tempo total de 40 minutos, incluindo o tempo de resfriamento. Ao final desse tempo, foram transferidas para um balão volumétrico de 50 mL, completado até o menisco com solução de HNO3 a 5%.

5.3 Curvas de calibração

5.3.1 Preparo de soluções-padrão para sódio, potássio, zinco e magnésio

O sistema do equipamento ICP-OES foi calibrado usando soluções padrão preparadas a partir de um padrão analítico Multi-element ICP-OES Calibration Standard 3 (MECS3) a 10 µL/mL de ácido nítrico (HNO3) 5%, ou 10000 ppb.

Para que a calibração pudesse ser realizada, adotou-se o intervalo de concentração para cada um dos minerais sendo igual as concentrações encontradas normalmente em amostras de cabelo, padronizadas em um único intervalo que compreenderia todos os 3 elementos — 100 ppb a 2000 ppb. Tendo estabelecido esse intervalo, as soluções foram preparadas de forma que, ao final, se obtivessem 5 soluções com concentrações de 100 ppb, 250 ppb, 500 ppb, 1000 ppb e 2000 ppb cada.

Para isso, inicialmente foram adicionados 15 mL de solução de HNO3 a 5%, previamente preparada a partir de diluição de 5 mL do ácido em 95 mL de água tipo I, em 5 tubos cônicos tipo Falcon identificados de acordo com a concentração a ser atingida. Para a diluição, de acordo com a concentração alvo, foi retirado um volume da solução de HNO3 adicionada nos tubos para que esse mesmo volume do padrão MECS3 pudesse ser acrescentado – para o tubo que comportaria a solução de 100 ppb o volume foi de 0,15 μL, para o de 250 ppb foi de 0,375 μL, para o de 500 ppb foi de 0,75 μL, para o de 1000 ppb foi de 1,5 μL e para o de 2000 ppb foi de 3 μL.

5.3.2 Preparo de soluções-padrão para cobre

Por se tratar de um elemento encontrado em concentrações menores nos fios de cabelo, o intervalo de concentração do cobre se diferencia um pouco dos demais elementos - a curva pretendida da concentração de cobre está no intervalo de 25 ppb a 400 ppb.

Dito isso, as soluções para a curva do cobre foram preparadas a partir das soluções-padrão preparadas inicialmente para a construção das curvas de calibração dos macrominerais sódio, potássio e magnésio. Para isso, cada uma das 5 soluções foi diluída quatro vezes afim de chegar às concentrações de 25 ppb, 62,5 ppb, 125 ppb, 250 ppb e 500 ppb, cada uma em um novo tubo identificado de acordo com a concentração final.

5.3.3 Preparo de soluções-padrão para cálcio

5.3.3.1 Padronização do cálcio

Ao contrário do cobre, o cálcio é um macromineral encontrado em maiores concentrações na fibra capilar quando comparado aos outros quatro macrominerais, tendo a sua curva pretendida com intervalo de concentração entre 2000 ppb e 20000 ppb.

Levando em consideração que a concentração do padrão MECS3 é de apenas 10000 ppb, o seu uso para a preparação das soluções-padrão do cálcio para calibração do ICP-OES torna-se impossibilitado visto que a sua concentração máxima é apenas a metade do mínimo necessário para a curva pretendida deste elemento. Deste modo, a preparação dessas soluções teve como base uma solução padronizada de cloreto de cálcio (CaCl2) de 40000 ppb de concentração.

A preparação de 50 mL da solução de CaCl2 foi feita a partir do peso molar (PM) do CaCl2 – 110,99 g/mol, já que a sua concentração real não era conhecida. Para determinar a concentração real, uma porção diluída da solução passou pelo equipamento como amostra. Tendo conhecimento do valor real, fez-se então a padronização das soluções.

5.3.3.2 Preparo das soluções

Mesmo se tratando de concentrações muito baixas, foi possível preparar 5 soluções secundárias a partir da solução padronizadas com as seguintes concentrações: 1000 ppb, 2500 ppb, 5000 ppb, 10000 ppb e 20000 ppb.

As curvas de calibração foram apresentadas através de gráficos construídos no Microsoft Excel (365).

5.4 Medição

As amostras foram colocadas no espectrômetro de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado (marca: Perkin Elmer; Modelo: Optima 8000). Os parâmetros da medida foram: 1400 W de potência da radiofrequência, fluxo de argônio do plasma de 1,5 mL/min, fluxo do gás auxiliar de 0,7 L/min e vazão do nebulizador a 0,5 L/min.

Todas as etapas foram realizadas utilizando-se os devidos equipamentos de proteção individual. Os resultados foram trabalhados estatisticamente no Microsoft Excel (365).

6 RESULTADOS

A Figura 4 mostra as curvas de calibração para os minerais cálcio, cobre, potássio, magnésio, sódio e zinco, respectivamente. Pode-se observar no *in-set* da Figura 04 o eixo X com os valores das concentrações em ppb, o eixo Y com os valores das intensidades medidas, a equação de regressão linear e o índice de regressão para cada um dos ajustes. É possível inferir que, independentemente do mineral analisado, o coeficiente de regressão é maior que 0,9, o que revela uma boa linearidade entre os dados teóricos e os dados experimentais.

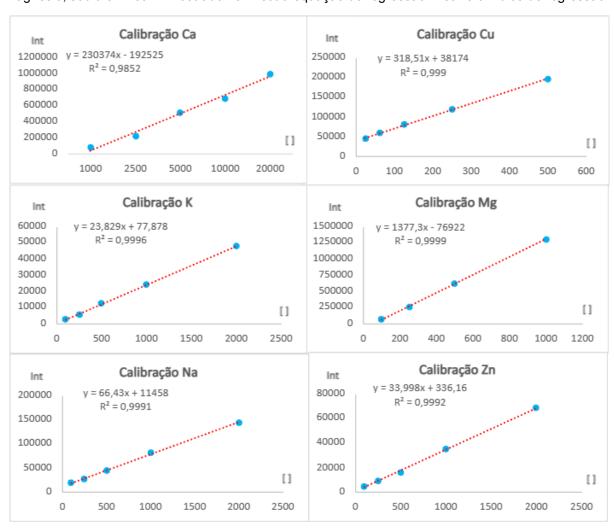


Figura 05 – Curvas de calibração padrão para os minerais cálcio, cobre, potássio, magnésio, sódio e zinco. É mostrado no *in-set* a equação de regressão linear e o índice de regressão.

Fonte: elaborado pelo autor.

Os intervalos dos minerais em partes por bilhão (ppb) encontrados na amostra de cabelo medida, calculados a partir da equação de regressão linear obtida através das curvas de calibração, estão dispostos na Tabela 01. Na mesma tabela, também estão dispostos os intervalos das concentrações calculadas levando em consideração a amostra total pesada, de aproximadamente 150 mg, utilizando como unidade mg%. Realizando-se a amostragem de três diferentes partes de uma mesma amostra foi possível alcançar, em ppb, os intervalos de 5384,3 a 5899,6 para o cálcio, 76,5 a 84,2 para o cobre, 26,3 a 72,7 para o potássio, 218,3 a 261,2 para o magnésio, 204,1 a 243,4 para o sódio e 1957,4 a 2268,6 para o zinco. Já o intervalo das concentrações em mg%, alcançado por meio dos valores em ppb, para o cálcio foi de 23,9 a 26,2, para o cobre foi de 0,3 a 0,4, para o potássio foi de 0,1 a 0,3, para

o magnésio foi de 0,9 a 1,1, para o sódio foi de 0,7 a 1,1 e para o zinco foi de 8,7 a 10,1.

Tabela 01 – Intervalo das concentrações encontradas na amostra em ppb e mg%.

Minerais	Intervalo (ppb)	Intervalo (mg%)
Ca	5384,3 – 5899,6	23,9 – 26,2
Cu	76,5 – 84,2	0.3 - 0.4
K	26,3 – 72,7	0,1-0,3
Mg	218,3 – 261,2	0,9 - 1,1
Na	204,1 - 243,4	0,7 - 1,1
Zn	1957,4 – 2268,6	8,7 – 10,1

Fonte: elaborado pelo autor.

Utilizando-se os valores das concentrações em mg% calculadas foi possível calcular também as razões entre os minerais, de forma a identificar de qual tipo de metabolismo se tratava o organismo correspondente à amostra. Os valores das razões encontradas para Ca/K, de 120,5, para Ca/Mg, de 24,66, para Zn/Cu, de 27,52, para Na/K, de 4,11, e para Na/Mg, de 0,85, estão dispostos na Tabela 02.

Tabela 02 – Razões entre as médias das concentrações (mg%) dos minerais encontrados na

amostra.		
Minerais Razões		
Ca/K	120,5	
Ca/Mg	24,6	
Zn/Cu	27,5	
Na/K	4,1	
Na/Mg	0,9	

Fonte: elaborado pelo autor.

7 DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou o ICP-OES como um método passível de uso na dosagem capilar dos minerais apresentados. A confiança nos resultados se confirma quando é comprovada a boa linearidade do método a partir dos valores dos coeficientes de regressão linear que se mantiveram superiores a 0,9, mesmo na situação do cálcio em que foi utilizado um padrão secundário na análise.

Sem considerar os transtornos que afetam a absorção de nutrientes, o que está presente na nossa realidade é que comemos cada vez menos comida, porém ainda precisamos da mesma quantidade de minerais e elementos traço. Além disso, certos elementos estão sendo demasiados adicionados na dieta, podendo causar desequilíbrio em outros minerais. Para tanto, a aplicação dos conceitos de oxidantes oferece o entendimento e a possibilidade de corrigir dezenas de sintomas e

condições físicas vistas comumente na população (PASSWATER; CRANTON, 1983; WILSON, 2016).

A principal aplicabilidade para a análise capilar de minerais é a construção de um mineralograma com as implicações dos resultados obtidos na saúde do indivíduo. A integração da área nutricional com a prática clínica na utilização do mineralograma como exame complementar pode se mostrar como um diferencial na abordagem da saúde geral do indivíduo.

Com base na literatura de Wilson (2016), os valores ideais em mg% são de 2 mg% e 16 mg% para o cobre e o zinco, respectivamente. Dito isso, tendo a amostra analisada apresentado concentrações entre 0,3 - 0,4 mg% para o cobre e 8,7 - 10,1 mg% para o zinco, é possível inferir que o indivíduo em evidência apresenta deficiência de ambos os minerais. É importante destacar que a análise capilar de cobre deve ser apenas complementar aos outros minerais e métodos, visto que se trata de um mineral que apresenta certa aleatoriedade em sua análise, necessitando de um melhor delineamento de metodologia usada para a sua análise (WILSON, 2016).

Quanto aos demais minerais essenciais em questão, a literatura traz como intervalos ideais para as razões: 2 - 6 mg% para Na/K, 4 - 9,5 mg% para Ca/Mg, 2 - 6 mg% para Ca/K e 2 - 6,5 mg% para Na/Mg. Posto isto, os valores encontrados para a amostra avaliada, dispostos na Tabela 03, permitem traçar um perfil mineral e as possíveis implicações na saúde do indivíduo o qual se refere a amostra, o que está demonstrado no Quadro 02. A Tabela 03 serve apenas como um demonstrativo da relação existente entre os níveis dos minerais medidos neste trabalho com possíveis implicações para a saúde do indivíduo. Com mais informações obtidas através de questionários sobre o indivíduo que forneceu a amostra para o estudo e a dosagem de um maior número de minerais seria possível a elaboração de um relatório com dados concisos.

Tabela 03 – Razões entre minerais e suas possíveis implicações.

Minerais	Razões (mg%)	Possíveis implicações
Na/K	4,37	Concentração ideal, sem implicações.
Ca/Mg	24,66	Possível estresse emocional.
Ca/K	120,5	Resultado preocupante, provavelmente originado por altos níveis de estresse.
Na/Mg	0,87	A razão está abaixo do recomendado. Glândulas adrenais e tireóide podem estar sobrecarregadas.

Fonte: Adaptado de Wilson, 2016.

Somente com os resultados obtidos neste trabalho e com os dados de literaturas estudadas é possível observar um organismo com traços indicativos de oxidante lento, com destaque na razão Ca/K > 100. Isso implica em dizer que o organismo em questão pode apresentar efeitos reduzidos de glândulas, como as adrenais e a tireóide, e um quadro de exaustão (WILSON, 2016), porém não é possível colocar isto como um fato visto que faltam mais dados sobre o indivíduo.

Isto posto, este estudo se mostra importante na discussão acerca das metodologias analíticas utilizadas na dosagem mineral do cabelo e como a sua aplicabilidade pode permitir uma investigação completa do corpo humano, de forma rápida, de fácil acesso e não invasiva. Estendendo a discussão para análise dos quadros oxidativos, um monitoramento contínuo se mostra necessário visto que se os níveis dos minerais podem ser alterados por inúmeros fatores implicando em diferentes respostas sobre a saúde geral do indivíduo

6 CONCLUSÃO

O trabalho analisou níveis de minerais presentes em amostras reais de cabelo, correlacionando os dados das razões entre os minerais com possíveis impactos na saúde, de forma que foi possível aplicar e aprimorar as metodologias analíticas descritas na literatura para o equipamento de ICP-OES.

Apesar de se tratar de um material com extrema relevância na área de análises de materiais biológicos devido a seus inúmeros diferenciais, ainda estamos nos referindo a uma matriz bastante complexa e com metodologias ainda em desenvolvimento quando falamos da amostra de cabelo. Portanto, a comprovação por meio deste estudo da viabilidade do uso de ICP-OES para a dosagem dos principais minerais abre espaço para estudos futuros.

A utilização de um número maior de amostras bem como a extensão da análise para outros minerais e metais se fazem necessárias em pesquisas futuras acerca do tema estudado, além da aplicação de questionários para a obtenção de dados sobre os indivíduos envolvidos no estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALESSANDRINI, A., PIRACCINI, B. M. Essential of hair care cosmetics. **Cosmetics**, v. 3, n. 4, p. 34, 2016.

ASLAN, A., *et al.* Trace element levels in serum and gastric mucosa in patients with Helicobacter pylori positive and negative gastritis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 75, 2023.

BACIU, T. *et al.* Recent trends in analytical methodsand separation techniques for drugs of abuse in hair. **Analithica Chimica Acta**, v. 856, p. 1–26, 2015.

BLAUROCK-BUSCH, E. *et al.* (2014). Comparing the metal concentration in the hair of cancer patients and healthy people living in the Malwa region of Punjab, India. **Clinical Medicine Insights**: Oncology, v. 2014, n. 8, p. 1–13, 2013.

CHANIHOON, G. Q. *et al.* Determining the level of essential elements in patients with Ewing Sarcoma: A correlation. **Environmental Research**, v. 211, 2022.

CHEN, H. *et al.* The diagnostics of diabetes mellitus based on ensemble modeling and hair/urine element level analysis. **Computers in biology and medicine**, v. 50, p. 70-75, 2014.

CRUZ, C. F. *et al.* Human hair and the impact of cosmetic procedures: A review on cleansing and shape-modulating cosmetics. **Cosmetics**, v. 3, n. 26, p. 1-22, 2016.

DOMINGUES, M. I. S. Análise de cabelo – procedimento e aplicações. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa. Porto, p. 53. 2015.

DZIEDZIC, E. A. *et al.* Investigation on the Association of Copper and Copper-to-Zinc-Ratio in Hair with Acute Coronary Syndrome Occurrence and Its Risk Factors. **Nutrients**, v. 14, n. 19, 2022.

GUERRERO-ROMERO, F. *et al.* Magnesium-to-calcium ratio and mortality from COVID-19. **Nutrients**, v. 14, 2022.

GRYMOWICZ, M., *et al.* Hormonal Effects on Hair Follicles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5342, 2020.

IOB, E., STEPTOE, A. Cardiovascular Disease and Hair Cortisol: a Novel Biomarker of Chronic Stress. **Current Cardiology Reports**, v. 21, n. 116, ago. 2019.

IZYDORCZYK, G. *et al.* Hair mineral analysis in the population of students living in the Lower Silesia region (Poland) in 2019: Comparison with biomonitoring study in 2009 and literature data. **Environmental Research**, v. 196, n. 2021, p. 1-11, nov. 2020.

JENG, S., CHEN, Y. Association of Zinc with Anemia. **Nutrients**, v. 14, n. 4918, 2022.

KEMPSON, I., LOMBI, E. Hair analysis as biomotor for toxicology, disease and health status. **The Royal Society of Chemistry**, v. 40, p. 3915-3940, jan. 2011.

KINSHELLA, M. L. W. *et al.* Maternal nutritional risk factors for pre-eclampsia incidence: findings from a narrative scoping review. **Reproductive Health**, vol. 19, no. 1, dez. 2022.

KIRKLAND, A. E., SARLO, G. L., HOLTON, K. F. The role of magnesium in neurological disorders. **Nutrients**, v. 10, n. 6, p. 730, 2018.

MA, J., *et al.* Association between serum essential metal elements and the risk of schizophrenia in China. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2020.

MELO, H. F., LACERDA, P. S. Associação entre a deficiência em magnésio e a doença do coronavírus (covid-19): uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Health Review,** v. 5, n. 3, p. 10958-10970, 2022.

MINEGISHI, S. *et al.* Sodium handling and interaction in numerous organs. **American Journal of Hypertension**, v. 33, n. 8, p. 687-694, 2020.

MOMČILOVIĆ, B., *et al.* In search of decoding the syntax of the bioelements in human hair – A critical overview. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 50, p. 543-553, 2018.

NAKAMURA, T. *et al.* Statistical resolutions for large variabilities in hair mineral analysis. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. 1-12, dez. 2018.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Trace elements in human nutrition and human health. **Geneva:** World Health Organization, 1996.

PARK, S. M. *et al.* Effect of high dietary sodium on bone turnover markers and urinary calcium excretion in Korean postmenopausal women with low bone mass. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 361-366, 2015.

PASSWATER, R. A.; CRANTON, E. M. Trace Elements, Hair Analysis and Nutrition. New Canaan-CT, EUA: **Keats Publishing Inc.**, 1983.

PEREIRA, G. A. P. *et al.* Cálcio dietético: estratégias para otimizar o consumo. **Revista brasileira de reumatologia**, v. 49, p. 164-171, 2009.

PLUM, L. M., RINK, L., HAASE, H. The essential toxin: impact of zinc on human health. **International journal of environmental research and public health**, v. 7, n. 4, p. 1342-1365, 2010.

POZEBON, D., SCHEFFLER, G. L., & DRESSLER, V. L. Elemental hair analysis: A review of procedures and applications. **Analytica Chimica Acta,** v. 992, n. 2017, p. 1-23, set. 2017.

PREJAC, J. *et al.* The muscle immobility of depression—the weightlessness within. **Psychology**, v. 3, n. 09, p. 825, 2012.

RISHIKAYSH, P. *et al.* Signaling involved in hair follicle morphogenesis and development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 1, p. 1647-1670, 2014.

SEVERINO, P. *et al.* The Mutual Relationship among Cardiovascular Diseases and COVID-19: Focus on Micronutrients Imbalance. **Nutrients**, v. 14, n. 16, p. 3439, 2022.

TEHRANI, M. W., YANG, K. X., PARSONS, P. J. Development and characterization of reference materials for trace element analysis of keratinized matrices. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 412, n. 8, p. 1847-1861, 2020.

UEKI, R., FUKUSAKI, E., SHIMMA, S. History of hair analysis by mass spectrometry imaging. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 133, 2021.

VANBUREN, C., EVERTS, H. Vitamin A in Skin and Hair: An Update. **Nutrients**, v. 14, n. 2952, 2022.

WILSON, L., Nutritional balancing and hair mineral analysis. 6 ed. Prescott-AZ, EUA: **The Center for Development Inc,** 2016.

WOZNIAK, A. *et al.* Metal concentrations in hair of patients with various head and neck cancers as a diagnostic aid. **BioMetals**, v. 29, n. 1, p. 81-93, dez. 2015.

XIE, Y., *et al.* Higher Potassium Intake and Lower Sodium Intake May Help in Reducing CVD Risk by Lowering Salt Sensitivity of Blood Pressure in the Han Chinese Population. **Nutrients**, v. 14, n. 20, p. 4436, 2022.

ZABŁOCKA-SŁOWIŃSKA, K. *et al.* Serum and whole blood Zn, Cu and Mn profiles and their relation to redox status in lung cancer patients. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 45, p. 78-84, 2018.

ZORODDU, M. A., *et al.* The essential metals for humans: a brief overview. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 195, p. 120-129, 2019.

ANEXO I - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

FACULDADE DE CEILÂNDIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Uso do cabelo como amostra não invasiva para detecção e prevenção de doenças.

Pesquisador: JULIANO ALEXANDRE CHAKER

Área Temática: Versão: 1

CAAE: 66549122.0.0000.8093

Instituição Proponente: Faculdade de Ceilândia - FUNDACAO UNIVERSIDADE DE BRASILIA

Patrocinador Principal: FUNDACAO UNIVERSIDADE DE BRASILIA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.874.669

Apresentação do Projeto:

Uso de Cdots como matriz ionizante na identificação do cortisol por MALDITOF/MS

Resumo:

"O cortisol é um hormônio que está diretamente ligado a diversas atividades regulatórias de sistemas importantes do corpo, possui diversas funções e é denominado principalmente o hormônio do estresse. A amostra capilar vem sendo utilizada como dosímetro biológico pois tem a capacidade de identificação sistêmica do hormônio a grandes períodos e uma vantagem do uso de cabelo é fato de que é uma matriz muito estável, de transporte, armazenamento, de coleta fácil e não invasiva, podendo ainda apresentar concentração dos compostos de 50 a 100 vezes superior a outros tipos de matrizes . Neste estudo será utilizado a técnica de Maldi- TOF que vêm sendo usado como um potencial substituto para as analises

rotina laboratorial, e tem como proposta o desenvolvimento de metodologias de identificação de cortisol capilar, fazendo o uso da espectrometria de massas MALDI-TOF (do inglês, Matrix Assisted Laser Desorptionlonization – Time of Flight), usando nanopartículas de carbono C-DOTS como matriz ionizante para suprir esses desafios metodológicos acerca de medidas de cortisol no sangue. Objetivos: o desenvolvimento de metodologias de identificação de cortisol a partir de amostras capilares obtidas de formas não invasivas, utilizando matriz ionizante de nanoparticulas C-dots, a partir da técnica de espectrometria de massas MALDI-TOF/MS, auxiliando no prognostico, diagnósticos e monitoração de doenças relacionadas a este hormônio. Materiais e

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66

Bairro: CEILANDIA SUL (CEILANDIA) CEP: 72.220-900

UF: DF Município: BRASILIA



Continuação do Parecer: 5.874.669

métodos: As amostras capilares utilizadas no estudo foram adquirias de forma não invasiva e as mesmas passarão por um processo de extração com metanol e acetona e secagem. As amostras serão suspensas com matriz ionizantes de nanopartículas de carbono CDOTS e seguirão para análise no MALDI-TOF Resultados esperados: Com os dados e analises, espera-se que haja uma metodologia desenvolvida de extração de cortisol, identificação de cortisol nas amostras capilares usando nanopartículas de carbono C-dots e avaliação de diferentes matrizes ionizantes e como se comportam, seguindo o protocolo de medição do MALDI."

As amostras capilares descritas acima são do orientador e da orientanda de TCC, desta forma, os pesquisadores solicitam dispensa de TCLE.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivos

- 1 O objetivo geral da pesquisa: "desenvolvimento de metodologias de identificação de cortisol a partir de amostras capilares obtidas de formas não invasivas, utilizando espectrometria de massas MALDI-TOF/MS, auxiliando no prognostico, diagnósticos e monitoração de doenças relacionadas a este hormônio."
- 2 Objetivos Específicos
- " Estudar diferentes metodologias de extração do cortisol de amostra capilar;

Estudar metodologias de aplicação das amostras na porta amostra MALDI;

Avaliar diferentes matrizes ionizantes (Matriz ionizante de nanopartículas de carbono (C-DOTS) e matriz ionizante convencional de alfa-ciano)."

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: "Não detecção recente do cortisol capilar , erros de dosagem, amostras sujeitas a interferências variáveis como tinturas e tratamentos cosméticos."

Benefícios:

"Coleta não invasiva de amostras, facilidade de obtenção e armazenamento, alta sensibilidade e menor geração de resíduos."

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66

Bairro: CEILANDIA SUL (CEILANDIA) CEP: 72.220-900

UF: DF Município: BRASILIA



Continuação do Parecer: 5.874.669

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de projeto de Trabalho de conclusão de curso, do Colegiado de Farmácia, Faculdade de Ceilândia – FCE, curso de farmácia da discente Hellen Cristina Moraes dos Santos, sob orientação do professor Juliano Alexandre Chaker. Esse projeto tem como instituição proponente a Faculdade de Ceilândia da UnB.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Ver pendências.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

PENDÊNCIA 1: favor descrever critérios de inclusão e exclusão, conforme indicado na resolução 001/2013, ou justificar a não descrição.

PENDÊNCIA 2: os riscos descritos foram: "Não detecção recente do cortisol capilar , erros de dosagem, amostras sujeitas a interferências variáveis como tinturas e tratamentos cosméticos." Favor detalhar os riscos a que os pesquisadores estão expostos durante o processo de coleta e análise das amostras e as estratégias para minimizá-los.

PENDÊNCIA 3: Não há a descrição clara de como serão atingidos/operacionalizados os objetivos específicos, uma vez que consta na metodologia somente os seguintes itens:

"5.2 Extração da amostra: As amostras foram lavadas com isopropanol e foram secar em

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66

Bairro: CEILANDIA SUL (CEILANDIA) CEP: 72.220-900

UF: DF Município: BRASILIA



Continuação do Parecer: 5.874.669

temperatura ambiente; Foi feito cortes no comprimento da amostra para melhorar extração e analise. As amostras seguiram para o processo de extração, onde foi adicionado 1 ml de metanol, e colocado em agitação constante no Thermomixer (EppendorfThermomixer 5350 Mixer) a 52° C em 200 rpm por 15 horas. Foi adicionado 0,5 ml de acetona e levado ao Vortex (Agitador Vortex Basic 2.800 Rpm Kasvi) para agitação. O sobrenadante foi transferido para outro tudo eppendorf e então foi levado a centrifuga EppendorfVacufugeVacuumConcentrator 5301) por 30 minutos aproximadamente para secagem em temperatura ambiente.

5.3 Preparo da placa do MALDI-TOF: Após a secagem, os resíduos da amostra foram suspensos com 100 µl de solução de nanopartículas de carbono Cdots e agitados em vórtex até que foram completamente misturados e colocados na placa de Maldi (MaldiOpti-TOF 384 – Well Insert (123x81mm)) e seguiram para analise no MALDI-TOF (MALDI-TOF AB SCIEX TOF/TOF™ 5800)".

Favor inserir esse detalhamento no método.

PENDÊNCIA 4: Os benefícios devem se referir aos benefícios diretos e/ou indiretos que os participantes tenham ao integrar a pesquisa. Favor descrever os benefícios aos participantes.

PENDÊNCIA 5: Não há justificativa para a amostra. Favor detalhar.

PENDÊNCIA 6: Não há a descrição do ano de coleta seja no cronograma inserido no plano de trabalho, seja no cronograma anexado em documento separado. Favor descrever as datas de form completa. Favor retirar do plano de trabalho o cronograma e o orçamento e deixar somente como documentos anexados à PB.

PENDÊNCIA 7: No orçamento, não há descrição dos materiais que serão usados para a execução do projeto. Somente a inclusão do laboratório de nanotecnologia. Favor detalhar.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS n.º 466, de 2012, e na Norma Operacional n.º 001, de 2013, do CNS, manifesta-se por aguardar o atendimento às questões acima, para emissão de seu parecer final.

De acordo com a Resolução CNS n.º 466, de 2012, e a Norma Operacional n.º 001, de 2013, do CNS, as pendências devem ser respondidas exclusivamente pelo pesquisador responsável, no

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66

Bairro: CEILANDIA SUL (CEILANDIA) CEP: 72.220-900

UF: DF Município: BRASILIA



Continuação do Parecer: 5.874.669

prazo de 30 dias, a partir da data de envio do parecer pelo CEP. Após esse prazo, o protocolo de pesquisa poderá ser arquivado, e a tramitação encerrada.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	12/01/2023		Aceito
do Projeto	ROJETO 2042879.pdf	17:00:21		
Orçamento	orcamento.pdf	12/01/2023	HELLEN CRISTINA	Aceito
424		16:51:20	MORAES DOS	
			SANTOS	
Cronograma	Cronograma.pdf	12/01/2023	HELLEN CRISTINA	Aceito
255		16:50:06	MORAES DOS	
			SANTOS	
Outros	LattesJuliano.pdf	12/01/2023	HELLEN CRISTINA	Aceito
	· ·	16:49:46	MORAES DOS	
			SANTOS	
Outros	LattesHellen.pdf	12/01/2023	HELLEN CRISTINA	Aceito
		16:48:59	MORAES DOS	
			SANTOS	8.
Declaração de	concordancia.pdf	12/01/2023	HELLEN CRISTINA	Aceito
concordância		16:47:34	MORAES DOS	
100 100 100 100 100 100 100 100 100 100		****	SANTOS	
Declaração de	termo_de_responsabilidade_assinado.p	12/01/2023	HELLEN CRISTINA	Aceito
Pesquisadores	df	16:46:25	MORAES DOS	
1000 1000 1000 1000 1000 1000 1000 100		100 to 000000 00000000000000000000000000	SANTOS	
Folha de Rosto	folha.pdf	12/01/2023	HELLEN CRISTINA	Aceito
		16:44:42	MORAES DOS	
		***************************************	SANTOS	
Projeto Detalhado /	Plano_de_trabalho_assinado.pdf	13/12/2022	HELLEN CRISTINA	Aceito
Brochura	106.047 1000K NO.010 5000	19:18:32	MORAES DOS	
Investigador			SANTOS	
Solicitação Assinada	Carta.pdf	13/12/2022	HELLEN CRISTINA	Aceito
pelo Pesquisador	28	19:10:27	MORAES DOS	
Responsável			SANTOS	
TCLE / Termos de	DispensaTCLE.docx	13/12/2022	HELLEN CRISTINA	Aceito
Assentimento /	W1	19:09:01	MORAES DOS	
Justificativa de			SANTOS	
Ausência				

Situação do Parecer:

Pendente

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66

Bairro: CEILANDIA SUL (CEILANDIA) CEP: 72.220-900

UF: DF Município: BRASILIA

Município: BRASILIA



Continuação do Parecer: 5.874.669

Necessita Apreciação da CONEP:

BRASILIA, 02 de Fevereiro de 2023

Assinado por: José Eduardo Pandossio (Coordenador(a))

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66

Bairro: CEILANDIA SUL (CEILANDIA)

CEP: 72.220-900

UF: DF Município: BRASILIA