AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE HEXACLOROCICLOHEXANO "HCH" NO SORO SANGÜÍNEO DE TRABALHADORES EXPOSTOS NO ARQUIVO HISTÓRICO DE JOINVILLE NA DÉCADA DE 80

ELAINE CRISTINA DAMASCENO LOIOLA

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

Orientador:
Dr. José Oscar Willian Vega Bustillos

São Paulo
2007

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

Determinação de resíduos de Hexaclorociclohexano "HCH" no soro sangüíneo de trabalhadores expostos no Arquivo Histórico de Joinville na década de 80.

Biblioteca IPEN
Tese Nº
24450

Elaine Cristina Damasceno Loiola

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

Orientador:

Dr. José Oscar William Vega Bustillos

São Paulo
2007

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

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

Determinação de resíduos de Hexaclorociclohexano "HCH" no soro sangüíneo de trabalhadores expostos no Arquivo Histórico de Joinville na década de 80

Biblioteca IPEN
Tese Nº

Elaine Cristina Damasceno Loiola

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

Orientador:

Dr. José Oscar William Vega Bustillos

São Paulo
2007

Dedico esse trabalho a DEUS e a todos os meus Anjos da Guarda, em especial João Damasceno Loiola, meu Pai, que tanto me apoia e a Lucia Joana Loiola, minha mãe, que tanto se dedicou à minha vitória, aos meus irmãos Leni, João Nilson e Cristiano que sempre estiveram ao meu lado, às minhas crianças que são fonte da minha alegria Lucas, Felipe, Tamires, Tiago, Natalia e Ana Carolina.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Oscar Vega Bustillos pela amizade, dedicação e aprendizagem.

À Heloisa H. B. Toledo pelo aprendizado, companheirismo, paciência e amizade.

Ao Instituto Adolfo Lutz de São Paulo onde realizei meu estagio e permaneci durante 4 anos e à todos os profissionais da Seção de Pesticida Residual em especial ao Reinaldo Amauri Jr. Pela amizade sincera e pela contribuição nas extrações das amostras.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN.

Ao Instituto Oceanográfico - USP.

Ao meu Pai João Damasceno Loiola que batalhou para que os meus estudos nunca fossem interrompidos.

À minha Mãe Lucia Joana Loiola que com tanto amor se tornou a Melhor Mãe do Mundo.

À minha família Leni, Nilton, Lucas, Felipe, Tiago, João Nilson, Juci, Tamires, Natalia, Cristiano, Renata e Ana Carolina que sempre ficaram ao meu lado.

À SFDK pelo incentivo na reta final e disponibilidade de tempo.

À PhD. Maria Luiza Passanezi Araujo Gomez, pela dedicação de revisar todo o meu trabalho e pela amizade.

À todos que convivi no decorrer da minha aprendizagem.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

"Somos tudo aquilo que acreditamos ser"

(Autor Desconhecido)

Determinação de resíduos de Hexaclorociclohexano "HCH" no soro sangüíneo de trabalhadores expostos no Arquivo Histórico de Joinville na década de 80.

Elaine Cristina Damasceno Loiola

RESUMO

O Hexaclorociclohexano (HCH) é um inseticida do grupo dos organoclorados, composto por uma mistura de isômeros formados durante a síntese química, através de sucessivas adições de cloro ao benzeno. Estes isômeros podem contaminar não só o meio ambiente como também a população que tenha contato direto ou indireto com os resíduos. Nas décadas de 70 e 80, foi utilizado um produto comercial composto pelo ativo HCH comercializado como "Hexabel®" no controle de insetos xilófagos no Acervo Histórico de Joinville em Santa Catarina. A aplicação do inseticida foi realizada pelos próprios funcionários do Arquivo Histórico, e houve intensa manipulação dos documentos tratados durante uma mudança do prédio o presente trabalho teve como objetivo validar uma metodologia de determinação de resíduos do HCH e seus isômeros em soro sangüíneo, e analisar o grau de exposição dos funcionários e ex-funcionários do Arquivo Histórico de Joinville ao produto.

Foram realizados exames sorológicos em todos os funcionários e ex – funcionários do local e também na população que sabidamente nunca tiveram contato com o ativo, denominada população controle. As análises foram realizadas após a validação do método multiresíduos que obtem todos os ativos em uma única extração e tem detecção por Cromatografia a gás com detector de captura (GC-ECD) de elétrons. Os resultados comprovaram comprovaram a eficiência do método, através de dados em conformidade com os critérios do ensaio. Os resultados obtidos no estudo da população mostraram que a quantidade de HCH no soro sangüíneo de funcionários, ex-funcionários e da população controle estão abaixo do limite de quantificação de 0,04μg dL^{-1} para Alfa HCH e Gama HCH "Lindana" e 0,08μg dL^{-1} para Beta e Delta HCH.

Determination of hexachlorcyclohexane residues on blood plasma of exposed employees of the Historical Archieve of Joinville on 80's decade.

Elaine Cristina Damasceno Loiola

ABSTRACT

Hexachlorcyclohexane (HCH) is an organochloride insecticide formed by a mixture of chemical isomers produced during its chemical synthesis, obtained after successive inserts of chlorine atoms on benzene molecule. These isomers may contaminate both the environment and the people who had direct or indirect contact with the HCH residues. On 70's and 80's, its was used a commercial product which contained HCH on its formula and was commercialized as Hexabel®. The product was used to control the xylophage insect population on the Historical Archieve of Joinville, at Santa Catarina, Brazil. The own employees did the insecticide application and there was an intensive manipulation of the treated material during a building change.

The objective of this work was to validate a methodology to quantify the HCH residues and its isomers on blood plasma and analyze the employee's exposure extent to the chemical.

It was done serological investigation on employees, former-employees and on non-exposed people, which was classified as the control population. The analyses were done after the methodology validation. The method was capable to obtain all isomers on a unique extraction and the detection and quantification were done by gas chromatography with electron-capture detector (GC-ECD). The results obtained showed that the proposed method is accurate, and that the amount of HCH residues on blood plasma of all individuals analyzed was lower than the quantification limits established to the method, which were 0,04 $\mu g\ dL^{-1}$ for the alpha- and gamma- HCH (lindana) and 0,08 $\mu g\ dL^{-1}$ for the beta- and delta- HCH.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 14
1.1 Arquivo Histórico de Joinville/Santa Catarina 15
1.2 Xilófagos 16
1.3 Hexaclorociclohexano 17
2. OBJETIVO 18
2.1 Objetivo Geral 18
2.2 Objetivo Especifico 18
3. REVISÃO DA LITERATURA 19
3.1 Efeitos sobre a saúde humana em exposições ocupacionais ao HCH 19
3.2 Efeitos sobre a saúde humana na exposição ambiental 21
3.3 Agrotóxicos 23
3.3.1 Definição 23
3.3.2 Registro e avaliação ambiental de agrotóxicos 26
3.3.3 Utilização 27
3.3.4 Grupos Químicos 27
3.3.5 Toxicidade 31
3.4 Analise Cromatográfica 34
4. MATERIAIS E MÉTODOS 38
4.1 Matriz estudada 38
4.2 Ativo estudado 38
4.3 Principio do método analítico 44
4.4 Equipamentos, materiais e solventes utilizados 44
4.4.1 Equipamentos 44
4.4.2 Materiais, Vidrarias e outros 44
4.4.3 Solventes e Reagentes 44
4.5 Preparação das Soluções 45
4.5.1 Preparação das soluções de estoque "solução mãe". 45
4.5.2 Preparação das Curvas de Calibrações 45
4.6 Preparação das Amostras 55
4.7 Extração dos ativos na amostra 57

4.8 Fortificações dos ativos na amostra 62
4.9 Analise Instrumental 62
4.10 Validação das adaptações ao método 63
4.11 Critérios de ensaio de conformidade 63
4.11.1 Curva de Calibração 64
4.11.2 Especificidade/Seletividade 64
4.11.3 Precisão de Medição 64
4.11.4 Exatidão/Recuperação 64
4.11.5 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ) 64
4.11.6 Repetibilidade 65
4.11.7 Incerteza de medição 65
5 RESULTADOS 66
5.1 Dados de Validação 66
5.1.1Curva de Calibração - Linearidade 66
5.1.2 Especificidade/Seletividade 73
5.1.3 Precisão de Medição/ Exatidão/ Recuperação 73
5.2 Resultados nas amostras Grupo 1 e Grupo 2 82
6 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS 84
7 CONCLUSÃO 88
8 BIBLIOGRAFIA 90

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

Lista de Tabela

Tabela 1 Efeitos da exposição aos agrotóxicos. 20

Tabela 2 Toxicidade e persistência ambiental de alguns agrotóxicos (em escala de 1 a 5).. 31

Tabela 3 Comparação das características entre fonte radioativas de Hidrogênio (^{3}H) e Níquel (^{63}Ni). 35

Tabela 4 Limite de Detecção (LOD) 64

Tabela 5 Limite de Quantificação (LOQ) 64

Tabela 6 Faixa de trabalho, equação da curva e coeficiente de correlação 65

Tabela 7 Eficiência da recuperação Alfa HCH 73

Tabela 8 Dados Globais Alfa HCH 73

Tabela 9 Eficiência da recuperação Beta HCH 74

Tabela 10 Dados Globais Beta HCH 74

Tabela 11 Eficiência da recuperação Delta HCH 75

Tabela 12 Dados Globais Delta HCH 75

Tabela 13 Eficiência da recuperação Gama HCH 76

Tabela 14 Dados Globais Gama HCH 76

Tabela 15 Resultados - Grupo 1 "Grupo Exposto" 79

Tabela 16 Resultados - Grupo 2 "Grupo não Exposto" 80

Lista de Figura

Figura 1 Formula estrutural do Alfa HCH 38

Figura 2 Cromatograma do Alfa HCH 38

Figura 3 Formula estrútural do Beta HCH 39

Figura 4 Cromatograma do Beta HCH 39

Figura 5 Formula estrutural do Delta HCH 40

Figura 6 Cromatograma do Delta HCH 40

Figura 7 Formula estrutural do Gama HCH - Lindana 41

Figura 8 Cromatograma do Gama HCH - Linadana 41

Figura 9 Cromatograma da Curva 1- Solução "B" Alfa HCH + Beta HCH Concentração 10pg μL^{-1} Alfa HCH e 20 pg μL^{-1} Beta HCH 48

Figura 10 Cromatograma da Curva 1- Solução "B" Alfa HCH + Beta HCH Concentração 50pg μL^{-1} Alfa HCH e 100 pg μL^{-1} Beta HCH 49

Figura 11 Cromatograma da Curva 1- Solução "B" Alfa HCH + Beta HCH Concentração 100pg μL^{-1} Alfa HCH e 200 pg μL^{-1} Beta HCH 50

Figura 12 Cromatograma da Curva 2- Solução "A" Delta HCH + Gama HCH Concentração 10pg μL^{-1} Gama HCH Lindana e 20 pg μL^{-1} Delta HCH 51

Figura 13 Cromatograma da Curva 2- Solução "A" Delta HCH + Gama HCH Concentração 50pg μL^{-1} Gama HCH Lindana e 100 pg μL^{-1} Delta HCH 52

Figura 14: Cromatograma da Curva 2- Solução "A" Delta HCH + Gama HCH Concentração 100pg μL^{-1} Gama HCH Lindana e 200 pg μL^{-1} Delta HCH 53

Figura 15: Fluxograma para analise de resíduos de HCH e seus isômeros em soro sangüíneo 55

Figura 16 Cromatograma da Recuperação Alfa HCH + Beta HCH - 1LOQ 57

Figura 17 Cromatograma da Recuperação Alfa HCH + Beta HCH - 10LOQ 58

Figura 18 Cromatograma da Recuperação Gama HCH + Delta HCH - 1LOQ 59

Figura 19 Cromatograma da Recuperação Gama HCH + Delta HCH - 10LOQ 60

Figura 20 Curva de Calibração - Linearidade Alfa HCH 66

Figura 21 Curva de Calibração - Linearidade Beta HCH 66

Figura 22 Curva de Calibração - Linearidade Delta HCH 66

Figura 23 Curva de Calibração - Linearidade Gama HCH 67

Figura 24 Cromatograma Alfa 0,1pg μL^{-1} e Beta 0,2pg μL^{-1}. 67

Figura 25 Cromatograma Alfa 0,2pg μL^{-1} e Beta 0,4pg μL^{-1}. 67

Figura 26 Cromatograma Alfa 1,0pg μL^{-1} e Beta 2,0pg μL^{-1}. 68

Figura 27 Cromatograma Alfa 2,0pg μL^{-1} e Beta 4,0pg μL^{-1}. 68

Figura 28 Cromatograma Alfa 10,0pg μL^{-1} e Beta 20,0pg μL^{-1}. 68

Figura 29 Cromatograma Alfa 20,0pg μL^{-1} e Beta 40,0pg μL^{-1}. 69

Figura 30 Cromatograma Alfa 50,0pg μL^{-1} e Beta 100,0pg μL^{-1}. 69

Figura 31 Cromatograma Alfa 100,0pg μL^{-1} e Beta 200,0pg μL^{-1}. 69

Figura 32 Cromatograma Lindana 0,1pg μL^{-1} e Delta 0,2pg μL^{-1}. 70

Figura 33 Cromatograma Lindana 0,2pg μL^{-1} e Delta 0,4pg μL^{-1}. 70

Figura 34 Cromatograma Lindana 1pg μL^{-1} e Delta 2pg μL^{-1}. 70

Figura 35 Cromatograma Lindana 2pg μL^{-1} e Delta 4pg μL^{-1}. 71

Figura 36 Cromatograma Lindana 10pg μL^{-1} e Delta 20pg μL^{-1}. 71

Figura 37 Cromatograma Lindana 20pg μL^{-1} e Delta 40pg μL^{-1}. 71

Figura 38 Cromatograma Lindana 50pg μL^{-1} e Delta 100pg μL^{-1}. 72

Figura 39 Cromatograma Lindana 100pg μL^{-1} e Delta 200pg μL^{-1}. 72

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

1. INTRODUÇÃO

O primeiro passo para desenvolver esse estudo foi traduzir na aparentemente prosaica definição semântica do que se pretende avaliar: os expostos, os intoxicados ou ambos.

Por definição: Expostos são todos aqueles que têm ou tiveram contato com determinado substância. Considerando que os agrotóxicos foram as substâncias antropogênicas mais utilizadas na história da humanidade, sendo possível hoje encontrá – las em regiões tão inusitadas como a do Ártico e Antártica, toda a população do planeta estaria nessa condição. Intoxicados, são aqueles que tiveram contato com determinada substância e deste contato desenvolveram algum tipo de manifestação clínica. (Peres, F. 2003).

A partir destas definições pode-se iniciar as análises de soro sangüíneos dos trabalhadores e ex – trabalhadores do Arquivo Histórico de Joinville expostos ao Hexaclorociclohexano, utilizado em documentos e livros para controle de insetos xilófagos.

No homem, esses compostos podem ser identificados no sangue, no plasma, no soro, no tecido adiposo e no leite. No Brasil, o uso geral desse pesticida foi proibido em 1985, ficando o mesmo restrito apenas a campanhas de saúde pública (Portaria do Ministério da Agricultura n° 329 de 2.9.1985).

A toxicidade seletiva dos pesticidas contra o organismo a que se pretende combater é a situação ideal desejável para sua utilização; entretanto, essas substâncias podem provocar alguma toxicidade em seres humanos. Portanto, não se deve considerar um pesticida completamente seguro. Essas substâncias necessitam ser utilizadas de forma adequada, de maneira que não venha causar maiores riscos para a saúde humana. (Nunes, F. P. 2002).

1.1 ARQUIVO HISTÓRICO DE JOINVILLE/ SANTA CATARINA

O Arquivo Histórico de Joinville, como é conhecido por seus freqüentadores, foi criado pela Lei Municipal n. 1.182 de 20 de março de 1972 e "é uma unidade subordinada à Fundação Cultural de Joinville, que tem por finalidade recolher, guardar, conservar, restaurar e preservar a documentação produzida por instituições governamentais de âmbito municipal, bem como, os documentos privados de interesse público, sob sua guarda, garantindo acesso público às informações neles contidas, com o objetivo de apoiar as instâncias dos poderes públicos municipais nas suas decisões político-administrativas, o cidadão na defesa de seus direitos e de incentivar a pesquisa relacionada com o desenvolvimento regional".

De 1972 até 1986 o Arquivo funcionou em uma das salas da Biblioteca Pública Municipal "Rolf Colin", localizada na Praça Lauro Müller. A inauguração do atual prédio, fruto de um convênio firmado entre a Prefeitura Municipal de Joinville e o Governo da Alemanha, realizou-se em 18/07/1986. Nestes 30 anos passou por diferentes momentos, estando sempre presente no auxílio aos pesquisadores que se dedicam a construir histórias sobre Joinville e região. Hoje, através da experiência acumulada durante o transcorrer dos anos, mantém a responsabilidade de recuperar e divulgar informações, tornando-se uma instituição dinâmica no desenvolvimento de seu potencial científico, educativo e cultural junto à sociedade.

Nas décadas de 1970 e 1980 o "Hexabel®" – hexaclorociclohexano, um inseticida do grupo dos organoclorados, foi utilizado no Acervo Histórico de Joinville no combate a insetos xilófagos. Neste período o acervo localizava-se no prédio antigo e a aplicação foi efetuada por um funcionário do próprio Arquivo Histórico, diretamente nos livros e nos lotes dos documentos avulsos. Em 1986 ocorreu a mudança para o prédio atual e todo o material foi manipulado exaustivamente para realizar uma nova listagem da documentação, sendo que a manipulação provocou uma possível migração do inseticida para o ambiente, o que foi comprovado por análises realizadas em livros. Com essa evidência, surgiu a suspeita de que uma possível intoxicação nos funcionários poderia ter ocorrido. Este episódio foi o

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

primeiro alerta para a periculosidade do produto, mas nenhuma medida de segurança foi realizada e os funcionários continuaram expondo-se ao longo de muitos anos, sem qualquer controle da exposição ocupacional (Barotto, A. M 2003).

Em 2003, por iniciativa do Centro de Informações Toxicológicas de Santa Catarina – SIT/SC e o Departamento de Saúde Pública – SPB/UFSC foram iniciados estudos para verificar o grau de exposição dos funcionários e ex – funcionários ao produto, sendo o soro sanguíneo encaminhado ao Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas do Instituto Adolfo Lutz para detecção do pesticida.

1.2 Xilófagos

A madeira está sujeita à degradação por organismos que dela se alimentam. No lenho estão presentes muitas substâncias nutritivas, como açúcares, carboidratos, gomas, resinas e amidos, que constituem a base alimentar de uma infinidade de organismos, dentre os quais, fungos, bactérias, insetos, moluscos e crustáceos. Estes organismos que degradam a madeira são conhecidos por xilófagos (do grego xylon, madeira e fagus, comer).

Os fungos atacam em geral a madeira que apresenta um teor de umidade favorável ao seu desenvolvimento. O tipo de ataque é classificado de acordo com o fungo que se instala na madeira.

Dos insetos que atacam a madeira serrada, os besouros e os cupins estão dentre os que causam piores danos. Traças, vespas, mariposas e outros em menor escala de importância também depositam seus ovos em peças de madeira ou utilizam-na como fonte de alimento.

Em relação aos besouros (ordem Coleoptera), existe uma grande variedade que ataca a madeira e causa prejuízos relevantes (*cerambycidae, scolytidae, platypodidae, bostrychideae, lyctidae* e *anobidae,* entre outras). Os ovos podem ser depositados no lenho das árvores ou na madeira já cortada. Apesar de alguns serem muito pequenos (os escolitídeos e os platipodídeos não ultrapassam 1 mm de comprimento) promovem ataques devastadores na madeira: estão associados naturalmente a fungos, dos quais, em alguns casos, se alimentam. Os cupins que atacam a madeira alimentam-se fundamentalmente de celulose. São classificados

dentro da ordem Isoptera. Estão, em geral, associados a microrganismos simbióticos que promovem a degradação enzimática da celulose presente no xilema. A estrutura social destes insetos é altamente organizada e complexa, com a colônia dividindo-se em várias castas hierárquicas.

1.3 Hexaclorociclohexano

1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano (HCH) de fórmula química $C_6H_6Cl_6$ é uma substância química produzida industrialmente, conhecida com o nome de BHC (hexacloreto de benzeno). De acordo com as regras da IUPAC, a designação "hexacloreto de benzeno" é incorreta. Apesar disso, a denominação BHC é ainda largamente utilizada, principalmente no âmbito da agricultura, adotado, inclusive, pela Organização de Agricultura e Alimentação (FAO), enquanto a organização Mundial da Saúde (OMS), utiliza corretamente a denominação HCH. O HCH existe em oito formas químicas chamadas *isômeros*. Uma das formas, o isômero gama (δ), também conhecido como *lindano e lindana*, é uma substância cristalina branca, que pode evaporar-se no ar como um vapor incolor, sem odor ou com um leve odor próprio (acredita-se que o odor se deva a impurezas, principalmente o heptaclorociclohexano). No seu grau técnico, o HCH constituía-se, de uma mistura de isômeros e outras impurezas, com destaque para os isômeros α (65-70%), β (7-10%), δ (14-15%) e outros (5%), considerados como subprodutos ou "impurezas" do *lindano* ou isômero gama. Atualmente, em função das exigências de qualidade, o *lindano* deve ter pelo menos 99% de HCH (World Health Organization,1991).

O HCH foi sintetizado pela primeira vez por Michael Faraday em 1825 e quatro de seus estéreoisômeros foram demonstrados por Van der Linden em 1912.

Em 1825, o HCH foi utilizado na primeira Guerra Mundial como arma química na forma de gás tóxico para fins bélicos (entre muitos outros gases de guerra). As propriedades inseticidas foram descobertas em 1942, e a partir de 1949, o HCH passou a ser largamente produzido e utilizado com finalidades econômicas, na agricultura, como inseticida de largo espectro em culturas de frutas e vegetais; em silos, tendo sido também utilizado para fins não-agrícolas, quer como droga para tratamentos tópicos contra ectoparasitos do ser humano e de animais (na forma

líquida, em loções, cremes, xampu, pós, etc.), quer em campanhas de Saúde Pública, no combate ao vetor da malária e, entre nós, também dos triatomídeos vetores da doença de Chagas (Van Ert & Sullivan Jr., 1992).

O *lindano* foi produzido e comercializado em várias formas de apresentação e formulações. A mais importante tem sido na forma de pós molháveis (até 90% de HCH); concentrações emulsificáveis (até 20% de HCH); soluções em água ou em solventes orgânicos (até 50% de HCH); grânulos (3-4% de HCH); iscas; aerossóis e formulações especiais para uso tópico, em medicina humana e veterinária. Outrossim, muito se utilizou na forma de preparações para fumigação em ambientes fechados, em concentrações de HCH praticamente puras (World Health Organization, 1991).

Na maioria dos países, o HCH deixou de ser produzido a partir do final da década de 70, tendo deixado de ser utilizado nesses países a partir de 1983 a 1985 (Van Ert & Sullivan Jr., 1992; Agency For Toxic Substances And Disease Registry, 1989; 1990).

No Brasil, os praguicidas organoclorados de alta persistência foram proibidos para uso agrícola, em 1985, permanecendo seu uso para fins de combate a vetores transmissores de doenças infecciosas (Brasil, 1985).

O Hexaclorociclohexano era sintetizado por meio de adições sucessivas de cloro ao benzeno, gerando os isômeros α, β, σ, e γ HCH em diferentes percentuais estequiométricos. O isômero γ - HCH, de maior ação inseticida, era sintetizado com um percentual de 14 a 15% da mistura técnica.

Os isômeros do HCH podem contaminar não só o meio ambiente como também a população que tenha contato direto ou indireto com os resíduos. Os HCHs são apolares, têm baixa solubilidade em água e alta estabilidade no meio ambiente, o que dificulta a degradação dos mesmos. De acordo com a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, o HCH é classificado como Classe I, extremamente tóxico. Segundo o Centro Internacional de Investigação sobre Câncer, o HCH é "*possivelmente carcinogênico a humanos*" (International Agency for Research um Cancer, 1987). A contaminação humana pode ocorrer de forma aguda ou crônica, por meio das vias dérmica, respiratória e alimentar. Os isômeros do HCH são altamente lipofílicos e persistentes, sendo armazenados nos tecidos gordurosos.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

Assim, mesmo sendo absorvidos em pequenas quantidades, se a exposição é prolongada (crônica), efeitos adversos à saúde podem ser observados, como por exemplo, danos ao sistema nervoso central (World Health Organization, 1991, 1992).

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi de analisar o soro sangüíneo dos funcionários ex – funcionários do Arquivo Histórico de Joinville Santa Catarina e um grupo controle de pessoas sabidamente não expostas ao produto estudado. Validar as adaptações da metodologia analítica USEPA N.C. 27711 utilizadas na Seção de Resíduos de Pesticidas do Instituto Adolfo Lutz.

2.2 Objetivos Especificos

1) Identificar a melhor técnica de analise do hexaclorociclohexano e seus isômeros.

2) Utilizar um método multiresíduos onde uma única extração é feita para todos os ativos estudados sem que haja perda de nenhum deles.

3) Verificar o comportamento de cada isômeros no momento de armazenamento, extração e injeção no equipamento, assim como as melhores condições cromatográficas.

4) Otimizar a rampa cromatográfica da melhor maneira para que todos os ativos eluam totalmente distintos e na mesma corrida, da coluna cromatográfica.

5) Realizar a validação da metodologia analítica.

6) Analisar os soros sangüíneo dos funcionários e ex-funcionários do Arquivo Histórico de Joinville e também da população controle, não exposta ao HCH.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Efeitos sobre a saúde humana em exposições ocupacionais ao HCH

Nas situações de exposição direta a vapores de HCH, como em ambientes de trabalho fechados, ou após aplicações de HCH em paredes, plantas, animais, livros e outros tanto o gama HCH também conhecido como 'lindana' ou 'lindano' bem como os isômeros do HCH, alfa, beta e delta, podem causar irritação das vias respiratórias altas (nariz e garganta); irritação pulmonar; alterações cardíacas; alterações sangüíneas (anemia); efeitos sobre a pele (irritação e prurido) e convulsões (Agency For Toxic Substances And Disease Registry, 1989; 1990).

A observação desses efeitos tem sido feita em trabalhadores que inalaram grandes quantidades, na fabricação ou em aplicações, de HCH na agricultura e em domicílios, como também em circunstâncias acidentais. Nessas circunstâncias, relativamente raras, pode ocorrer a morte. Alguns estudos de toxicidade aguda e de curta duração na espécie humana indicam que uma dose aproximada de 1,0 mg/kg de peso corporal não produz intoxicação. No entanto, com uma dose de 15-17 mg/kg de peso corporal, observam-se sintomas de intoxicação grave (Agency For Toxic Substances And Disease Registry, 1989; 1990; World Health Organization, 1991a; 1991b; 1991c;1991d).

Sobre os efeitos da exposição ocupacional ao lindano, o documento do Programa Internacional de Segurança das Substâncias Químicas (IPCS) conclui em suas 208 páginas da revisão feita em 1991, nos seguintes termos:
"apesar do uso generalizado do HCH, durante mais de 40 anos, há notificação de apenas poucos casos de intoxicação de natureza ocupacional. Nos trabalhadores expostos durante longos períodos, na fabricação ou na aplicação de lindano, o único sintoma observado foi uma maior atividade das enzimas hepáticas metabolizadoras de fármacos. Não há provas de relação, sugeridas em outras publicações, entre a exposição ao lindano e o aparecimento de anomalias hematológicas" (World Health Organization, 1991d).

Por sua vez, sobre os efeitos da exposição ocupacional ao *alfa- e beta-*

hexaclorociclohexanos o documento do IPCS, produzido em 1991, conclui suas 170 páginas com um resumo de três linhas, onde se utilizam as seguintes palavras: "*Se observam as precauções recomendadas para reduzir ao mínimo a exposição das pessoas que trabalham na fabricação do Lindano, o alfa- e beta-HCH não significarão risco para a saúde dos trabalhadores*" (World Health Organization, 1991c).

Estudos realizados no Brasil, com grupos ocupacionalmente expostos ao HCH, mostraram que nas exposições ocupacionais de médio e longo prazo, em concentrações insuficientes para causar quadros agudos de irritação respiratória, dérmica ou gástrica, podem, de fato, ocorrer *alterações da função hepática*, avaliadas pela elevação das transaminases (TGP e TGO), pela fosfatase alcalina e pela albumina, com elevações mais acentuadas nos indivíduos com mais elevada exposição, demonstrando assim uma relação dose-resposta importante para esse tipo de dano (Carvalho, *et al*, 1989).

Nos trabalhadores com exposição mais elevada, (Carvalho, *et al*, 1989) constataram, também, *alterações hematológicas*, destacando-se uma leucocitose com neutrofilia e linfocitopenia.

O estudo realizado com trabalhadores da Superintendência de Controle das Endemias (SUCEN), em São Paulo, "cronicamente expostos" ao HCH e DDT, levou o médico Francisco Gonçalves a concluir, em sua Dissertação de Mestrado, que: "*há desinformação dos riscos de exposição ocupacional aos inseticidas e falta de fornecimento e uso de equipamento de proteção no trabalho. Em relação à exposição aos inseticidas, não foi encontrado um quadro clínico específico de intoxicação, o mesmo observado no exame neurológico e eletroencefalográfico. Também não foram observadas diferenças significativas nos exames hematológicos e bioquímicos de sangue. Os teores de DDT e BHC foram maiores no grupo exposto em relação ao controle. O exame citogenético revelou aumento da freqüência de certos tipos de aberrações cromossômicas estruturais, no grupo exposto em relação ao controle. Concluímos ser necessária a implantação de um Programa de Saúde do Trabalhador, com longo tempo de seguimento clínico e laboratorial, para os trabalhadores expostos ocupacionalmente a inseticidas*" (Gonçalves, 1991).

Nas exposições ocupacionais (inalatórias), tanto a Agência de Administração

da Saúde e Segurança Ocupacional (OSHA), como o Instituto Nacional de Saúde e Segurança Ocupacional (NIOSH), e a Conferência Americana dos Higienistas Industriais Governamentais (ACGIH), dos Estados Unidos, fixaram em 0,5 mg/m^3 de ar, respectivamente o Limite de Exposição Permitido (PEL), o Limite de Exposição Recomendado por Razões de Saúde (REL) e o Limite de Tolerância (TLV) do *hexaclorociclohexano*, sempre para oito horas de exposição diária, 40 horas semanais.

3.2 Efeitos sobre a saúde humana na exposição ambiental

A literatura científica traz algumas centenas de trabalhos científicos experimentais, realizados *in vivo* e *in vitro*, alguns escassos informes de casos clínicos de intoxicações agudas, e ainda mais escassos estudos epidemiológicos capazes de construir um relativo consenso sobre os efeitos, de médio e longo prazos, da exposição "ambiental" ao *hexaclorociclohexano*. Quando o faz, aborda exposições acumuladas no correr do tempo, principalmente de "fontes de base" (*background contamination*), geralmente representadas pela ingestão de resíduos clorados em alimentos de origem animal.

No caso particular de interesse deste documento, isto é, de exposições ambientais em fontes fixas, por poluição do solo, água e, eventualmente, alimentos de origem vegetal ou animal oriundos de área poluída – especificamente as condições descritas no "caso Cidade dos Meninos" (Oliveira, 1994; Oliveira, Brilhante, Moreira & Miranda, 1995; Bastos, 1999) – não se encontra similar na literatura científica internacional e nacional.

No Brasil, as condições mais parecidas, embora com outra molécula clorada – o *hexaclorobenzeno* (HCB) – ocorridas na Baixada Santista, ainda não permitiram formar um consenso mais sólido sobre os eventuais efeitos adversos sobre a saúde humana em expostos ambientalmente, isto é, não ocupacionalmente, constituindo-se os trabalhos de Santos Filho e colaboradores (1993) e de Silva, Barretto, Lemes & Kussumi (1997), nos únicos informes publicados, mas inteiramente voltados à avaliação biológica da exposição, e não à pesquisa de efeitos adversos sobre a

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

saúde. O trabalho de Augusto e Freitas (1995) constitui exceção, mas aborda tão-somente efeitos da exposição ocupacional em trabalhadores da indústria química responsável pela poluição ambiental, localizada em Cubatão – SP, poluição que se estendeu a outras áreas da Baixada Santista, graças à deposição indevida de resíduos clorados, em múltiplos *sites*, atualmente próximos a moradias de pessoas.

Com esta breve introdução e visão panorâmica do estado atual do conhecimento em matéria de efeitos adversos sobre a saúde humana, decorrentes da exposição de médio e longo prazos ao HCH (e provavelmente também ao DDT e outros resíduos clorados), tentaremos resumir, a seguir, os principais ângulos em que esta matéria tem sido abordada na literatura científica, e que, portanto, mereceriam ser mais aprofundados e seguidos no espírito do "princípio da precaução" (Augusto & Freitas, 1998) e com estratégias da "vigilância da saúde".

Na Tabela 1, apresenta-se um sumário dos principais efeitos agudos e crônicos causados pela exposição aos principais agrotóxicos disponíveis, de acordo com a praga que controlam e o grupo químico ao qual pertencem.

Tabela 1: Efeitos da exposição aos agrotóxicos. Classificação quanto à praga que controla, Classificação quanto ao grupo químico, Sintomas de intoxicação aguda e Sintomas de intoxicação crônica

Classificação quanto à praga que controla	**Classificação quanto ao grupo químico**	**Sintomas de intoxicação aguda**	**Sintomas de intoxicação crônica**
Inseticidas	Organofosforados e Carbamatos	- Fraqueza; - Cólicas; abdominais; - Vômitos; - Espasmos musculares; - Convulsões.	- Efeitos neurotóxicos retardados; - Alterações cromossomiais; - Dermatites de contato.
Inseticidas	Organoclorados	- Náuseas; - Vômitos; - Contrações musculares involuntários.	- Lesões hepáticas; - Arritmias cardíacas; - Lesões renais; - Neuropatias periféricas.
Inseticidas	Piretróides sintéticos	- Irritação das conjuntivas; - Espirros; - Excitação; - Convulsões.	- Alergias; - Asma brônquica; - Irritações nas mucosas; - Hipersensilidade.
Fungicidas	Ditiocarbamatos	- Tonteiras; - Vômitos; - Tremores musculares; - Dor de cabeça.	- Alergias respiratórias; - Dermatites; - Doenças de Parkinson; - Cânceres.
Herbicidas	Dinitrofenóis e Pentaclorofenol	- Dificuldade respiratória; - Hipertermia; - Convulsões.	- Cânceres (PCP-formação de dioxinas); - Cloroacnes.
Herbicidas	Dipiridilos	- Sangramento nasal; - Fraqueza; - Desmaios; - Conjuntivite.	- Lesões hepáticas; - Dermatites de contato; - Fibrose pulmonar.

Fonte: WHO, 1990.

3.3 Agrotóxicos

3.3.1 Definição

Agrotóxico, defensivos agrícolas, pesticidas, praguicidas, remédios de planta, veneno, essas são algumas das inúmeras denominações relacionadas a um grupo de substâncias químicas utilizadas no controle de pragas (animais e vegetais) e doenças de plantas (Fundacentro, 1998). São utilizados nas florestas nativas e plantações, nos ambientes hídricos, urbanos e industriais e, em larga escala, na agricultura e nas pastagens para a pecuária, sendo também empregados nas campanhas sanitárias para o combate a vetores de doenças. Tão extensa quanto a lista de efeitos nocivos dos agrotóxicos à saúde humana é a discussão sobre a nomenclatura correta dessa gama de produtos, a qual, de acordo com os interesses de grupos envolvidos, pode dar-lhes conotações muitas vezes opostas ao sentido real (Peres, F. et al. 2003).

Segundo a Norma Regulamentar Rural nº 5 (NRR 5) acompanhada da Lei Federal n 7.802, de 11 de julho de 1989, atualmente regulamentada pelo Decreto 4.074, de 4 de janeiro de 2002.: *Entende-se por agrotóxicos as substâncias, ou misturas de substâncias, de natureza química quando destinadas a prevenir, destruir ou repelir, direta ou indiretamente, qualquer forma de agentes patogênicos ou de vida animal ou vegetal, que seja nociva às plantas e animais úteis, seus produtos e subprodutos e ao homem.*

Segundo o grupo de pós – graduação em Agroecologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em reportagem publicada no jornal informativo do Conselho Regional de Química, da Terceira Região: *O termo defensivo agrícola carrega uma conotação errônea de que as plantas são completamente vulneráveis a pragas e doenças, e esconde os efeitos negativos à saúde humana e ao meio ambiente. O termo agrotóxico é mais ético, honesto e esclarecedor, tanto para os agricultores como para os consumidores.* (Informativo CRQ III, 1997).

Na literatura internacional, o grupo de substâncias/ produtos químicos aqui

definidos como agrotóxico recebe a denominação de pesticidas (*pesticide*). O termo "agroquímico" – o mais próximo de agrotóxico encontrado em literatura de língua inglesa (*agrochemicals*) e, em menor escala, também na língua portuguesa – engloba um número maior de produtos, como fertilizantes e adubos inorgânicos. Portanto, não representa o real sentido do termo agrotóxico, que indica não apenas a sua finalidade de uso, mas também o caráter prejudicial destas substâncias, visualizado no radical "tóxico" (Peres, F. et al. 2003).

No campo, esses insumos são amplamente conhecidos por "veneno"ou "remédio" pelos trabalhadores rurais. Remédio tem origem no discurso de vendedores e técnicos ligados à indústrias, que tratavam os agrotóxicos por "remédios de plantas", quando da implantação deles no mercado brasileiro, por volta da década de 60. Já o termo "Veneno" deriva da experiência concreta do trabalhador rural, que, desde o início da utilização dos agrotóxicos no meio rural vem observando, além de seus efeitos previstos – matar pragas - , também seus efeitos nocivos a saúde humana e animal por exemplo, morte de peixes, roedores, animais domésticos, intoxicação dos trabalhadores e pessoas expostas (Peres, F. et al. 2003).

Segundo a Food and Agriculture Organization (FAO), Programa da Organização das Nações Unidas (ONU) responsável pelas áreas de agricultura e alimentação, os agrotóxicos são definidos como: *qualquer substâncias, ou misturas de substâncias, usadas para prevenir, destruir ou controlar qualquer praga – incluindo vetores de doenças humanas e animais, espécies indesejadas de plantas ou animais, causadoras de danos durante (ou interferindo) a produção, processamento, estocagem, transporte ou distribuição de alimentos, produtos agrícolas, madeiras e derivados, ou que deva ser administrada para o controle de insetos, aracnídeos e outras pestes que acometem os corpos de animais de criação.* (FAO, 2003).

De acordo com a Lei Federal nº 7.802, em seu Artigo 2, Inciso 1, que trata sobre esse grupo de substâncias/ agentes no país: *Agrotóxicos e afins são os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso no setor de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de*

outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento.

3.3.2 Registro e avaliação ambiental de agrotóxico

A aprovação do registro de um agrotóxico significa o reconhecimento e a garantia de que o produto, quando utilizado da maneira recomendada, esteja dentro dos limites de segurança aceitos para a saúde e o ambiente.

Para a obtenção do registro no Brasil, até 1989, os agrotóxicos eram submetidos apenas às avaliações toxicológicas e de eficácia agronômica. Após a regulamentação da Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, pelo Decreto nº 98.816, de 11 de janeiro de 1990, passaram a ser exigidas também a avaliação e a classificação do potencial de periculosidade ambiental.

A legislação atual, compete ao Ministério da Agricultura e Abastecimento realizar a avaliação da eficácia agronômica, ao Ministério da Saúde executar a avaliação e classificação toxicológica e ao Ministério do Meio Ambiente, por meio do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), avaliar e classificar o potencial de periculosidade ambiental. Os órgãos estaduais e do Distrito Federal, dentro de sua área de competência, devem realizar o controle e a fiscalização da comercialização e uso desses produtos na sua jurisdição.

A legislação brasileira prevê a proibição de registro de agrotóxicos e, conforme o estabelecido no Artigo nº 3, Inciso 6º, essa proibição pode ocorrer nas seguintes situações:

a) para os quais o Brasil não disponha de métodos para a desativação de seus componentes;
b) para os quais não haja antídoto ou tratamento eficaz no país;
c) que revelem características teratogênicas, carcinogênicas ou mutagênicas;
d) que provoquem distúrbios hormonais e danos ao aparelho reprodutor;
e) que se revelem mais perigosos para o homem do que os testes de laboratório, com animais, tenham podido demostrar; e
f) cujas características causem danos ao meio ambiente.

Outra atividade importante no controle dos agrotóxicos desenvolvidas pelo Ibama é a verificação dos teores de impurezas tóxicas (dioxinas, nitrossaminas,

DDT e seus isômeros e outros) e da composição quali-quantitativa dos produtos. A verificação dos teores de impurezas tóxicas é realizada por meio da avaliação das análises do teor de impurezas, das informações sobre produção/ importação prestadas pelas empresas registrantes e de ações de fiscalização (Peres, F. et al. 2003).

3.3.3 Utilização

Desde a década de 50, quando se iniciou a chamada "revolução verde", foram observadas profundas mudanças no processo tradicional do trabalho agrícola, bem como em seus impactos sobre o ambiente e a saúde humana. Novas tecnologias, muitas delas baseadas no uso extensivo de agentes químicos, foram disponibilizadas para o controle de doenças, aumento da produtividade e proteção contra insetos e outras pragas (Peres, F. et al. 2003).

Na década de 70 a comercialização dos pesticidas organoclorados foi proibida na maioria dos países devido a sua longa persistência no ambiente e no Brasil, seu uso foi limitado pela Portaria 329 de 02/09/85 Ministério da Agricultura, permitindo sua utilização somente no controle a formigas (Aldrin) e em campanhas de saúde pública (DDT e HCH). As formas de exposição da população aos agrotóxicos podem ser acidental, ocupacional, pelo contato com utensílios domésticos utilizados para pulverização e com embalagens de descarte de produtos químicos e, pela água, alimentos e o ar contaminados.

3.3.4 Grupos Químicos

Os agrotóxicos pertencem a diferentes grupos químicos sendo que entre eles os mais estudados foram os:

- Organofosforados;
- Carbamatos;
- Piretróides; e
- Organoclorados (OPAS, 2000)

ORGANOFOSFORADOS

São compostos orgânicos derivados do ácido fosfórico, do ácido tiosfórico ou do ácido ditiofosfórico são eles: paration, malation, diazinon, etion, forato, monocrotofós, metamidofós e outros. De acordo com a sua estrutura química, esses agrotóxicos podem ser classificados em: fosforados, tiofosforados, flúor e cianofosforados (Nunes 2002).

São inibidores das colinesterases e são absorvidos pela pele, por ingestão ou por inalação. Sua ação se dá pela inibição de enzimas colinesterases, especialmente a acetilcolinesterase, levando a um acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, desencadeando uma série de efeitos parassimpaticomiméticos.

Estes produtos não são acumulativos no organismo humano, sendo facilmente degradados e excretados. A eliminação ocorre principalmente pela urina.

CARBAMATOS

São compostos derivados do ácido carbâmico sendo os mais comuns: aldicarb, carbaril e carbofuran.

Os carbamatos, especialmente quando em formulações sólidas, são pouco absorvidos pelo organismo humano. A absorção dérmica do carbaril não é considerada importante no aparecimento dos efeitos tóxicos em indivíduos empregados na produção industrial, entretanto a presença de produto biotransformado na urina indica a absorção do composto em trabalhadores expostos.

Diferentemente dos organofosforados, os carbamatos são inibidores reversíveis das colinesterases, porém as intoxicações podem ser igualmente graves.

PIRETRÓIDES

Inseticidas Piretróides são compostos sintéticos que apresentam estruturas semelhantes à piretrina, substância existente nas flores do Chrysanthemum (Pyrethrum) cinerariaefolium. Alguns desses compostos são: aletrina, resmetrina,

decametrina, cipermetrina e fenpropanato. A alta atividade inseticida dos piretróides possibilita seu emprego em pequenas dosagens, que associada à sua seletividade, tem permitido o aparecimento de novos produtos de origem sintética, inclusive mais estáveis à luz e menos voláteis que os de origem natural, propiciando sua grande difusão como domissanitários ou para uso na agropecuária. São facilmente absorvidos pelo trato digestivo, pela via respiratória e pela via cutânea. Sendo pouco tóxicos do ponto de vista agudo, são entretanto, irritantes para os olhos e mucosas, e principalmente hipersensibilizantes, causando tanto alergias de pele como asma brônquica. Seu uso abusivo nos ambientes domésticos vem causando incremento dos casos de alergia, tanto em crianças como em adultos. Em doses muito altas podem determinar neuropatias, por agir na bainha de mielina, desorganizando-a, além de promover ruptura de axônios.

Descobertos a partir de estudos de síntese que procuravam modificar a estrutura química das piretrinas naturais. Seu interesse de estudo se baseou na maior capacidade letal para os insetos, propriedades físicas e químicas muitos superiores, maior estabilidade à luz e calor e menor volatilidade.

Foram introduzidos no mercado em 1976, e ainda que sejam mais caros por unidade de peso em relação aos outros pesticidas, os piretróides têm sido bastante empregados na área da Saúde e na Agricultura. Isto ocorre devido à alta eficiência, sendo necessárias menores quantidades de ingrediente ativo nas formulações, resultando em menor contaminação nas aplicações. Com isso, vêm tomando rapidamente o lugar dos organofosforados. Outra vantagem é que eles admitem a sinergia, ou seja, a potencialização pela adição de um sinergista, dando lugar a um aumento da eficácia. Geralmente seguros para mamíferos, algumas substâncias tem alto "*knockdown*" , com alta mortalidade.

Os piretróides sintéticos têm boa estabilidade a irradiação luz e temperatura ambiente. Degradam-se por hidrólise e oxidação, sendo caracterizados também pela rápida degradação por microrganismos do ambiente, não se registrando acumulação de resíduos ou esta alcança níveis não detectáveis. São os compostos de mais rápida ação na interferência da transmissão de impulsos nervosos. Podem possuir efeito repelente, espantando os insetos ao invés de eliminá-los. Atuam no sistema nervoso central e periférico, interagindo com os canais de sódio, tanto nos

continuaram sendo usadas nos países em desenvolvimento embora tivesse sido altamente eficaz no controle de doenças transmitidas por vetores.

3.3.5 Toxicidade

O Hexaclorociclohexano foi produzido no mundo para uso como inseticida para controlar gafanhotos, pestes do algodão e do arroz, larvas de elaterídeo e outras pestes do solo. O lindano tem sido usado para a proteção de sementes, para o tratamento de aves e animais de granja e para o controle de insetos domésticos. Também é usado na escabiose e como pediculicida, geralmente em loções, cremes e xampus.

O HCH – alfa, beta e gama são isômeros mais importantes em termo de impacto ambiental. A estabilidade e lipofília relativamente alta do HCH e o seu padrão de uso global resultaram em contaminação ambiental significativa por esse hidrocarboneto clorado. Uma vez introduzido no meio ambiente, o HCH pode persistir por muitos anos. O isômero beta é mais persistente do que os outros (ATSDR 1990). O gama-HCH é a forma mais conhecida mundialmente, e foi isolada das demais em 1912, com 99% de pureza sendo a mais usada, por apresentar as seguintes vantagens:

- Não tem odor desagradável possibilitando o uso como domos sanitário
- Não altera o gosto e o odor das plantas e frutos quando neles pulverizados
- Tem ação fitotóxica mais baixa
- Possuí menos efeito acumulativo no solo
- É menos prejudicial as bactérias e outros microorganismos

O HCH é bem absorvido pelo trato gastrointestinal, pulmões e pele. É transportado quase que totalmente ligado a proteínas plasmáticas e todos os isômeros são preferencialmente estocados no tecido adiposo, mas também em outros órgãos como fígado e glândulas adrenais. O seu metabolismo é hepático e sua excreção se dá pela urina, fezes e leite.

Os diferentes isômeros de HCH acarretam ações farmacológicas opostas.

O isômero gama é estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC), causando violentas convulsões epileptiformes, enquanto os isômeros - alfa, beta e delta são principalmente depressores do SNC, podendo levar a flacidez muscular, prostração e dificuldade de marcha.

A toxicidade aguda dos isômeros do HCH verificada em ratos foi em ordem decrescente: gama > alfa > delta > beta, e na toxicidade crônica, obedeceu a ordem: beta > alfa > gama > delta (Smith, A.G., 1991).

A ingestão humana de compostos de HCH ocorre principalmente através do consumo de alimentos ou exposição ocupacional. A natureza geralmente menos difundida dos isômeros alfa e gama em comparação ao beta é devido à eliminação mais rápida desses isômeros do corpo. Assim como muitos organoclorados persistentes, os níveis de HCH no corpo tendem a aumentar com a idade (ASTDR, 1990) devido ao seu acumulo.

Os isômeros de hexaclorociclohexano já foram detectados no ar, nas águas de superfícies e subterrânea, em solo e sedimentos, em plantas, em pássaros, peixes e mamíferos. Em humanos, o lindano se concentra principalmente no tecido adiposo. Foi relatado que o lindano e outros compostos organoclorados podem ser transferidos pela rota solo – minhoca – pássaro/ mamífero, causando assim, intoxicação secundária. (Smith 1991)

O lindano, isômero – gama do hexaclorociclohexano, é tóxico para animais, humanos e espécies aquáticas. A intoxicação animal aguda lindano causa aumento da freqüência respiratória, inquietação com um aumento na freqüência urinária, espasmos musculares intermitentes do corpo inteiro, salivação, ranger de dentes e o conseqüente sangramento na boca, movimentos para trás com a perda do equilíbrio e giro do corpo, retração da cabeça, convulsões, respiração ofegante, dentes cerrados, e colapso e morte normalmente no prazo de um dia (Smith 1991).

Efeitos crônicos na saúde podem ocorrer momentos após a exposição ao lindano e podem durar meses ou anos. O lindano causa câncer de fígado, pulmão, glândulas endócrinas e outros tipos em animais (Smith 1991). A superexposição pode causar dano hepático. Os efeitos tóxico crônicos podem também incluir expectativa de vida reduzida, problemas reprodutivos, redução da fertilidade, e mudanças na aparência ou no comportamento .

As ações diferenciadas dos isômeros do hexaclorociclohexano podem produzir efeitos variados em diferentes regiões dos sistemas nervosos e em diferentes espécies de animais.

O hexaclorociclohexano pode ser introduzido no meio ambiente a partir de

descargas industriais, aplicações de inseticidas ou derramamentos, e pode causar danos significativos. Os efeitos tóxico agudos podem incluir a morte de animais, pássaros, ou peixes, e a morte ou diminuição da taxa de crescimento de plantas (Smith 1991). A carga de inseticida em água de superfície geralmente não atinge concentrações agudamente tóxicas à fauna aquática. No entanto tem alta toxicidade crônica para a vida aquática. Os efeitos das baixas concentrações de inseticidas com freqüência aparecem apenas após períodos de exposição relativamente longos. A exposição crônica a inseticidas, como o lindano, podem apresentar riscos para macroinvertebrados de água doce, mesmo em concentração muito baixas. Os efeitos da baixa concentração podem depender da espécie e da substância e, portanto, não é possivel prevê – los a partir de dados de toxicidade de concentração mais elevadas. (Toledo,H.B., 2002).

Na Tabela 2 apresenta o grau de toxicidade e de persistência (variando em uma escala de 1 a 5) nos principais grupos de animais atingidos pela contaminação ambiental por agrotóxicos, exceto a espécie humana

CONSELHO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

Tabela 2: Toxicidade e persistência ambiental de alguns agrotóxicos (em escala de 1 a 5)..

Agrotóxico	Mamíferos	Peixes	Aves	Insetos	Persistência no Ambiente
Permetrina Piretróides	2	4	2	5	2
DDT (Organoclorados)	3	4	2	2	5
Lindana (organoclorados)	3	3	2	4	4
Etil-paration (Organofosforados)	5	2	5	5	2
Malation (Organofosforados)	2	2	1	4	1
Carbaril (Carbamatos)	2	1	1	4	1
Metoprene (Regulador crescimento)	1	1	1	2	2
Bacilus thuringenis (Microbial)	1	1	1	1	1

Fonte: WHO, 1990.

3.4 Analise Cromatográfica

Dentre os modernos métodos de análise química, a cromatografia ocupa, sem dúvida, um lugar de merecido destaque no que concerne à separação, identificação e quantificação de espécies químicas.

Cromatografia é um método físico-químico de separação, no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases: uma fase fixa de grande área superficial denominada fase estacionária, e a outra um fluido que percola através dela sendo, por isto, denominada fase móvel. (Ciola,1985).

3.4.1 CLASSIFICAÇÃO DOS MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Os critérios para a classificação dos diferentes métodos cromatográficos variam de acordo com o enfoque de cada autor, sendo os mais comuns: quanto ao mecanismo da separação, quanto à técnica empregada e em relação ao tipo de fase utilizada.

3.4.2 PARÂMETROS

Teoria básica da cromatografia gasosa, com ênfase em parâmetros como: Área do Pico, Tempo de Retenção e Posição do Pico. Os quais podem ser considerados, do ponto de vista prático, os fatores que governam o sucesso da separação cromatográfica.

3.4.3 GÁS DE ARRASTE

A função do gás de arraste é levar as moléculas da amostra a ser separada do ponto de injeção até o detector, passando pela coluna onde a separação irá ocorrer. Idealmente, deve apresentar as seguintes características:

a) não interagir com a fase estacionária nem com a amostra;
b) ter baixo custo;
c) ser adequado ao detector em uso.

3.4.4 INJETOR

A escolha apropriada das condições de injeção, tais como o volume da amostra, temperatura do injetor e tipo de injeção dependem, em larga escala, do estado físico da amostra.

3.4.5 COLUNA

A coluna é considerada como o "o coração do sistema cromatográfico", uma vez que nela que a separação irá ocorrer. A escolha da coluna apropriada para uma dada separação é de suma importância e, muitas vezes, difícil.

3.4.6 DETECTOR

A função do detector em um sistema cromatográfico é acusar a presença e medir a quantidade de componentes no efluente da coluna.

Dentre as diversas características desejáveis para um bom detector, as principais são: sensibilidade elevada, baixo nível de ruído, resposta, ampla faixa de linearidade e quantidade mínima detectada.

3.4.7 DETECÇÃO POR CAPTURA DE ELÉTRONS – ECD

O detector por captura eletrônica tem seu funcionamento baseado na captura de elétrons pela amostra, elétrons estes gerados pela ionização do gás de arraste por uma fonte radioativa.

Á medida em que o gás de arraste (geralmente nitrogênio) fluí através do detector, uma lâmina contendo a fonte radioativa (H ou Ni) ioniza as moléculas do gás e forma elétrons lentos. Os elétrons são atraídos para o anodo, o qual encontra-se com + 90 volts em relação ao cátodo. Como conseqüência, este fluxo de elétrons irá gerar uma corrente constante também conhecida como corrente padrão. Uma molécula contendo grupos que apresentam afinidade por elétrons sendo eluída da coluna junto com o gás de arraste, ao passar pelo detector irá capturar os elétrons livres produzidos na ionização do gás de arraste. Como conseqüência, isto irá diminuir a corrente e ocasionar o aparecimento de um pico negativo (na prática observa-se picos positivos regulares, uma vez que a polaridade do registrador é invertida).

Através de uma calibração apropriada pode-se determinar a concentração da amostra presente, com base na queda da corrente.

A fonte radioativa utilizada na ionização deve ser escolhida adequadamente. Apesar de existir uma larga gama de radioisótopos passíveis de uso, apenas o trítio (mais antigo) ou Ni são utilizados em aparelhos comerciais. Como o Ni pode ser aquecido até cerca de 350° C, a possibilidade de descontaminação do detector (das sujeiras não radioativas) é maior.

Por outro lado, a energia da partícula beta emitida pelo ^{63}Ni é quase quatro vezes mais energética, e sua meia vida é 10 vezes superior, o que aumenta o risco do operador em caso de contaminação do sistema com o material radioativo (geralmente utiliza-se 8m Ci de ^{63}Ni, uma atividade considerável).

Algumas características importantes dos dois isótopos, as quais devem ser ponderadas pelo usuário no momento da escolha do detector, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 3: Comparação das características entre fonte radioativas de Hidrogênio (^{3}H) e Níquel (^{63}Ni).

Característica	**^{3}H**	**^{63}Ni**
Meia-Vida	12,5 anos	125 anos
Tipo de decaimento	β^{-}	β
Energia de partícula	18kev	67kev
Atividade específica	9.800 Ci/g	5Ci/g
Estado físico (CNTP)	gás	Sólido
Limite de tempertura para uso no ECD	220° C	350° C
Radiotoxidez	Alta	Moderada

DESCRIÇÃO DO DETECTOR

Os elétrons coletados após a ionização do gás de arraste pela fonte radioativa, ao serem capturados pela amostra irão gerar um sinal elétrico. Este sinal é enviado a um eletrômetro que o amplifica e remete ao registrador para desenhar o cromatograma.

4. MATERIAIS E METODOS

4.1 Matriz Estudada

No ser humano, os organoclorados podem ser identificados no sangue, no soro, no plasma, no tecido adiposo e no leite. No Brasil, o uso geral desse pesticida foi proibido em 1985, ficando o mesmo restrito apenas a campanhas de saúde pública (Portaria do Ministério da Agricultura n° 329 de 2.9.1985).

Neste trabalho analisamos o soro sangüíneo de 56 funcionários e ex – funcionários classificados como grupo 1 e outro grupo composto de 112 pessoas não exposto ao produto estudado classificado como grupo 2 em uma proporção de 1:2.

O soro sangüíneo das amostras foram coletados no local e encaminhado imediatamente ao laboratório - Seção de aditivos e Pesticidas Residuais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo/SP para analise.

As amostras chegaram em tubos devidamente identificados e lacrados resfriadas e com gelo reciclado em uma caixa de isopor.

4.2 Ativo Estudado

Nas figuras de 1 a 8 estão sendo apresentadas as formulas química, estrutural e seus respectivos cromatogramas em destaque o tempo de retenção

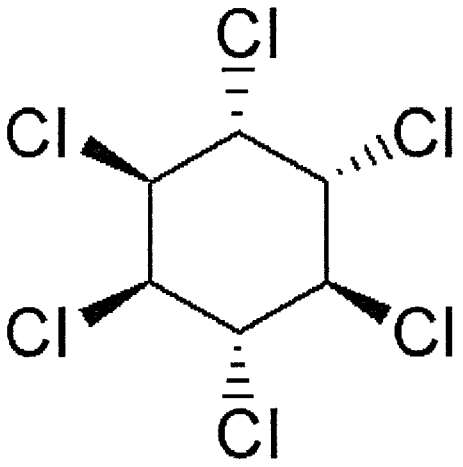


Figura 1: Formula Estrutural Alfa HCH.

Fórmula Molecular $C_6H_6Cl_6$ e peso molecular 290,80 g mol $^{-1}$

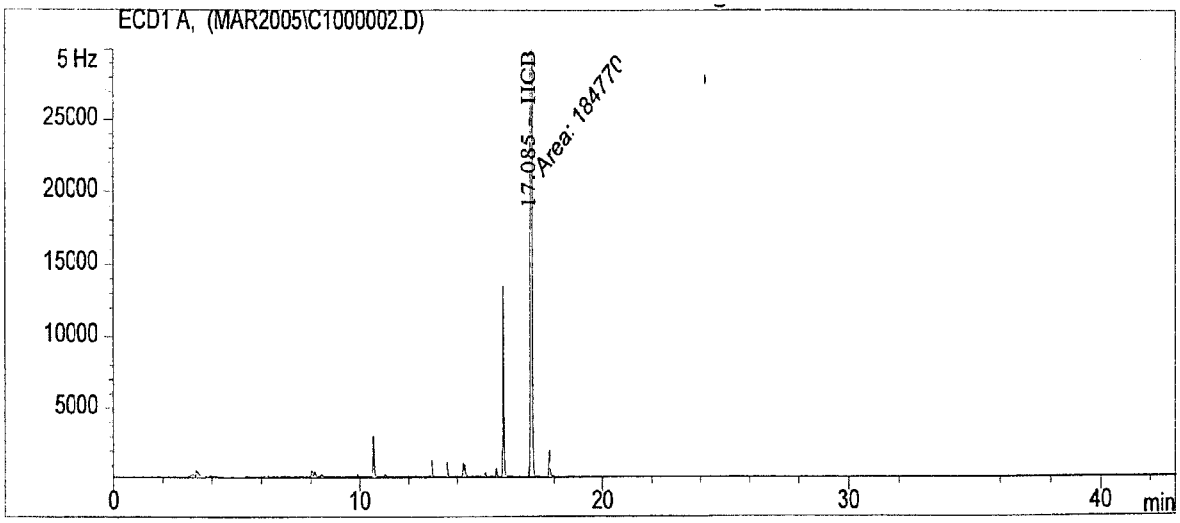


Figura 2: Cromatograma Alfa HCH, tempo de retenção 17.085 minutos.

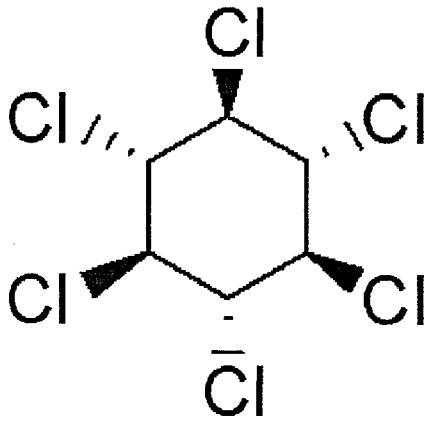


Figura 3: Formula Estrutural Beta HCH.

Formula Molecular $C_6H_6Cl_6$ e peso molecular 290,80 g mol $^{-1}$

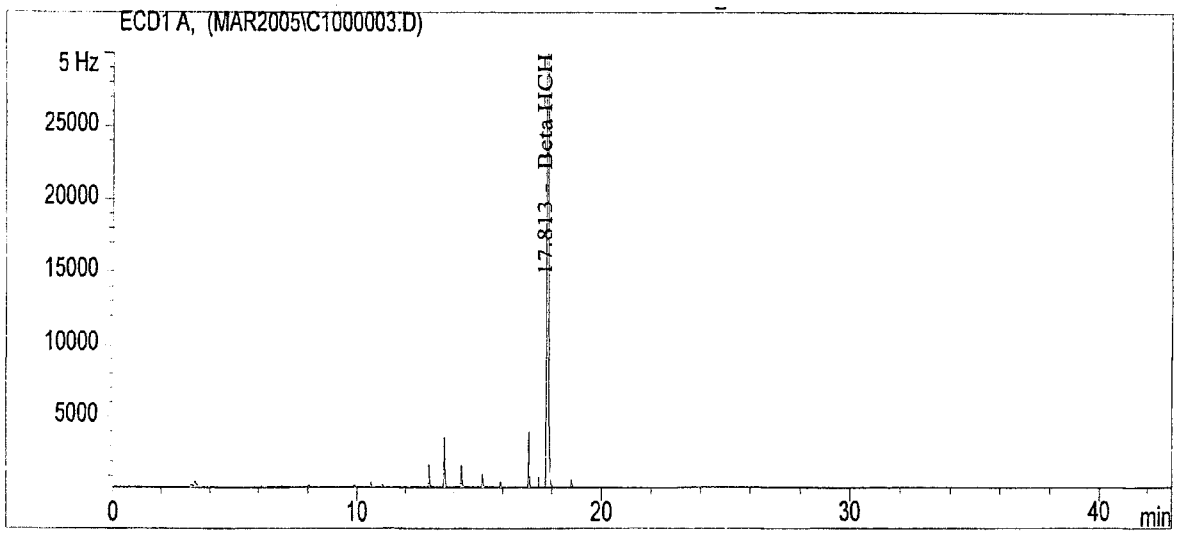


Figura 4: Cromatograma Beta HCH tempo de retenção 17.813 minutos.

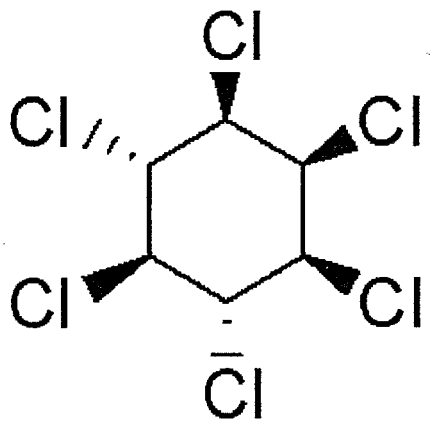


Figura 5: Formula Estrutural Delta HCH.

Formula Molecular $C_6H_6Cl_6$ e peso molecular 290,80 g mol $^{-1}$

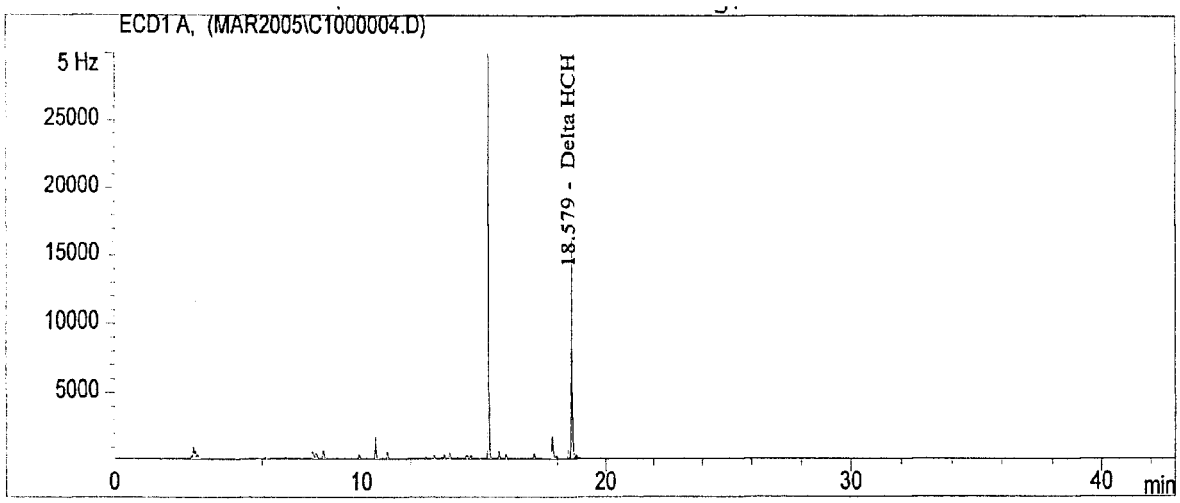


Figura 6: Cromatograma Delta HCH tempo de retenção 18.579 minutos.

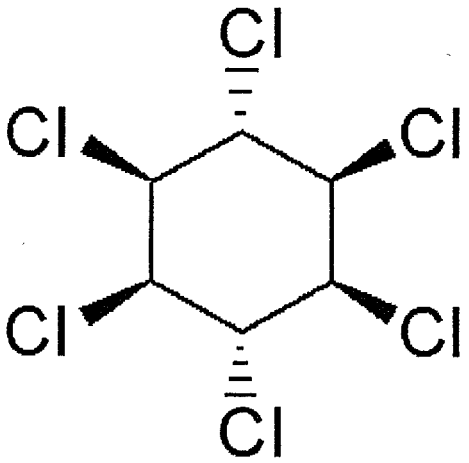


Figura 7: Formula Estrutural Gama HCH - Lindana.

Formula Molecular $C_6H_6Cl_6$ e peso molecular 290,80 g mol $^{-1}$

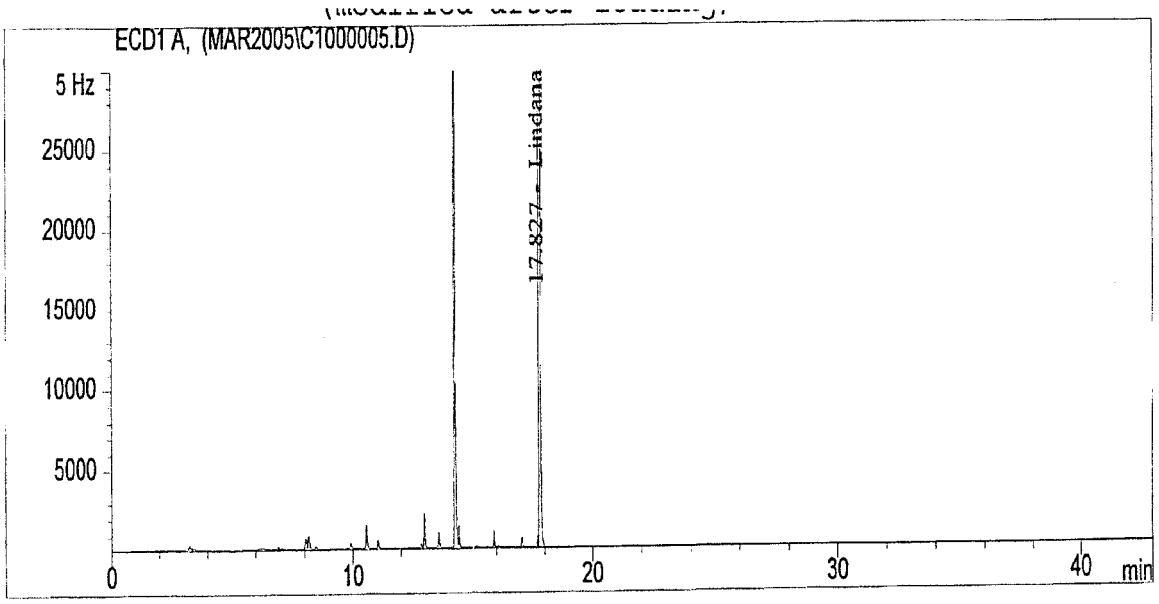


Figura 8: Cromatograma Gama HCH - Lindana tempo de retenção 17.827 minutos.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

4.3 Principio do método analítico

Resíduos de Hexaclorociclohexano (isômeros alfa, beta, delta e gama) são extraídos com hexano após a homogeneização do soro sangüíneo resfriado. Após concentração do extrato, é injetado no cromatógrafo á gás com detector de captura de elétrons GC-ECD.

4.4 Equipamentos, materiais e solventes utilizados

4.4.1 Equipamentos

a) Cromatógrafo á gás com Detector de Captura de Elétrons, marca Agilent modelo 6890
b) Injetor automático Agilent,
c) Software ChemStation,
d) Balança Analítica, marca Sartorius,
e) Balança Semi Analítica,
f) Agitador de tubos,
g) Lavadora ultrasônica,
h) Purificador de água com filtro Milli-Q, marca Millipore
i) Concentrador com fluxo de gás.

4.4.2 Vidraria e outros materiais

a) Tubos de vidro com tampa esmerilhada graduado de 15mL
b) Proveta graduada de 50mL,
c) Balão volumétrico de 10mL,
d) Pipetas volumétricas e graduadas de diversos volumes,
e) Frasco de vidro para injetor automático de 2mL,

4.4.3 Solventes e Reagentes

a) Água purificada,
b) Acetona grau resíduos ou similar,
c) Hexano grau resíduos,
d) Isooctano grau resíduos.

4.5 Preparação das Soluções

4.5.1 Preparação das Soluções de Estoque "Solução Mãe".

a) Solução ALFA: 100,0µg.mL^{-1} de α HCH

Pesar 0,0100g de α HCH (Padrão Primário) e dissolver em isooctano. Transferir para balão volumétrico de 100mL completando o volume com isooctano.

b) Solução BETA: 100,0µg.mL^{-1} de β HCH

Pesar 0,0100g de β HCH (Padrão Primário) e dissolver em isooctano. Transferir para balão volumétrico de 100mL completando o volume com isooctano.

c) Solução DELTA: 100,0µg.mL^{-1} de σ HCH

Pesar 0,0100g de σ HCH (Padrão Primário) e dissolver em isooctano. Transferir para balão volumétrico de 100mL completando o volume com isooctano.

d) Solução GAMA "LINDANO": 100,0µg.mL^{-1} de γ HCH

Pesar 0,0100g de Lindano (Padrão Primário) e dissolver em isooctano. Transferir para balão volumétrico de 100mL completando o volume com isooctano.

4.5.2 Preparação das Soluções Intermediaria "SI".

e) Solução SI-A: 1000pg. µL^{-1} de ALFA

Transferir 100µL da solução ALFA para um balão volumétrico de 10,0 mL.

Completar o volume com hexano.

f) Solução SI-B: 1000pg. μL^{-1} de BETA

Transferir 100µL da solução BETA para um balão volumétrico de 10,0 mL. Completar o volume com hexano.

g) Solução SI-C: 1000pg. μL^{-1} de DELTA

Transferir 100µL da solução DELTA para um balão volumétrico de 10,0 mL. Completar o volume com hexano.

h) Solução SI-D: 1000pg. μL^{-1} de LINDANA

Transferir 100µL da solução GAMA "LINDANA" para um balão volumétrico de 10,0 mL. Completar o volume com hexano.

4.5.2 Preparação das soluções para obtenção das Curvas de Calibrações.

Curva 1- Solução B) Alfa HCH + Beta HCH

a) Solução (B): 100 + 200 pg μL^{-1} de Alfa + Beta

Transferir 100µL da SI-A + 200 µL da SI-B para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

b) Solução (B): 50 + 100 pg μL^{-1} de Alfa + Beta

Transferir 5mL da Solução (B): 100 + 200 pg μL^{-1} de Alfa + Beta para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

c) Solução (B): 20 + 40 pg μL^{-1} de Alfa + Beta

Transferir 20µL da SI-A + 20 µL da SI-B para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

d) Solução (B): 10 + 20 pg μL^{-1} de Alfa + Beta

Transferir 1mL da Solução (B): 100 + 200 pg μL^{-1} de Alfa + Beta para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

e) Solução (B): 2 + 4 pg μL^{-1} de Alfa + Beta

Transferir 1mL da Solução (B) 20 + 40 pg μL^{-1} de Alfa + Beta para um balão

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

f) Solução (B): 1 + 2 pg μL^{-1} de Alfa + Beta

Transferir 1mL da Solução (B) 10 + 20 pg μL^{-1} de Alfa + Beta para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

g) Solução (B): 0,2 + 0,4 pg μL^{-1} de Alfa + Beta

Transferir 1mL da Solução (B) 2 + 4 pg μL^{-1} de Alfa + Beta para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

h) Solução (B): 0,1 + 0,2 pg μL^{-1} de Alfa + Beta

Transferir 1mL da Solução (B) 1 + 2 pg μL^{-1} de Alfa + Beta para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

Curva 2- Solução (A) Lindana + Delta HCH

i) Solução (A): 100 + 200 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH

Transferir 100µL da SI-D + 200 µL da SI-C para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

j) Solução (A): 50 + 100 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH

Transferir 5mL da Solução (A): 100 + 200 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

k) Solução (A): 20 + 40 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH

Transferir 20µL da SI-D + 20 µL da SI-C para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

l) Solução (A): 10 + 20 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH

Transferir 1mL da Solução (A): 100 + 200 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

m) Solução (A): 2 + 4 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH

Transferir 1mL da Solução (A) 20 + 40 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH para

um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

n) Solução (A): 1 + 2 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH

Transferir 1mL da Solução (A) 10 + 20 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

o) Solução (A): 0,2 + 0,4 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH

Transferir 1mL da Solução (A) 2 + 4 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

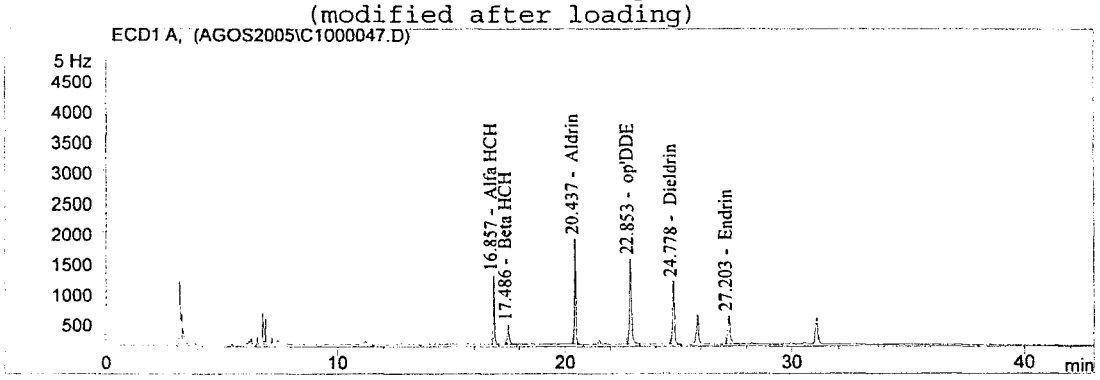
p) Solução (A): 0,1 + 0,2 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH

Transferir 1mL da Solução (A) 1 + 2 pg μL^{-1} de Lindana + Delta HCH para um balão volumétrico e completar o volume para 10mL com hexano.

Nas figuras 9 ate 14 são apresentados alguns dos cromatogramas das curvas de calibração.

Alfa HCH = 10 pg/uL
Beta HCH, Aldrin, Dieldrin = 20 pg/uL
Endrin, op'DDE = 40 pg/uL

```
=====================================================================
Injection Date   : 30/07/05 06:27:33                Seq. Line :  23
Sample Name      : Pad. Sol.B                            Vial :  23
Acq. Operator    : Cristina Loiola                        Inj :   1
                                                  Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USSP.M
Last changed     : 06/08/05 12:22:14  by IRANI
                   (modified after loading)
```




```
=====================================================================
                        External Standard Report
=====================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      06/08/05 12:22:10
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,
```

RetTime [min]	Type	Area [5 Hz*s]	Amt/Area	Amount [ug/dL]	Grp	Name
16.857	VV	3894.35791	1.41127e-3	1.09920		Alfa HCH
17.486	VP	1831.14343	1.26519e-2	4.63349		Beta HCH
20.437	BP	7403.87256	1.84807e-3	2.73657		Aldrin
22.853	VB	8865.91211	5.40302e-3	9.58054		op'DDE
24.778	VB	5962.16895	3.38840e-3	4.04044		Dieldrin
27.203	BB	3405.65674	1.40603e-2	9.57692		Endrin

Totals : 31.66716

Results obtained with enhanced integrator!

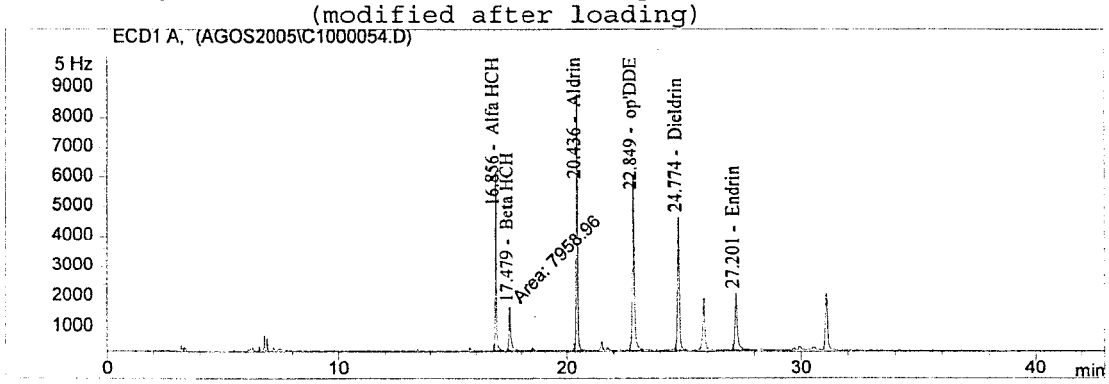
===

*** End of Report ***

Figura 9: Cromatograma da Curva 1- Solução "B" Alfa HCH + Beta HCH Concentração 10pg μL^{-1} Alfa HCH e 20 pg μL^{-1} Beta HCH

Alfa HCH = 50 pg/uL
Beta HCH, Aldrin, Dieldrin = 100 pg/uL
Endrin, op'DDE = 200 pg/uL

```
==================================================================
Injection Date  : 30/07/05 12:31:50                Seq. Line :  25
Sample Name     : Pad. Sol.B                            Vial :  25
Acq. Operator   : Cristina Loiola                        Inj :   2
                                                  Inj Volume : 2 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed    : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\USSP.M
Last changed    : 06/08/05 12:11:42  by IRANI
                  (modified after loading)
```




```
==================================================================
                      External Standard Report
==================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      06/08/05 12:11:00
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,
```

RetTime [min]	Type	Area [5 Hz*s]	Amt/Area	Amount [ug/dL]	Grp	Name
16.856	VB S	1.98890e4	1.34948e-3	5.36798		Alfa HCH
17.479	MF	7958.95898	1.27504e-2	20.29593		Beta HCH
20.436	PB S	3.49367e4	1.66520e-3	11.63527		Aldrin
22.849	VV	3.58791e4	5.42355e-3	38.91834		op'DDE
24.774	VV	2.54652e4	3.35730e-3	17.09887		Dieldrin
27.201	BB	1.42804e4	1.41350e-2	40.37075		Endrin

Totals : 133.68714

Results obtained with enhanced integrator!

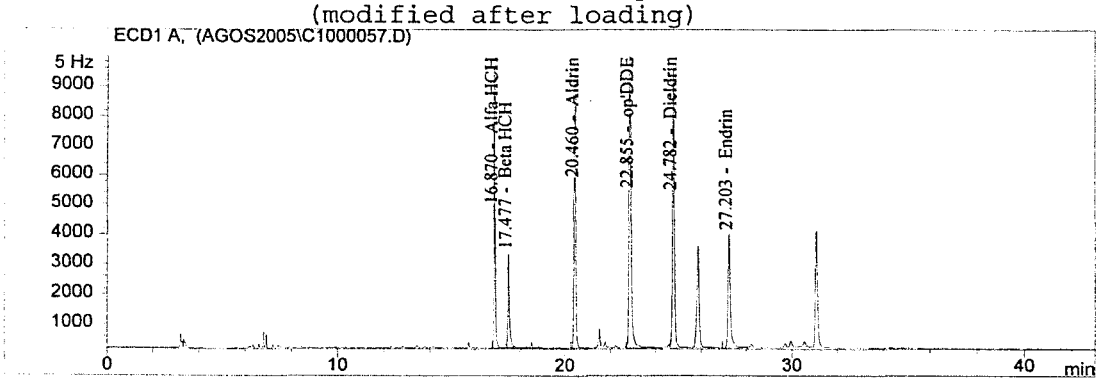
==

*** End of Report ***

Figura 10: Cromatograma da Curva 1- Solução "B" Alfa HCH + Beta HCH Concentração 50pg μL^{-1} Alfa HCH e 100 pg μL^{-1} Beta HCH

Alfa HCH = 100 pg/uL
Beta HCH, Aldrin, Dieldrin = 200 pg/uL
Endrin, op'DDE = 400 pg/uL

```
==================================================================
Injection Date   : 30/07/05 15:08:23                Seq. Line :  26
Sample Name      : Pad. Sol.B                            Vial :  26
Acq. Operator    : Cristina Loiola                        Inj :   2
                                                  Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USSP.M
Last changed     : 05/08/05 13:51:03  by IRANI
                   (modified after loading)
```

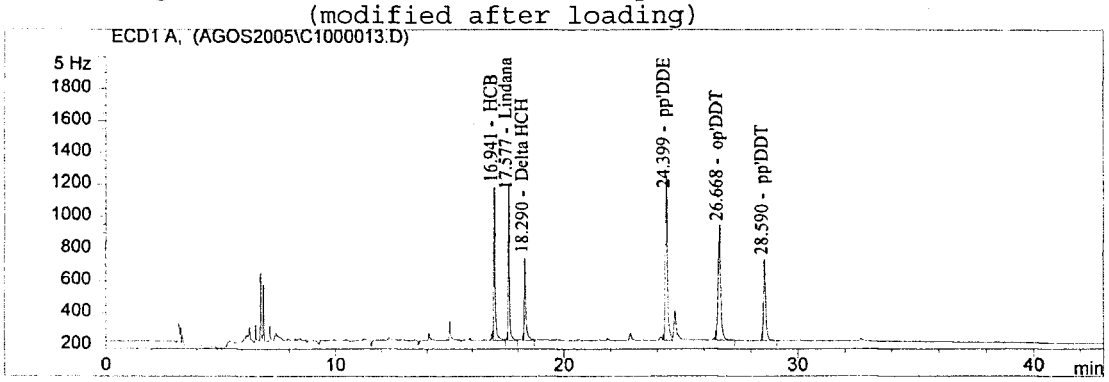



```
==================================================================
                      External Standard Report
==================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      Friday, 5 5e August 5e 2005 13:50:58
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,

RetTime  Type      Area      Amt/Area    Amount    Grp   Name
 [min]           [5 Hz*s]                [ug/dL]
-------|------|----------|----------|----------|--|-----------------
 16.870 VB S   8.36646e4  1.27630e-3   21.35630     Alfa HCH
 17.477 VV T   1.54086e4  1.29886e-2   40.02738     Beta HCH
 20.460 PB S   1.18671e5  1.70951e-3   40.57372     Aldrin
 22.855 VB S   7.47481e4  5.41685e-3   80.97984     op'DDE
 24.782 VB S   7.76671e4  3.07248e-3   47.72616     Dieldrin
 27.203 VV     2.83772e4  1.43226e-2   81.28696     Endrin

Totals :                               311.95037

 Results obtained with enhanced integrator!
==================================================================
                        *** End of Report ***
```

Figura 11: Cromatograma da Curva 1- Solução "B" Alfa HCH + Beta HCH Concentração 100pg μL^{-1} Alfa HCH e 200 pg μL^{-1} Beta HCH

HCB, Lindana = 10 pg/uL
Delta HCH, pp'DDE = 20 pg/uL
pp'DDT, op'DDT = 40 pg/uL

```
=====================================================================
Injection Date   : 29/07/05 00:56:27                Seq. Line :   5
Sample Name      : Pad. Sol.A                            Vial :   5
Acq. Operator    : Cristina Loiola                        Inj :   1
                                                   Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USP.M
Last changed     : 05/08/05 10:19:49  by IRANI
                   (modified after loading)
```

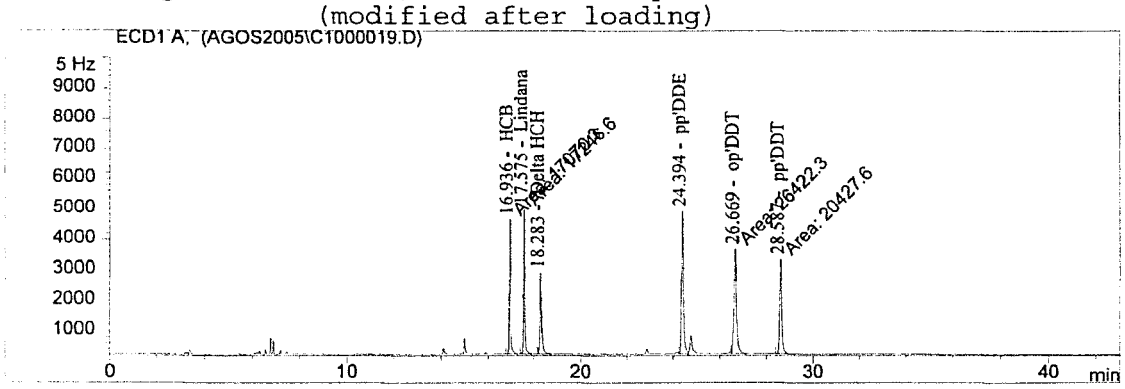



```
=====================================================================
                        External Standard Report
=====================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      Friday, 5 5e August 5e 2005 10:19:44
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,

RetTime  Type     Area       Amt/Area     Amount    Grp   Name
 [min]          [5 Hz*s]                 [ug/dL]
-------|------|----------|----------|----------|--|------------------
 16.941 VV     3991.02539 2.83828e-3    2.26553     HCB
 17.577 VV     3512.16504 2.60223e-3    1.82789     Lindana
 18.290 BV     2706.07642 6.97714e-3    3.77614     Delta HCH
 24.399 VV     6407.46875 3.34769e-3    4.29004     pp'DDE
 26.668 VB     5636.79980 7.38913e-3    8.33021     op'DDT
 28.590 BB     3320.93408 8.82201e-3    5.85946     pp'DDT

Totals :                                26.34927

 Results obtained with enhanced integrator!
=====================================================================
                          *** End of Report ***
```

Figura 12: Cromatograma da Curva 2- Solução "A" Delta HCH + Gama HCH Concentração 10pg μL^{-1} Gama HCH Lindana e 20 pg μL^{-1} Delta HCH

HCB, Lindana = 50 pg/uL
Delta HCH, pp'DDE = 100 pg/uL
pp'DDT, op'DDT = 200 pg/uL

```
=====================================================================
Injection Date   : 29/07/05 06:08:45                Seq. Line :   7
Sample Name      : Pad. Sol.A                            Vial :   7
Acq. Operator    : Cristina Loiola                        Inj :   1
                                                   Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USP.M
Last changed     : 05/08/05 10:03:23  by IRANI
                   (modified after loading)
```




```
=====================================================================
                        External Standard Report
=====================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      05/08/05 10:03:18
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,
```

RetTime [min]	Type	Area [5 Hz*s]	Amt/Area	Amount [ug/dL]	Grp	Name
16.936	MF	1.70703e4	2.85047e-3	9.73170		HCB
17.575	MF	1.72466e4	2.56672e-3	8.85344		Lindana
18.283	BV	1.32751e4	6.91404e-3	18.35697		Delta HCH
24.394	VV	2.91256e4	3.35701e-3	19.55501		pp'DDE
26.669	MF	2.64223e4	7.40758e-3	39.14503		op'DDT
28.587	MF	2.04276e4	8.61638e-3	35.20247		pp'DDT

Totals : 130.84462

Results obtained with enhanced integrator!

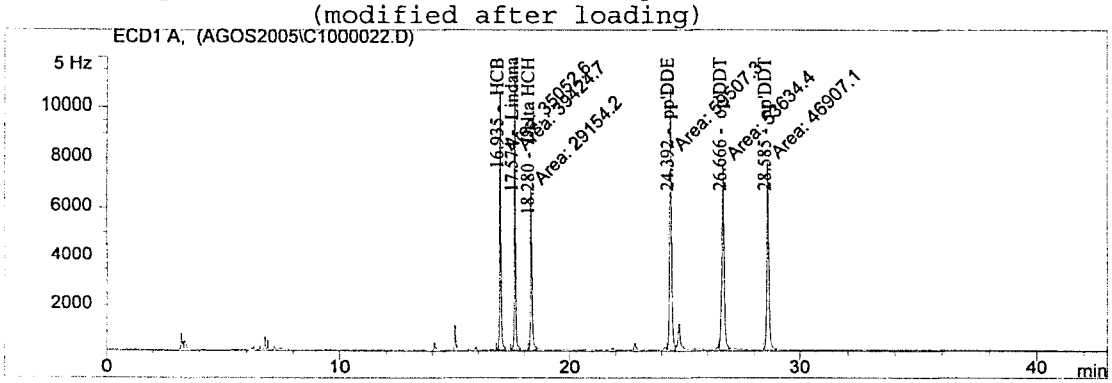
===

*** End of Report ***

Figura 13: Cromatograma da Curva 2- Solução "A" Delta HCH + Gama HCH Concentração 50pg μL^{-1} Gama HCH Lindana e 100 pg μL^{-1} Delta HCH

HCB, Lindana = 100 pg/uL
Delta HCH, pp'DDE = 200 pg/uL
pp'DDT, op'DDT = 400 pg/uL

```
=====================================================================
Injection Date   : 29/07/05 08:44:36                Seq. Line :   8
Sample Name      : Pad. Sol.A                            Vial :   8
Acq. Operator    : Cristina Loiola                        Inj :   1
                                                   Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USP.M
Last changed     : 05/08/05 09:52:10  by IRANI
                   (modified after loading)
```




```
=====================================================================
                        External Standard Report
=====================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      05/08/05 09:49:52
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,

RetTime  Type     Area      Amt/Area    Amount    Grp   Name
 [min]          [5 Hz*s]                [ug/dL]
-------|------|----------|----------|----------|--|-----------------
 16.935 MF     3.50526e4  2.85285e-3   20.00000     HCB
 17.574 MF     3.94247e4  2.53648e-3   20.00000     Lindana
 18.280 MF     2.91542e4  6.86008e-3   40.00000     Delta HCH
 24.392 MF     5.95073e4  3.36093e-3   40.00000     pp'DDE
 26.666 MF     5.36344e4  7.45791e-3   80.00000     op'DDT
 28.585 FM     4.69071e4  8.52749e-3   80.00000     pp'DDT

Totals :                               280.00000

 Results obtained with enhanced integrator!
=====================================================================
                          *** End of Report ***
```

Figura 14: Cromatograma da Curva 2- Solução "A" Delta HCH + Gama HCH Concentração 100pg μL^{-1} Gama HCH Lindana e 200 pg μL^{-1} Delta HCH

4.6 Preparação das Amostras

As amostras de soro sangüíneo foram enviadas em tubos lacradas, congeladas e devidamente identificadas ao chegarem ao laboratório o material foi colocado em sacos de polietileno, contendo etiquetas devidamente preenchidas, que após retirada da amostra para análise foi acondicionados em estantes devidamente identificada dentro do freezer, temperatura de –20° C.

4.7 Extração dos ativos na amostra

a) Pipetar 1 mL da amostra de soro sangüíneo e transferir para um tubo de vidro de 15 mL.
b) Para a recuperação fortificar a amostra branco neste momento.
c) Adicionar 5mL de hexano.
d) Agitar por 1 min em agitador de tubos com velocidade de 5000 r.p.m seguido de 10min em ultrasônica na potência máxima.
e) Transferir a fase orgânica para outro tubo de vidro com tampa esmerilhada graduado de 15mL.
f) Extrair novamente, adicionar mais 5mL de hexano na amostra de soro sangüíneo.
g) Transferir a fase orgânica para o tubo que já contem 5mL da primeira extração (item "e").
h) Concentrar em concentrador automático com fluxo de nitrogênio o extrato a fase orgânica - hexanica até 2mL.
i) Transferir os 2mL (limpando as paredes do tubo de vidro de 15mL), para frasco de vidro do injetor automático.
h) Injetar 2,0μL em GC-ECD utilizando os parâmetros nas condições de operação descritos no item 4.9.

Na figura 15 é apresentado o fluxograma utilizado para análise de resíduos de HCH.

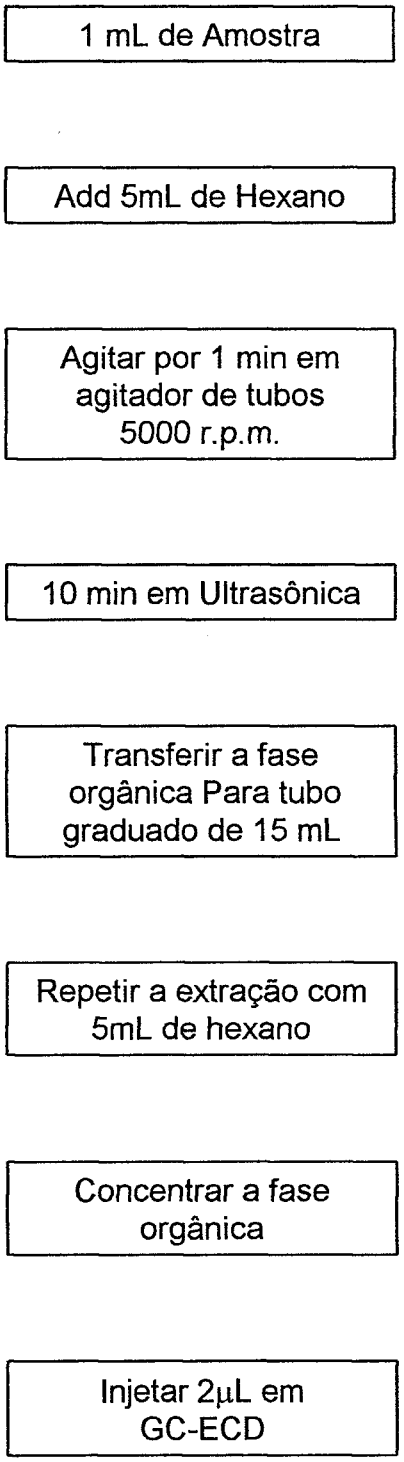


Figura 15: Fluxograma para analise de resíduos de HCH e seus isômeros em soro sangüíneo

4.8 Fortificação do ativo na amostra

Com finalidade de validação e acompanhamento do ensaio, foi fortifica em quintuplicata as amostras branco com o padrão analítico dos ativos estudados, em dois níveis de concentração: 0,04 $\mu g\ dL^{-1}$ e 0,40 $\mu g\ dL^{-1}$ para ALFA HCH e LINDANA e 0,08$\mu g\ dL^{-1}$ e 0,80$\mu g\ dL^{-1}$ para BETA e DELTA de acordo com:

a) Nível de 0,04 $\mu g\ dL^{-1}$ para ALFA e LINDANA e 0,08 $\mu g\ dL^{-1}$ para BETA e DELTA

Adicionar 40µL e 80µL das respectivas soluções SI-A em 1,0mL da amostra branco em tubo de 15 mL para obtenção da concentração final de 0,04 $\mu g\ dL^{-1}$ e 0,08 $\mu g\ dL^{-1}$. Proceder conforme método de extração.

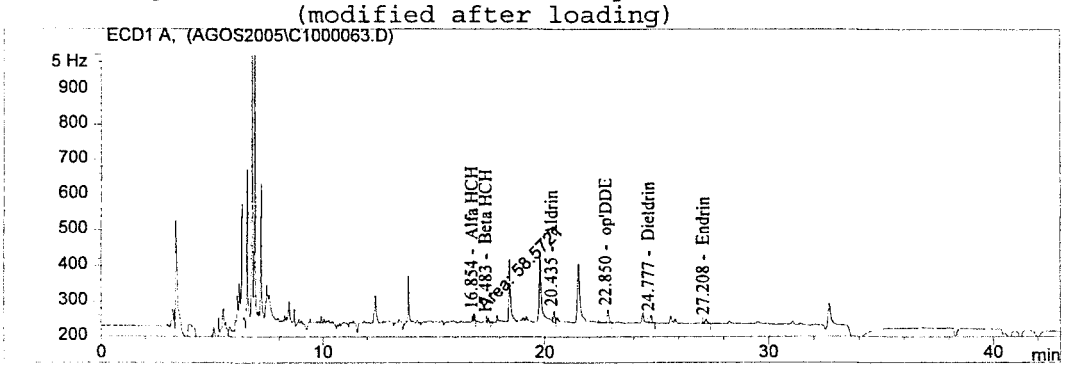
b) Nível de 0,4 $\mu g\ dL^{-1}$ para ALFA e LINDANA e 0,8 $\mu g\ dL^{-1}$ para BETA e DELTA

Adicionar 400µL e 800µL das respectivas soluções SI-A em 1,0mL da amostra branco em tubo de 15 mL para obtenção da concentração final de 0,4 $\mu g\ dL^{-1}$ e 0,8 $\mu g\ dL^{-1}$. Proceder conforme método de extração.

Nas figuras 16 a 19 são apresentadas os cromatogramas obtidos no estudo de recuperação do HCH.

Alfa HCH = 0,04 ug/dL
Beta HCH, Aldrin, Dieldrin = 0,08 ug/dL
Endrin, op'DDE = 0,12 ug/dL

```
==================================================================
Injection Date   : 30/07/05 20:21:34              Seq. Line :  31
Sample Name      : Rec. 1lq-b (E)                      Vial :  31
Acq. Operator    : Cristina Loiola                      Inj :   1
                                                 Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USSP.M
Last changed     : 06/08/05 12:50:18  by IRANI
                   (modified after loading)
```



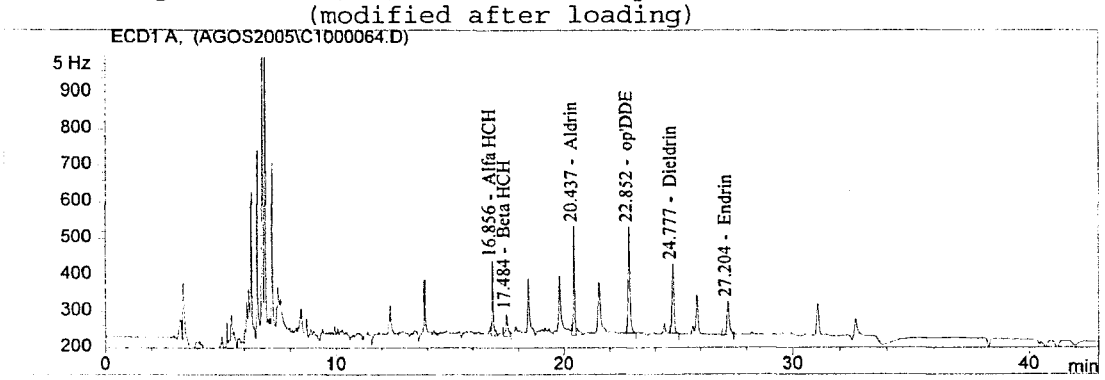

```
==================================================================
                      External Standard Report
==================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      Saturday, 6 6e August 6e 2005 12:49:08
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,

RetTime  Type     Area      Amt/Area    Amount    Grp   Name
 [min]          [5 Hz*s]               [ug/dL]
-------|------|----------|----------|----------|--|-----------------
 16.854 MM       58.57215 2.50526e-3 2.93477e-2     Alfa HCH
 17.483 VV       70.62469 1.26377e-2 1.78507e-1     Beta HCH
 20.435 VV      147.61528 2.83803e-3 8.37874e-2     Aldrin
 22.850 PB      214.78360 5.39570e-3 2.31781e-1     op'DDE
 24.777 BB      119.33024 3.82031e-3 9.11758e-2     Dieldrin
 27.208 BV       94.64943 1.40387e-2 2.65751e-1     Endrin

Totals :                              8.80350e-1

 Results obtained with enhanced integrator!
==================================================================
                        *** End of Report ***
```

Figura 16: Cromatograma da Recuperação Alfa HCH + Beta HCH - 1LOQ

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

Alfa HCH = 0,4 ug/dL
Beta HCH, Aldrin, Dieldrin = 0,8 ug/dL
Endrin, op'DDE = 1,2 ug/dL

```
==================================================================
Injection Date   : 30/07/05 21:13:46              Seq. Line :  32
Sample Name      : Rec. 10lq-b (A)                     Vial :  32
Acq. Operator    : Cristina Loiola                      Inj :   1
                                                 Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USSP.M
Last changed     : 06/08/05 12:50:18  by IRANI
                   (modified after loading)
```

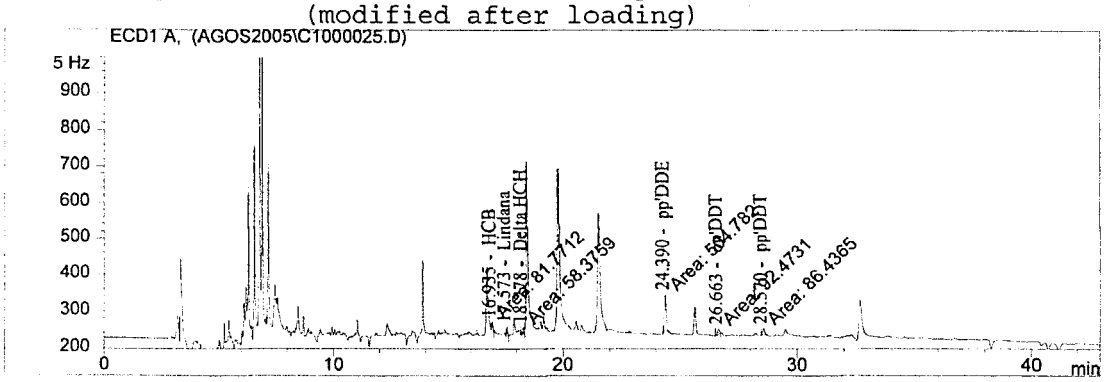



```
==================================================================
                      External Standard Report
==================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      Saturday, 6 6e August 6e 2005 12:49:08
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,

RetTime  Type     Area      Amt/Area    Amount   Grp   Name
 [min]          [5 Hz*s]               [ug/dL]
-------|------|----------|----------|----------|--|------------------
 16.856 VV      699.55005 2.50526e-3 3.50511e-1     Alfa HCH
 17.484 VV      415.76041 1.26377e-2    1.05085     Beta HCH
 20.437 VV     1263.85840 2.83803e-3 7.17375e-1     Aldrin
 22.852 BB     1677.83875 5.39570e-3    1.81062     op'DDE
 24.777 PB     1056.07532 3.82031e-3 8.06908e-1     Dieldrin
 27.204 VB      620.13116 1.40387e-2    1.74117     Endrin

Totals :                                 6.47744

 Results obtained with enhanced integrator!
==================================================================
                      *** End of Report ***
```

Figura 17: Cromatograma da Recuperação Alfa HCH + Beta HCH - 10LOQ

HCB, Lindana = 0,04 ug/dL
Delta HCH, pp'DDE = 0,08 ug/dL
pp'DDT, op'DDT = 0,12 ug/dL

```
=====================================================================
Injection Date   : 29/07/05 11:20:28                Seq. Line :   9
Sample Name      : Rec. 1lq-a (A)                        Vial :   9
Acq. Operator    : Cristina Loiola                        Inj :   1
                                                  Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USP.M
Last changed     : 05/08/05 13:25:33  by IRANI
                   (modified after loading)
```




```
=====================================================================
                        External Standard Report
=====================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      Friday, 5 5e August 5e 2005 12:10:40
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,
```

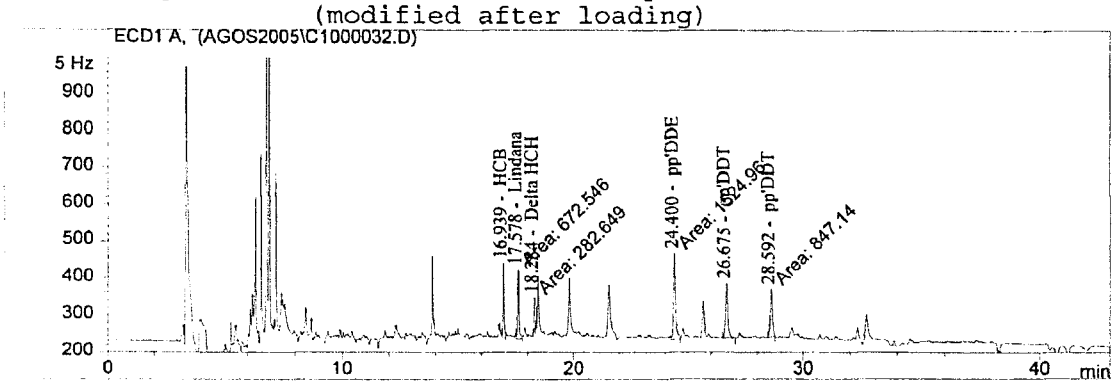
RetTime [min]	Type	Area [5 Hz*s]	Amt/Area	Amount [ug/dL]	Grp	Name
16.935	MM	81.77119	2.83782e-3	4.64104e-2		HCB
17.573	VV	81.29852	2.60221e-3	4.23112e-2		Lindana
18.278	MM	58.37590	6.97707e-3	8.14585e-2		Delta HCH
24.390	MM	504.78226	3.34735e-3	3.37936e-1		pp'DDE
26.663	MM	92.47312	7.38861e-3	1.36650e-1		op'DDT
28.570	MM	86.43648	8.82289e-3	1.52524e-1		pp'DDT
Totals :				7.97290e-1		

```
 Results obtained with enhanced integrator!
=====================================================================
                          *** End of Report ***
```

Figura 18: Cromatograma da Recuperação Gama HCH + Delta HCH - 1LOQ

HCB, Lindana = 0,4 ug/dL
Delta HCH, pp'DDE = 0,8 ug/dL
pp'DDT, op'DDT = 1,2 ug/dL

```
=====================================================================
Injection Date   : 29/07/05 17:25:33                Seq. Line :  16
Sample Name      : Rec. 10lq-a (C)                       Vial :  16
Acq. Operator    : Cristina Loiola                        Inj :   1
                                                  Inj Volume : 2 µl
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\SORO.M
Last changed     : 27/07/05 16:20:58  by Cris
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\USP.M
Last changed     : 05/08/05 12:44:38  by IRANI
                   (modified after loading)
```




```
=====================================================================
                        External Standard Report
=====================================================================

Sorted By              :      Signal
Calib. Data Modified   :      Friday, 5 5e August 5e 2005 12:10:40
Multiplier             :      0.2000
Dilution               :      1.0000

Signal 1: ECD1 A,

RetTime  Type     Area      Amt/Area    Amount    Grp   Name
 [min]          [5 Hz*s]                [ug/dL]
-------|------|----------|----------|----------|--|-----------------
 16.939 VV      722.42999 2.83782e-3 4.10026e-1     HCB
 17.578 MM      672.54633 2.60221e-3 3.50021e-1     Lindana
 18.284 MM      282.64880 6.97707e-3 3.94412e-1     Delta HCH
 24.400 MM     1524.96057 3.34735e-3    1.02091     pp'DDE
 26.675 VB     1104.25720 7.38861e-3    1.63179     op'DDT
 28.592 MM      847.14032 8.82289e-3    1.49484     pp'DDT

Totals :                                5.30200

 Results obtained with enhanced integrator!
=====================================================================
                          *** End of Report ***
```

Figura 19: Cromatograma da Recuperação Gama HCH + Delta HCH - 10LOQ

4.9 Análise Instrumental

As seguintes condições foram usadas com sucesso durante o desenvolvimento deste método analítico

Instrumento	Cromatógrafo á Gás
Detecção	Captura de Elétrons
Coluna	HP-5
Gás de Arraste	Nitrogênio ultra puro
Fluxo de gás de Arraste	0,900mL / min
Modo de injeção	"splintless"
Rampa	1min (60°C) - 10°C /min (200°) 10min - 20°C /min - 5min.
Volume injetado	2µL
Tempo Total de Corrida	Aproximadamente 40 minutos
Tempo de Retenção Alfa	Aproximadamente 16,8 minutos
Tempo de Retenção Beta	Aproximadamente 17,4 minutos
Tempo de Retenção Delta	Aproximadamente 18,2 minutos
Tempo de Retenção Gama "Lindana"	Aproximadamente 17,5 minutos
Nome do Método	SORO.M

4.10 Validação das adaptações ao método

O uso de uma determinada metodologia analítica deve ser sempre precedido da verificação de sua aplicabilidade ao propósito específico. A avaliação da metodologia proposta permite verificar essa aplicabilidade. A utilização de métodos validados em um, ou mais laboratórios, diferentes daquele que realizará as análises, deve ser precedida por uma avaliação da conformidade ou validação desse método.

Condições que determinam a validade de um método variam em função das

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

condições operacionais do laboratório, bem como, das práticas utilizadas pelos profissionais envolvidos. Mudanças substanciais nas condições em que as análises são feitas (materiais ou humanas) deveriam determinar a necessidade de uma revalidação do método.

A validação da metodologia de análise de resíduos de agrotóxicos, tem como fundamento verificar a adequação dos procedimentos propostos ou estabelecidos para a combinação específica ingrediente ativo-matriz, dentro de determinados parâmetros operacionais do laboratório executante. Durante o processo de validação, os parâmetros do método são estabelecidos. Por parâmetros do método entende-se: exatidão, precisão, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), especificidade, linearidade, faixa e robustez.

Neste contexto, ND (nada detectado) significa qualquer nível de resíduos abaixo do limite de detecção. O limite inferior de validação é o limite de quantificação (LOQ), e o limite superior de validação é o maior no qual se conduziram recuperações dentro dos padrões de conformidade.

4.11 Critérios de ensaios de conformidade

4.11.1 Curva de calibração (Linearidade)

Injetar no equipamento, no mínimo 5 soluções-padrão de diferentes concentrações, para se obter a curva de linearidade. A ordem de injeção das soluções-padrão deve ser crescente e deve ser injetado no mínimo 3 vezes. Plotar as áreas dos picos do padrão, contra as suas conhecidas concentrações, para a construção da curva de linearidade. Uma curva de regressão aceitável deve apresentar um coeficiente de correlação (R^2) maior ou igual a 0,99. A solução-padrão de menor concentração da curva de calibração deve ser maior ou igual a metade do limite de quantificação. A solução-padrão de maior concentração da curva de calibração deve ser 10 vezes maior que a concentração da amostra no limite de quantificação.

4.11.2 Especificidade/Seletividade

Os métodos devem ser capazes de determinar os analitos na presença da matriz. Teste realizado com a amostra branco não deve apresentar interferentes na região cromatográfica, mas se estes aparecerem os valores quando comparados com padrões do analito que se está estudando devem ser menor ou igual a 30% do LOQ.

4.11.3 Precisão de Medição

A precisão é determinada com base nos experimentos de recuperação em cada nível estudado.

4.11.4 Exatidão/Recuperação

A exatidão é determinada com base nos experimentos de recuperação em todos os níveis estudados. O nível superior de fortificação deve ser maior ou igual ao maior resíduo nas amostras tratadas do estudo. Conduzir, no mínimo, 5 (cinco) recuperações neste nível. O intervalo de aceitabilidade para os valores individuais de recuperação é de 70-120%.

4.11.5. Limite de Detecção (LOD)/Limite de Quantificação (LOQ)

O LOD é determinado nas condições específicas da amostra em estudo. Calcular-se o LOD estatístico como 3 vezes o desvio-padrão das concentrações recuperadas no cálculo do LOQ estatístico. Se o LOD do equipamento for maior que o LOD estatístico prevalecerá o valor maior. A menor quantidade detectada pode ser no mínimo ½ LOQ. O LOQ proposto é confirmado através de experimentos de recuperação na matriz de interesse. Conduzir 5 recuperações no LOQ proposto e calcular a quantidade recuperada em cada determinação em micrograma por

decilitros ($\mu g\ dL^{-1}$), a média ($\bar{x}$) e o desvio-padrão (DP) das quantidades recuperadas. Calcular o LOQ estatístico, definido como 10 vezes o valor do desvio padrão "DESVPAD" das concentrações recuperados no 1LOQ. O LOQ proposto é considerado aceitável quando for maior ou igual ao LOQ estatístico. Caso a condição acima não seja atingida, conduzir mais recuperações, recalcular o desvio-padrão e reaplicar o critério. Alterar o método ou o LOQ proposto, se pela segunda vez o critério não for atingido. As regras gerais estão descritas nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4: Limite de Detecção (LOD)

Se	Então
LOD estatístico > LOD instrumental	LODmétodo = LODestatístico
LOD estatístico < LOD instrumental	LODmétodo = LODinstrumental

Tabela 5: Limite de Quantificação(LOQ)

Se	Então
LOQ estatístico < LOQ proposto	Método Qualificado

4.11.6. Repetibilidade

O coeficiente de variação porcentual (CV%) em relação à média de concentração para cada nível de fortificação estudado deve ser menor ou igual a 15%.

4.11.7 Incerteza de medição

Para o propósito de determinação da incerteza de medição de um determinado método analítico, utiliza-se os conceitos de exatidão e precisão descrito acima.

No caso de análise de resíduos, a certeza associada aos instrumentos (metrológica), é muito menor que aquela associada ao processo analítico por ser, de forma que, a estimativa da incerteza de medição, é mais bem descrita pela incerteza no processo.

A expressão da incerteza de medição é dada pelo intervalo de confiança da média das recuperações.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Dados da Validação

Para a validação deste método no limite de quantificação proposto os ensaios de conformidade conduzidos de acordo com os critérios descritos no item anterior resultaram nos dados abaixo:

5.1.1 Curva de calibração (Linearidade)

A curva de calibração foi preparada através de três injeções cromatográficas para cada concentração das soluções-padrão Curva 1- Solução (B) "a" ao "h" – 8 pontos e Curva 2- Solução (A) "i" ao "p" – 8 pontos.

Após cálculo das áreas dos picos obtidos, uma curva foi traçada correlacionando área versus concentração e a análise de regressão foi usada para determinar a equação da curva.

Tabela 6: Faixa de trabalho, equação da curva e coeficiente de correlação.

HCH	Faixa $\rho g\ \mu L^{-1}$	Equação da Curva	Coeficiente de correlação (R^2)
α	0,1 -100	Y=389,89 X + 64,54	0,9995
β	0,1 -100	Y=90,947 X + 48,73	0,9996
σ	0,2 -200	Y=145,72 X - 35,53	0,9999
γ	0,2 -200	Y=393,63 X - 93,53	0,9998

Uma representação gráfica da curva de calibração é mostrada nas figuras 20,21, 22 e 23.

Figura 20: Curva de Calibração/ Linearidade Alfa HCH.

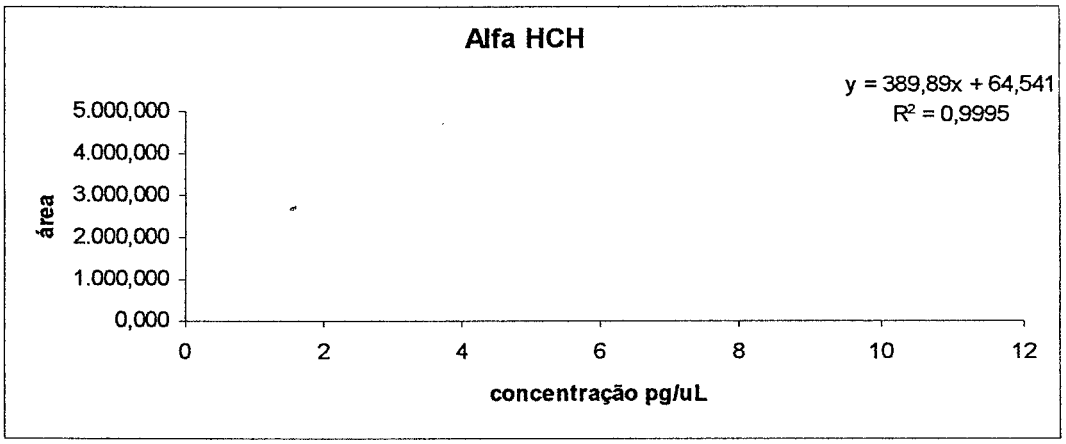


Figura 21: Curva de Calibração/ Linearidade Beta HCH.

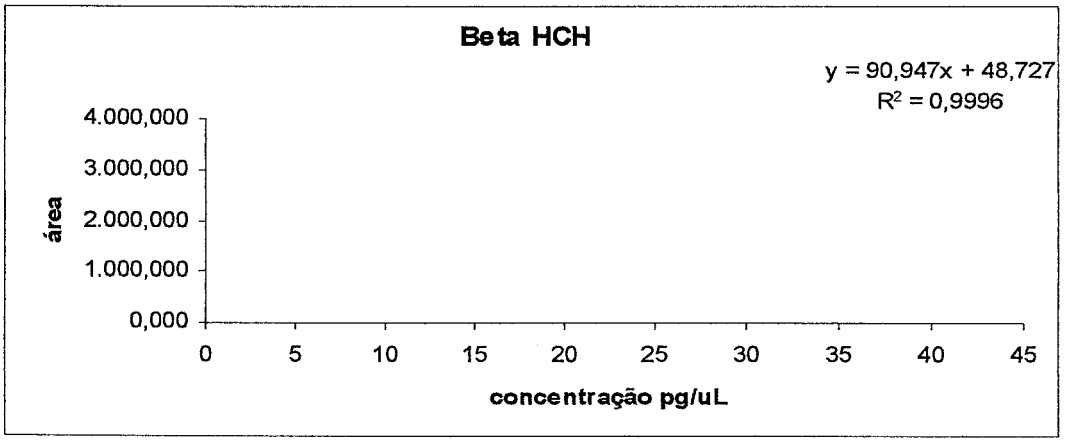


Figura 22: Curva de Calibração/ Linearidade Delta HCH.

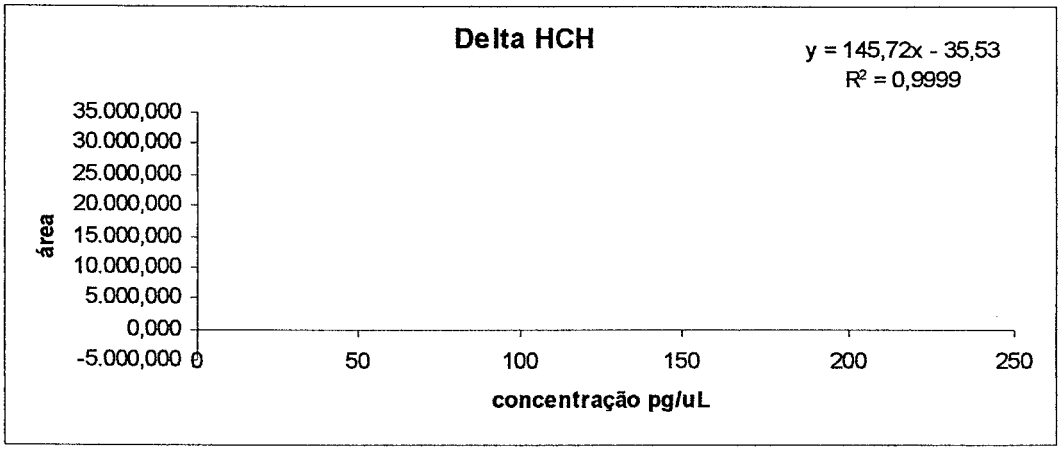
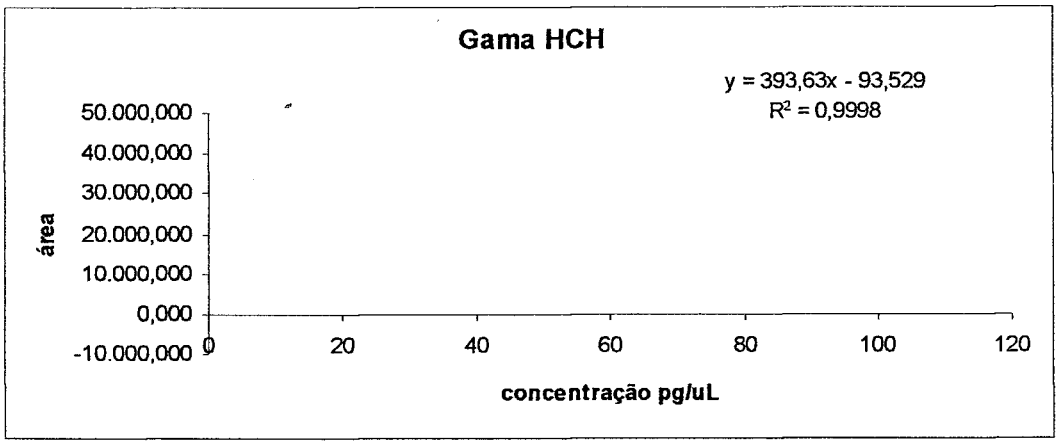


Figura 23: Curva de Calibração/ Linearidade Gama HCH – Lindana.



Seguem os cromatogramas da curva de calibração uma injeção de cada ponto.

Alfa e Beta

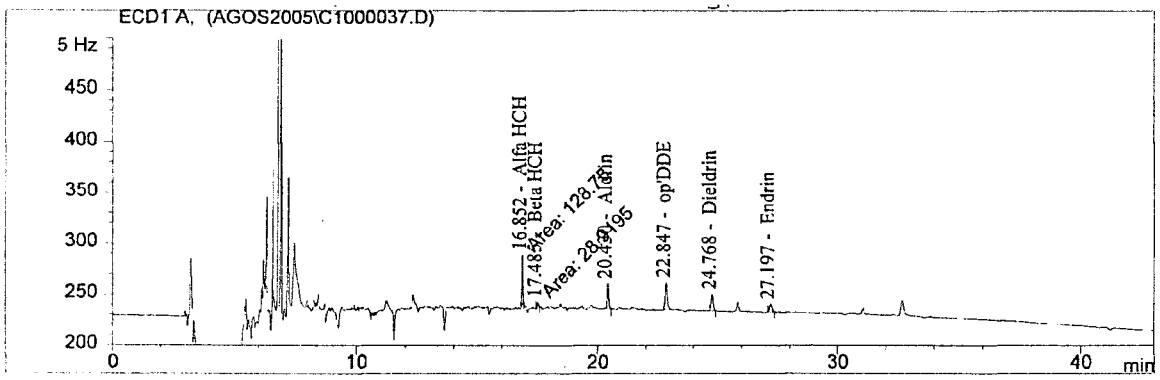


Figura 24: Cromatograma Alfa 0,1pg μL^{-1} e Beta 0,2pg μL^{-1}.

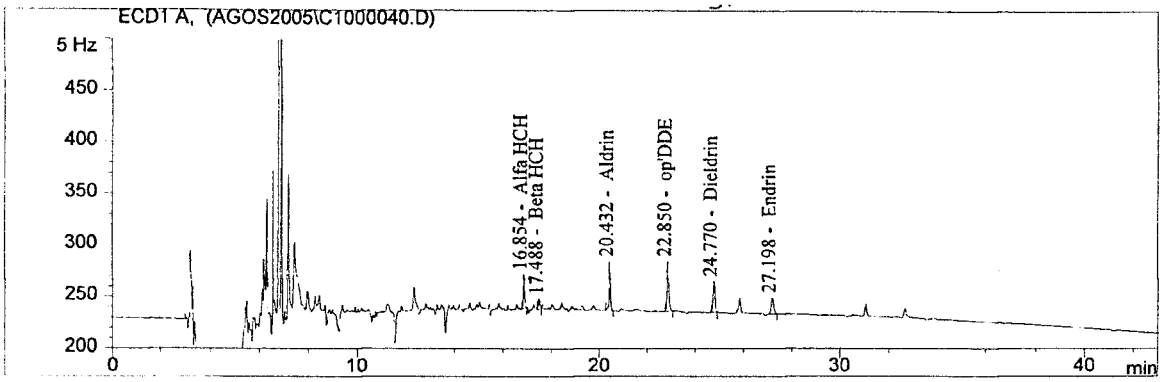


Figura 25: Cromatograma Alfa 0,2pg μL^{-1} e Beta 0,4pg μL^{-1}.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

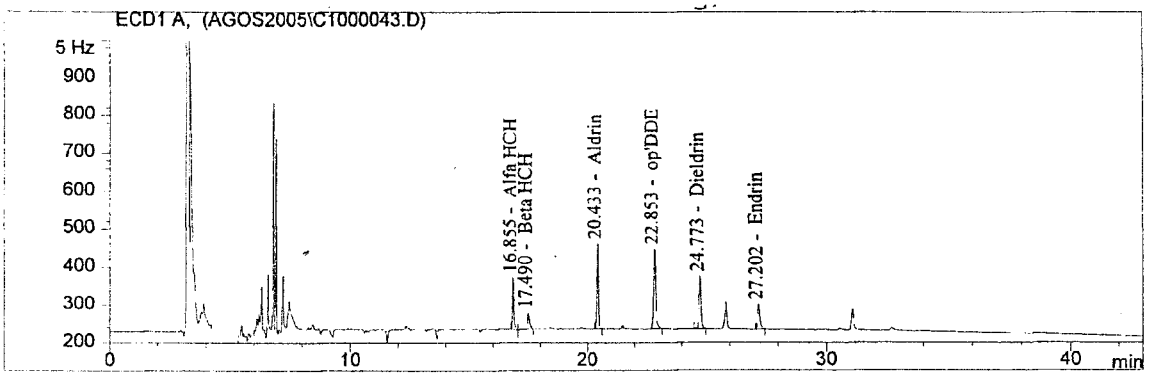


Figura 26: Cromatograma Alfa 1,0pg μL^{-1} e Beta 2,0pg μL^{-1}.

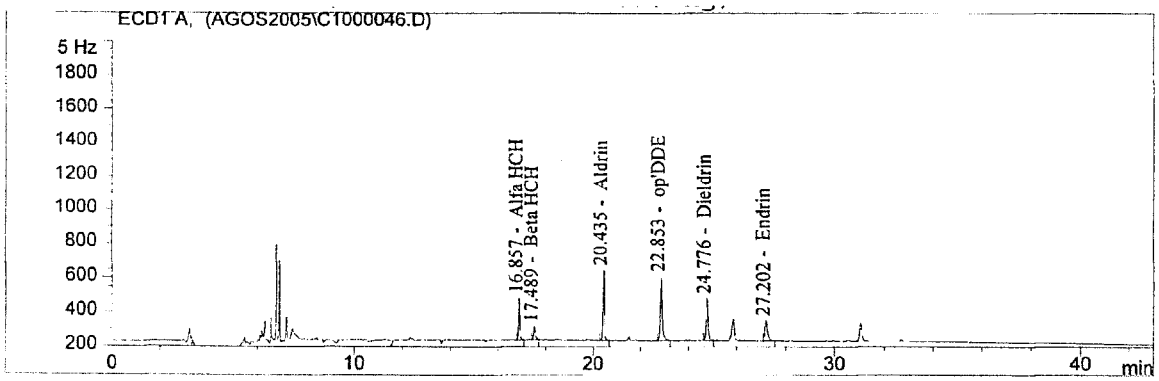


Figura 27: Cromatograma Alfa 2,0pg μL^{-1} e Beta 4,0pg μL^{-1}.

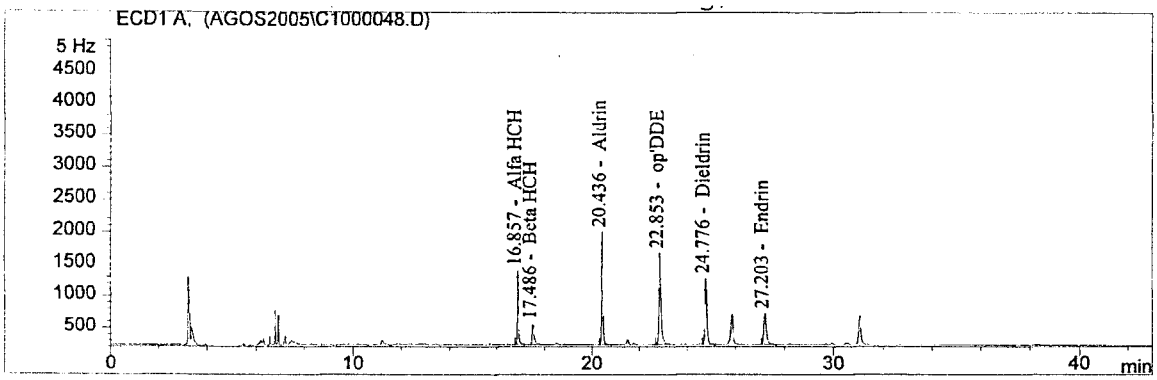


Figura 28: Cromatograma Alfa 10,0pg μL^{-1} e Beta 20,0pg μL^{-1}.

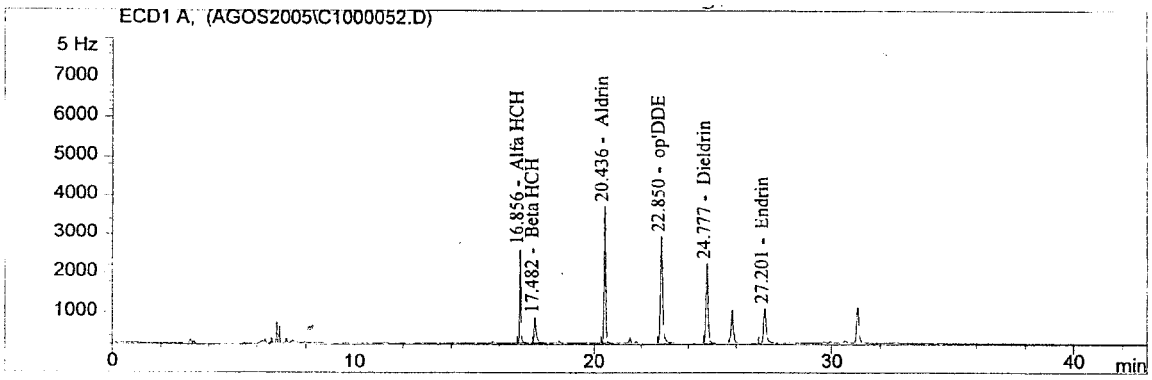


Figura 29: Cromatograma Alfa 20,0pg μL^{-1} e Beta 40,0pg μL^{-1}.

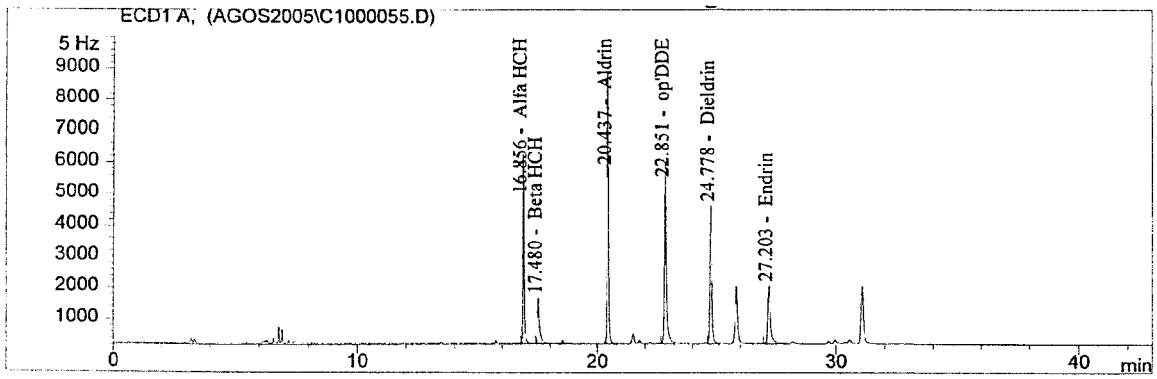


Figura 30: Cromatograma Alfa 50,0pg μL^{-1} e Beta 100,0pg μL^{-1}.

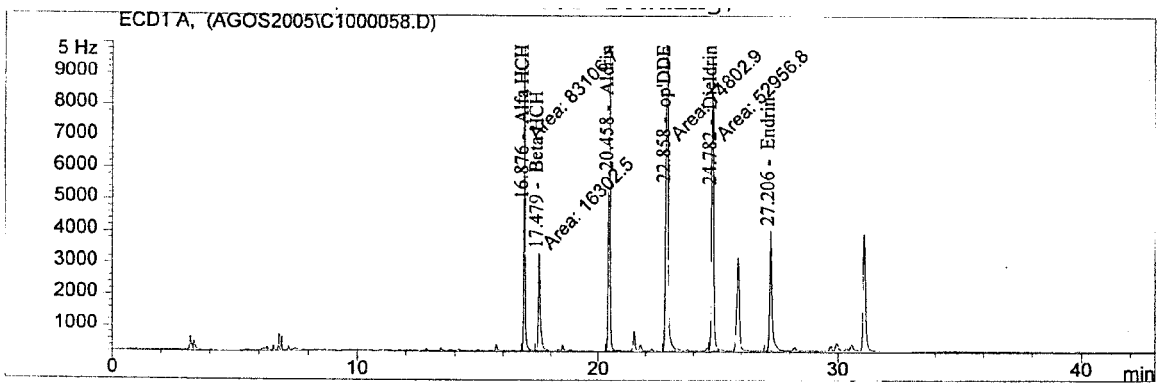


Figura 31: Cromatograma Alfa 100,0pg μL^{-1} e Beta 200,0pg μL^{-1}.

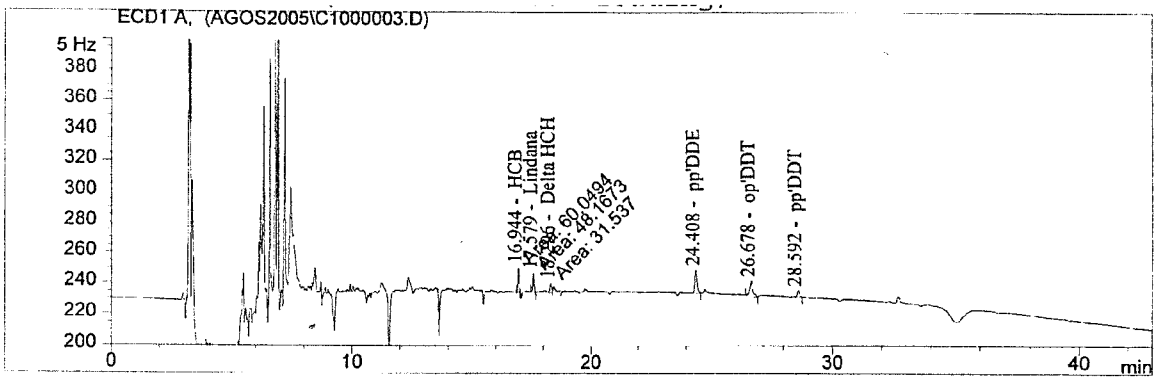


Figura 32: Cromatograma Lindana 0,1pg μL^{-1} e Delta 0,2pg μL^{-1}.

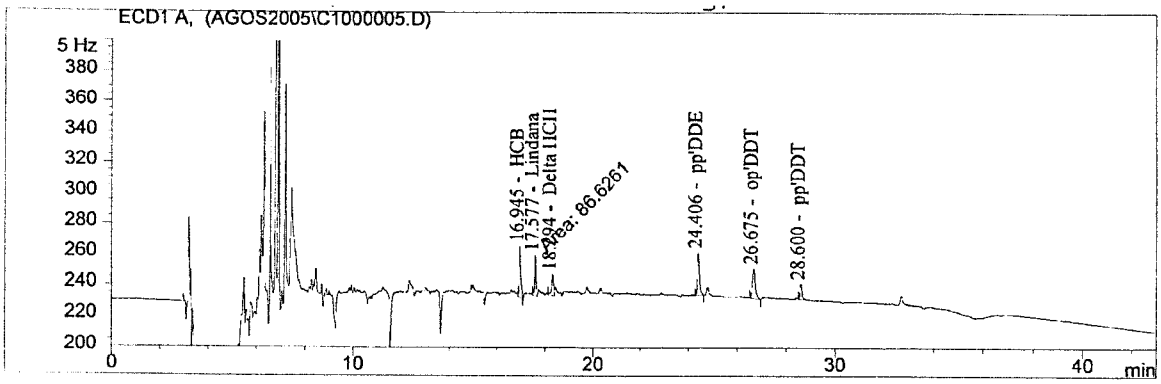


Figura 33: Cromatograma Lindana 0,2pg μL^{-1} e Delta 0,4pg μL^{-1}.

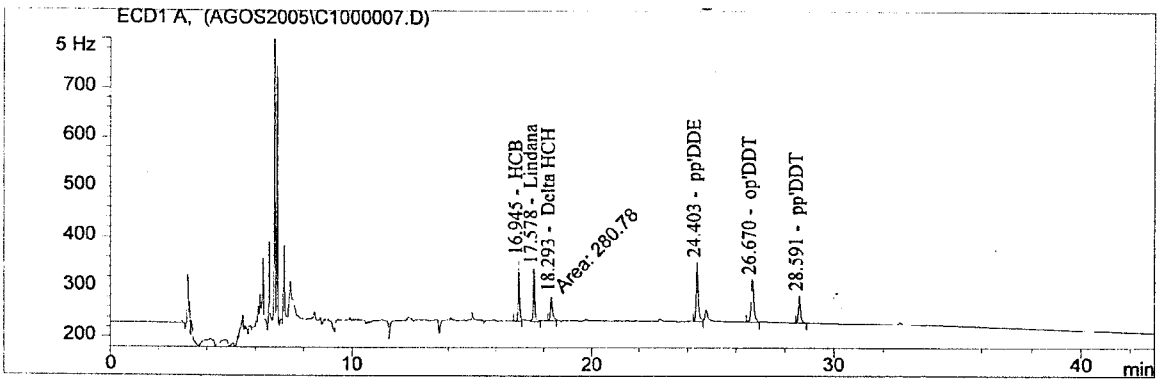


Figura 34: Cromatograma Lindana 1pg μL^{-1} e Delta 2pg μL^{-1}.

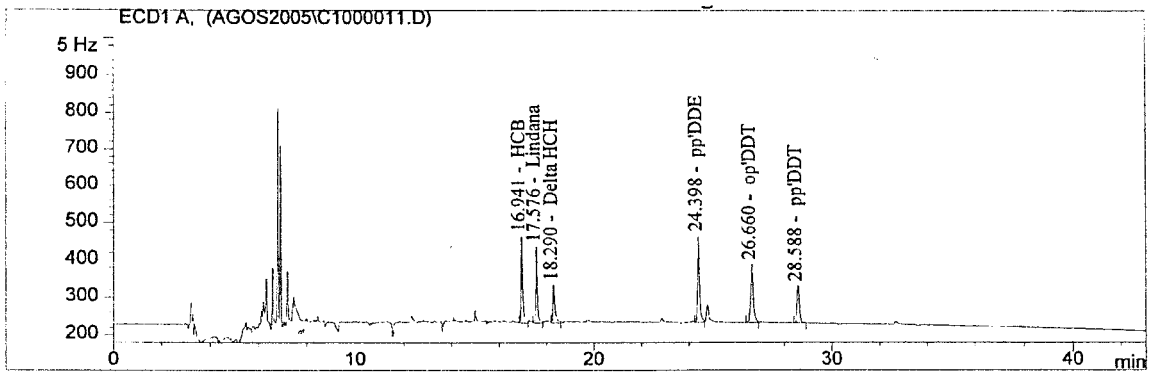


Figura 35: Cromatograma Lindana 2pg μL^{-1} e Delta 4pg μL^{-1}.

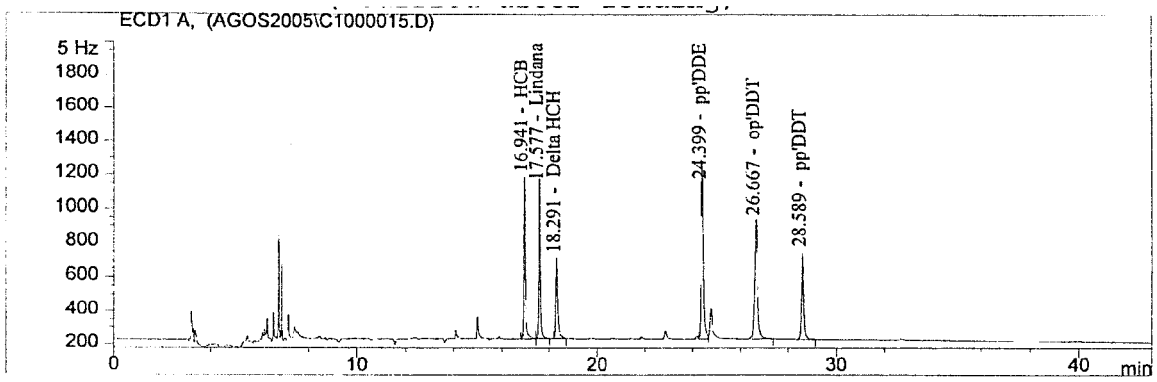


Figura 36: Cromatograma Lindana 10pg μL^{-1} e Delta 20pg μL^{-1}.

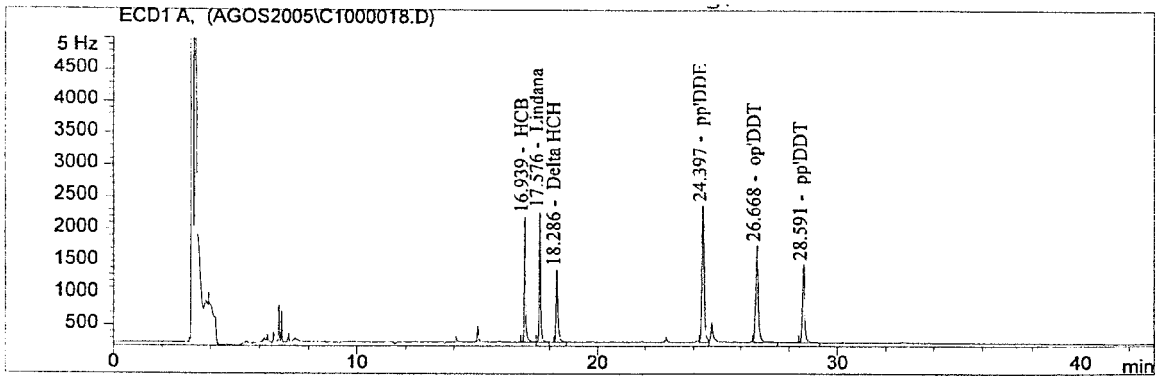


Figura 37: Cromatograma Lindana 20pg μL^{-1} e Delta 40pg μL^{-1}

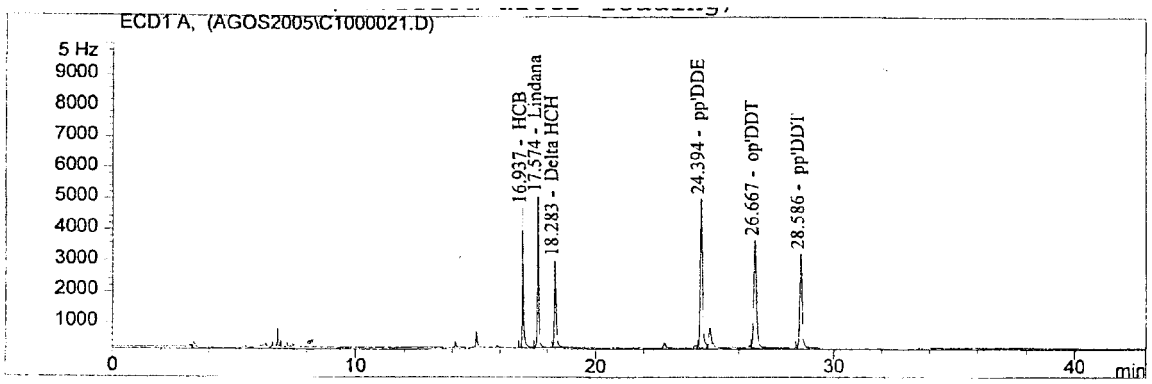


Figura 38: Cromatograma Lindana 50pg μL^{-1} e Delta 100pg μL^{-1}.

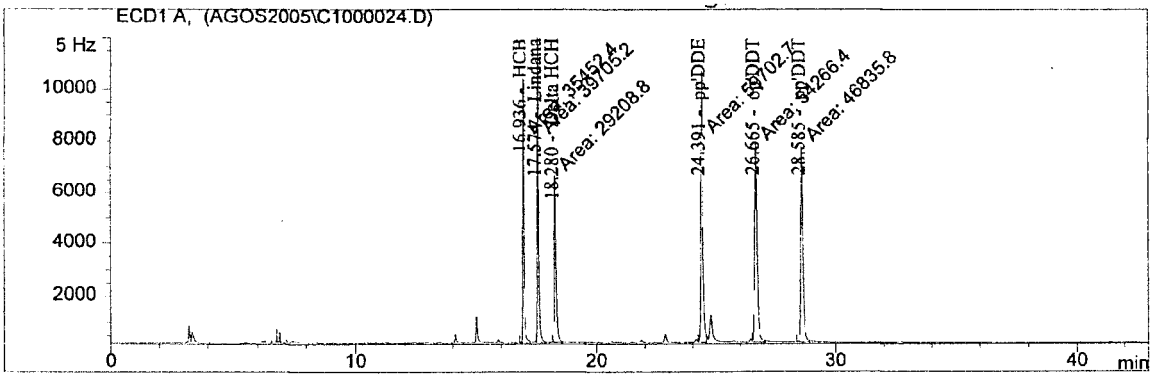


Figura 39: Cromatograma Lindana 100pg μL^{-1} e Delta 200pg μL^{-1}.

4.11.2. Especificidade/Seletividade

Não foram detectados picos interferentes nas amostras branco que pudessem ser atribuídos ao Hexaclorociclohexano acima do limite de detecção do método nas amostras de soro sangüíneo.

4.11.3. Precisão de Medição/ Exatidão/ Recuperação

Os limites inferiores e superiores das recuperações nos níveis de fortificação estudados estão apresentados nas tabelas 7, 9, 11 e 13.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

Tabela 7: Eficiência da recuperação para Alfa HCH

V.A. $\mu g\ dL^{-1}$	V.R. $\mu g\ dL^{-1}$	%	$\bar{x}$ %	D.P. %	C.V. %
0,04	0,030	76			
0,04	0,037	93			
0,04	0,029	72	78	8,7	11,2
0,04	0,029	74			
0,04	0,029	73			
0,40	0,350	88			
0,40	0,340,	85			
0,40	0,340	85	91	7,6	8,4
0,40	0,390	98			
0,40	0,403	101			

V.A. Valor adicionado LOQ proposto

V.R. Valor recuperado

% Valor em porcentagem do ativo recuperado.

$\bar{x}$ % média de recuperação

D.P. Desvio Padrão

C.V. Coeficiente de variação

Tabela 8: Resultados Globais para Alfa HCH

Média Global das Recuperações %	85%
CV Global das Recuperações %	9,8%

Limite de Detecção (LOD)

De acordo com o critério estabelecido temos:

LOD estatístico = 3X DESVPAD

LOD estatístico = 3 X 0,003$\mu g\ dL^{-1}$

$LOD_{instrumental}$ = 0,001$\mu g\ dL^{-1}$

LOD estatístico = 0,009$\mu g\ dL^{-1}$

Temos que: 0,001μg dL^{-1} < 0,009μg dL^{-1}

Critério a ser adotado: qualificar o LOD para o maior valor encontrado.

Então:LOD = 0,009 μg dL^{-1}

Limite de Quantificação (LOQ)

De acordo com o critério estabelecido temos que:

LOQ estatístico = 10X DESVPAD

LOQ estatístico = 10 X 0,003μg dL^{-1}

LOQ $_{proposto}$= 0,04μg dL^{-1}

LOQ estatístico = 0,03μg dL^{-1}

Temos que: 0,03μg dL^{-1} < 0,04 μg dL^{-1}

Critério a ser adotado: qualificar o LOQ para o maior valor encontrado.

LOQ = 0,04 μg dL^{-1}

Tabela 9: Eficiência da recuperação para Beta HCH

V.A. $\mu g\ dL^{-1}$	V.R. $\mu g\ dL^{-1}$	%	$\bar{x}$ %	D.P. %	C.V. %
0,08	0,096	119			
0,08	0,097	120			
0,08	0,096	119	119	0,4	0,34
0,08	0,096	119			
0,08	0,096	119			
0,80	0,76	95			
0,80	0,78	98			
0,80	0,77	96	99	6,4	6,5
0,80	0,88	110			
0,80	0,76	95			

V.A. Valor adicionado LOQ proposto

V.R. Valor recuperado

% Valor em porcentagem do ativo recuperado.

$\bar{x}$ % média de recuperação

D.P. Desvio Padrão

C.V. Coeficiente de variação

Tabela10: Resultados Globais para Beta HCH

Média Global das Recuperações %	109
CV Global das Recuperações %	3,4

Limite de Detecção (LOD)

De acordo com o critério estabelecido temos:

LOD estatístico = 3X DESVPAD

LOD estatístico = 3 X 0,0004$\mu g\ dL^{-1}$

$LOD_{instrumental}$ = 0,001$\mu g\ dL^{-1}$

LOD estatístico = 0,0012$\mu g\ dL^{-1}$

Temos que: 0,001μg dL^{-1} < 0,0012μg dL^{-1}

Critério a ser adotado: qualificar o LOD para o maior valor encontrado.

Então:LOD = 0,0012 μg dL^{-1}

Limite de Quantificação (LOQ)

De acordo com o critério estabelecido temos que:

LOQ estatístico = 10X DESVPAD

LOQ estatístico = 10 X 0,0004μg dL^{-1}

LOQ $_{proposto}$= 0,08μg dL^{-1}

LOQ estatístico = 0,004μg dL^{-1}

Temos que: 0,04μg dL^{-1} < 0,08 μg dL^{-1}

Critério a ser adotado: qualificar o LOQ para o maior valor encontrado.

LOQ = 0,08 μg dL^{-1}

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

Tabela 11: Eficiência da recuperação para Delta HCH

V.A. μg dL^{-1}	V.R. μg dL^{-1}	%	$\bar{x}$ %	D.P. %	C.V. %
0,08	0,081	101			
0,08	0,076	95			
0,08	0,083	104	101	6,7	6,6
0,08	0,076	95			
0,08	0,089	111			
0,80	0,637	80			
0,80	0,694	87			
0,80	0,651	81	81	3,9	4,8
0,80	0,645	81			
0,80	0,604	76			

V.A. Valor adicionado LOQ proposto

V.R. Valor recuperado

% Valor em porcentagem do ativo recuperado.

$\bar{x}$ % média de recuperação

D.P. Desvio Padrão

C.V. Coeficiente de variação

Tabela12: Resultados Globais para Delta HCH

Média Global das Recuperações %	91
CV Global das Recuperações %	5,7

Limite de Detecção (LOD)

De acordo com o critério estabelecido temos:

LOD estatístico = 3X DESVPAD

LOD estatístico = 3 X 0,005μg dL^{-1}

$LOD_{instrumental}$ = 0,01μg dL^{-1}

LOD estatístico = 0,015μg dL^{-1}

Temos que: 0,01μg dL^{-1} < 0,015μg dL^{-1}

Critério a ser adotado: qualificar o LOD para o maior valor encontrado.

Então:LOD = 0,015 μg dL^{-1}

Limite de Quantificação (LOQ)

De acordo com o critério estabelecido temos que:

LOQ estatístico = 10X DESVPAD

LOQ estatístico = 10 X 0,005μg dL^{-1}

$LOQ_{proposto}$= 0,08μg dL^{-1}

LOQ estatístico = 0,05μg dL^{-1}

Temos que: 0,05μg dL^{-1} < 0,08 μg dL^{-1}

Critério a ser adotado: qualificar o LOQ para o maior valor encontrado.

LOQ = 0,08 μg dL^{-1}

Tabela 13: Eficiência da recuperação para Gama HCH - Lindana

V.A. $\mu g\ dL^{-1}$	V.R. $\mu g\ dL^{-1}$	%	$\bar{x}$ %	D.P. %	C.V. %
0,04	0,042	105			
0,04	0,042	105			
0,04	0,039	98	106	5,7	5,4
0,04	0,044	110			
0,04	0,045	113			
0,40	0,321	80			
0,40	0,350	88			
0,40	0,387	97	86	7,8	9,1
0,40	0,348	87			
0,40	0,307	77			

V.A. Valor adicionado LOQ proposto

V.R. Valor recuperado

% Valor em porcentagem do ativo recuperado.

$\bar{x}$ % média de recuperação

D.P. Desvio Padrão

C.V. Coeficiente de variação

Tabela 14: Resultados Globais para Gama HCH - LINDANA

Média Global das Recuperações %	96
CV Global das Recuperações %	7,3

Limite de Detecção (LOD)

De acordo com o critério estabelecido temos:

LOD estatístico = 3X DESVPAD

LOD estatístico = 3 X 0,002$\mu g\ dL^{-1}$

$LOD_{instrumental}$ = 0,001$\mu g\ dL^{-1}$

LOD estatístico = 0,006$\mu g\ dL^{-1}$

Temos que: 0,001μg dL^{-1} < 0,002μg dL^{-1}

Critério a ser adotado: qualificar o LOD para o maior valor encontrado.

Então:LOD = 0,002 μg dL^{-1}

Limite de Quantificação (LOQ)

De acordo com o critério estabelecido temos que:

LOQ estatístico = 10X DESVPAD

LOQ estatístico = 10 X 0,002μg dL^{-1}

LOQ $_{proposto}$= 0,04μg dL^{-1}

LOQ estatístico = 0,02μg dL^{-1}

Temos que: 0,02μg dL^{-1} < 0,04 μg dL^{-1}

Critério a ser adotado: qualificar o LOQ para o maior valor encontrado.

LOQ = 0,04 μg dL^{-1}

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

5.2 Resultados Grupo 1 e Grupo 2.

A população de estudo foi composta por 56 pessoas que trabalharam ou trabalham no Arquivo Histórico de Joinville, estando expostas ao HCH no seu ambiente de trabalho.

Tabela 15: Grupo 1 – "Grupo Exposto"

Faixa Etária	Quantidade de pessoas	Sexo		Valor encontrada $\mu g\ dL^{-1}$			
		M.	F.	α	ß	σ	γ
19-29anos	25	11	14	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
30-40anos	17	01	16	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
41-50anos	06	03	03	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
51-60anos	06	03	03	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
>60anos	02	02	00	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
Total	56	20	36	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04

M Masculino

F Feminino

O grupo não exposto foi formado por uma amostra probabilística dos funcionários públicos municipais, emparelhados por faixa etária e sexo. A relação entre não expostos e expostos foi de 2:1.

Tabela 16: Grupo 2 - "Grupo não exposto"

Faixa Etária	Quantidade de pessoas	Sexo		Valor encontrada $\mu g\ dL^{-1}$			
		M.	F.	α	ß	σ	γ
19-29anos	50	26	24	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
30-40anos	34	03	31	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
41-50anos	12	06	06	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
51-60anos	12	06	06	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
>60anos	04	04	00	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04
Total	112	45	67	<0,04	<0,08	<0,08	<0,04

M Masculino

F Feminino

5.3 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O HCH – alfa, beta e gama são isômeros mais importantes em termo de impacto ambiental e saúde humana. A estabilidade e lipofília relativamente alta do HCH e o seu padrão de uso global resultaram em contaminação ambiental significativa por esse hidrocarboneto clorado.

Uma vez introduzido no ambiente, o HCH pode persistir por muitos anos. O isômero beta é mais persistente do que os outros. O gama-HCH é a forma mais conhecida mundialmente por ser mais tóxico.

O HCH é bem absorvido pelo trato gastrointestinal, pulmões e pele. É transportado quase que totalmente ligado a proteínas plasmáticas e todos os isômeros são preferencialmente estocados no tecido adiposo, mas também em outros órgãos como fígado e glândulas adrenais. O seu metabolismo é hepático e sua excreção se dá pela urina, fezes e leite.

Os diferentes isômeros de HCH acarretam ações farmacológicas opostas. O isômero gama é estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC), causando violentas convulsões epileptiformes, enquanto os isômeros - alfa, beta e delta são principalmente depressores do SNC, podendo levar a flacidez muscular, prostração e dificuldade de marcha.

A toxicidade aguda dos isômeros do HCH se dá pela ordem decrescente: gama > alfa > delta > beta e na toxicidade crônica, obedece a ordem: beta > alfa > gama > delta.

Foram analisados os quatro isômeros do HCH e nenhum deles foi detectado, no soro sangüíneo. O isômero Beta é o mais persistente no organismo, mas não foram encontrados resultados positivos de sua presença no limite de quantificação de 0,04μg dL^{-1} para Alfa HCH e Lindano e 0,08μg dL^{-1} para Beta e Delta HCH.

A análise tanto da literatura científica nacional e internacional, atualizadas até o início de 2001, permite formular as seguintes conclusões e recomendações (dirigidas ao Ministério da Saúde):

1 - As substâncias químicas organocloradas e especificamente o hexaclorociclohexano (HCH), em seus isômeros alfa-, beta-, gama- (lindana) e no seu "grau técnico", ocupam lugar de destaque nas preocupações do mundo inteiro

(como no Brasil), quer pela sua persistência no meio ambiente, quer pela sua biopersistência nos seres vivos, e principalmente, por seu potencial impacto para a saúde das populações.

2 - Com efeito, tem sido demonstrada a presença de resíduos organoclorados, incluindo especificamente o HCH, em meios biológicos (sangue, gordura do leite materno, tecido adiposo, etc.) em praticamente 100% das pessoas, em qualquer parte da Terra.

3 - De um modo geral, observa-se, principalmente em alguns países europeus e norteamericanos, uma tendência de progressiva redução dos níveis de organoclorados – incluindo especificamente o HCH – no organismo humano, medida pela concentração destes resíduos nos meios biológicos (sangue, gordura do leite materno, tecido adiposo e outros).

4 - Essa tendência, de progressivo declínio da concentração de resíduos organoclorados no organismo humano, esta associada às proibições de fabricação e uso agrícola dos praguicidas organoclorados, iniciada nos anos 70, e progressivamente estendida ao mundo.

5 - No Brasil, os trabalhos científicos disponíveis – ainda que numerosos e de boa qualidade, não são suficientes para delinear de modo adequado uma tendência temporal de médio e longo prazo, dada a falta de sistematização de estudos populacionais amostralmente representativos e historicamente analisados. Os estudos disponíveis geralmente são geograficamente localizados, e abordam, em sua maioria, grupos populacionais específicos, com ênfase em exposições ocupacionais e exposições no entorno de áreas poluídas, ou em condições não-estrapoláveis.

6 - Por outro lado, no caso do Brasil, embora a proibição do uso agrícola dos praguicidas clorados já vigore há mais de 15 anos, o quadro tem características mais complexas, tendo em vista o uso extensivo que se fez de praguicidas clorados, para o combate de vetores de doenças infecciosas, em especial a malária e a doença de Chagas.

7 - Sobre os efeitos da exposição ambiental a substâncias químicas organocloradas – nominalmente o HCH – sobre a saúde humana, a literatura científica compulsada mostrou que eles devem ser analisados e interpretados segundo a natureza da

exposição (ocupacional, terapêutica, ambiental), a via de penetração no organismo (respiratória, digestiva, dérmica), o tempo de exposição, a dose absorvida, e outras variáveis, tendo sido identificada a ocorrência de confusões conceituais e de freqüentes erros de interpretação.

8 - Do mesmo modo, observou-se uma grande variabilidade de achados em estudos experimentais realizados em animais, de distintas espécies, idades e condições, e grande diferença entre esses achados e o que ocorre no organismo humano, em condições reais.

9 - Corrigidas estas distorções, permanecem no centro das preocupações de saúde humana, os efeitos de médio e longo prazo, em especial os eventuais efeitos sobre o desenvolvimento fetal, os efeitos hormonais (organoclorados como desautores hormonais), e as neoplasias malignas.

10 - No caso das neoplasias malignas, até o momento os achados positivos resumem-se a espécies animais alimentadas com grandes quantidades de HCH, não existindo evidências idôneas, de natureza epidemiológica, que confirmem a carcinogencidade no ser humano. Contudo, por analogia com o que ocorre com outras substâncias químicas tóxicas, a sinalização experimental não pode ser abandonada, principalmente à luz do Princípio da Precaução e no contexto da Vigilância de Saúde.

11 - Estas observações aplicam-se especialmente para o câncer de mama e, secundariamente, para o câncer de fígado, entre outras localizações e tipo de tumores malignos.

12 - Recomenda-se ao Ministério da Saúde uma discussão mais profundada, no curto e médio prazos, sobre questões como:

- Fortalecimento e desenvolvimento de Centros de Registro de Câncer, integrados aos Sistemas de Vigilância, de Morbidade e de Mortalidade, com destaque para a introdução de informações de interesse ocupacional e ambiental.
- Desenvolvimento ou fomento de estudos na direção da constituição de bancos de dados sobre resíduos organoclorados em tecido adiposo, obtido por biopsia intracirúrgica e em autópsias.
- Desenvolvimento ou fomento de estudos na direção da constituição de bancos de dados sobre resíduos organoclorados em gordura de leite materno.

Ainda que tenham um espectro nacional abrangente, as recomendações constantes no item anterior deveriam ser prioritariamente implementadas no Estado do Rio de Janeiro, iniciando-se pela região Metropolitana do Rio de Janeiro ("Grande Rio"), tendo em vista o interesse do Ministério da Saúde em ampliar o conhecimento do problema dos organoclorados em Duque de Caxias, em função do "caso Cidade dos Meninos", Rio de Janeiro, onde uma antiga fábrica desses compostos foi abandonada há quarenta anos, ameaçando seus 1.700 habitantes. Para remediar a área pesadamente contaminada (área foco), um tratamento com óxido de cálcio foi realizado. Análises de solo coletadas superficialmente na área tratada, anos após o tratamento, mostraram ainda altas concentrações residuais de HCHs. Níveis de concentração tão alto quanto 6.200mg/Kg e 7.320mg/Kg foram encontrados para os isômeros α- e β-HCH. Para os isômeros γ- e δ-HCH, as concentrações observadas foram superiores a 140mg/Kg e 530mg/Kg, respectivamente. Estes resultados mostraram que o tratamento com óxido de cálcio não foi eficiente para a descontaminação do solo desta área.

6. CONCLUSÕES

As principais conclusões deste trabalho foram:

1) Os resultados encontrados na validação do método indicam exatidões suficientes para a finalidade do estudo. O método é considerado adequado para as análises em soro sangüíneo e está dentro dos critérios de conformidade definidos através dos procedimentos operacionais do laboratório e das normas legais em vigor no país. No total foram analisadas 168 (cento e sessenta e oito) amostras de soro sangüíneo, sendo 56 de funcionários e ex-funcionários do Arquivo Histórico de Joinville Santa Catarina e 112 da população controle.

2) Todas as amostras de soro sangüíneo obtiveram resultados abaixo do limite de quantificação de 0,04μg dL^{-1} para Alfa HCH e Lindano e 0,08μg dL^{-1} para Beta e Delta HCH.

3) Embora o trabalho tenha sido feito em dois grupos de fortificações, onde o primeiro consta de Alfa e Beta HCH e o segundo Delta HCH e Lindano, é possível estabelecer o método multiresiduos para os quatros isômeros.

4) O HCH é bastante estável, não acarretando problemas de degradação no manuseio dos padrões, e amostras fortificadas até o momento da injeção.

5) Como visto nos cromatogramas houve a inclusão de 16 organoclorados na validação, porém os mesmos não foram identificados em nenhuma das amostras analisadas. A rampa cromatográfica foi estabelecida com aproximadamente 40 minutos, sendo possível a identificação de 16 organoclorados persistente são eles: HCB Hexaclorobenzeno, HCH Hexaclorociclohexano - ALFA - BETA - DELTA e LINDANA, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Hepatclor, Heptaclor Epóxido, Mirex, DDT (op´ e pp´), DDE (op´ e pp´) e DDD (op´e pp´). Houve a separação em dois grupos pelo motivo do tempo de retenção estar bem próximo como foi o caso do Alfa e Beta, Delta e Lindana para facilitar a visualização, porém a identificação pode ser feita por uma única corrida e quando houver a necessidade a confirmação em Cromatografia a Gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS).

6) Os dados apresentados na validação estão de acordo com os critérios de ensaio estabelecidos para pesticidas no Brasil.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

7) O resultado negativo dos ativos estudados não indicam que não houve a contaminação, mas que a quantidade de Hexaclorociclohexano no soro sangüíneo dos funcionários e ex – funcionários do Arquivo Histórico de Joinville atualmente, é menor que o limite de quantificação de 0,04μg dL^{-1} para Alfa HCH e Gama HCH "Lindana" e 0,08μg dL^{-1} para Beta e Delta HCH. O caso de possível contaminação ocorreu há 20 anos, e embora estudos de estabilidade da molécula mostrem que, no organismo humano e meio ambiente pode haver persistência por mais de 20 anos, esta estabilidade depende de diversos fatores como alimentação, obesidade, atividades esportivas entre outros.

Desta forma, são necessários estudos mais detalhados avaliando a presença dos isômeros do HCH nas células adiposas da população exposta, uma vez que o HCH é lipofílico e poderia estar bioacumulado nestes tecidos.

PERSPECTIVAS

O caso de possível contaminação ocorreu há 20 anos, e embora estudos de estabilidade da molécula mostrem que, no organismo humano e meio ambiente pode haver persistência por mais de 20 anos, esta estabilidade depende de diversos fatores como alimentação, obesidade, atividades esportivas entre outros.

Desta forma, são necessários estudos mais detalhados para avaliar a presença dos isômeros do HCH nas células adiposas da população exposta, uma vez que o HCH é lipofílico e poderia estar bioacumulado nestes tecidos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY – ATSDR. ***Toxicological profile for hexachlorobenzene***. Atlanta, publication TP 90 – 17.(1990)

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. ***Hexachlorocyclo-hexane***. ATSDR Public Health Statement, December 1989. Disponível em http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/phs8914.html.

AHLB ORG;V:G:, LIPWORTH: L, TITUS-ERNSTOFF; L:; HSIEH; C:C:; HAMBERG; A:,BARON; J:, TRICHOPOULOS; D:, ADAMI; H:O. ***Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer and endometriosis: an assessment of the biological and epidemiological evidence***. Crit. Rev. Toxicol. 25(6):463-531.(1995)

ALMEIDA; W:F. E COL. ***DDT residues in human blood serum in Brasil. Environ. Qual. Saf.*** 3 (suppl): 586-588.(1975).

ALMEIDA, W. F. ***Níveis sangüíneos de DDT em indivíduos profissionalmente expostos e em pessoas sem exposição direta a este inseticida no Brasil.*** São Paulo, 1972. Tese (Doutorado) – Faculdade de Saúde Pública, USP, São Paulo.

ALMEIDA, W. F.; MELLO, D.; PUGA, F. R. et al. ***Intoxicações profissionais por pesticidas.*** In: MENDES, R. (Ed.) Medicina do Trabalho: Doenças Profissionais. São Paulo: Sarvier, p. 511-69 (1980).

ANDREWS; J.E. & COURTNEY, K.D. ***Hexachlorobenzene-induced renal maldevelopment in CD-1 mice and CD rats. In: Hexachlorobenzene: proceedings of an International Symposium. Lyon, Morris, C.R.P.*** ed., IARC Scientific Publication n. 77, p.381-391.(1986)

ANGERER, J:, HEINZOW, B.; REIMANN; D.O.; KNORZ.; LEHNERT; G. ***Internal exposure to organic substences in a municipal waste incinerator. Int. Arch. Occup. Environ. Health***, 64:265-273. (1992).

ARAUJO, A.C.P.; TELLES, D.L.; GORNI, R.; LIMA, L.L.A. ***Organochlorine pesticides contamination the Ipojuca basin, Brasil. In: Workhop on Pesticides***: Uses and Environmental Safety in Latin America. Sao Paulo. Book of abstracts. P.27. (1996).

AUGUSTO, L. G. S. ***Exposição ocupacional a organoclorados em indústria química de Cubatão.*** Campinas, 1995. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, Campinas, SP.

AUGUSTO, L. G. S.; FREITAS, C. M. ***O princípio da precaução no uso de indicadores de riscos químicos ambientais em saúde do trabalhador.*** Ciências

de Saúde Coletiva, v. 3, n. 2, p. 85-95, (1998).

AXELSON, O. ***Areview of Porphyria and câncer and missing link with human exposure to hexachlorobenzene. In: hexachlorobenzene: proceeding of an International Symposium. Lyon. Morris, C.R. & Cabral, J.R.P.*** ed., IARC Scientific Publication n.77, p. 585-589.(1986).

BARRETO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K.; LEMES, V.R.R. ***Níveis de pesticidas organoclorados em.gordura de frango, 1988 – 1991***. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 52 (1/2):97-100. (1992).

BARRETO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K.; et.al. ***Concentração sangüíneo de metais pesados e praguicidas organoclorados em crianças de 1 a 10 anos***. Rev. Saúde Pública, 27 (1):59-67. (1993).

BARRETO, H.H.C., et al. ***Estudo comparativo de métodos para determinação de resíduos de pesticidas organoclorados***. Rev. Inst. Adolfo Lutz, v. 51n1-2, p 69-74. (1991).

BARRETO, H.H.C., ALLELUIA; I.B. et al. ***Level of organochlorine pesticides in the blood serum of agricultural workers from Rio de Janeiro state Brazil***. Reports in public health. Environmental and occupational cancer in latin America. V 14, p33. (1998).

BARRETTO, H. H. C.; INOMATA, O. N. K.; LEMES, V. R. R. ***Níveis de pesticidas organo-clorados em gordura de frango***, 1988-1991. Revista do Instituto Adolfo Lutz; v. 52, n. 1/2, p. 97-100. (1992).

BASTOS, L. H. P. ***Investigação da contaminação do solo por organoclorados, na Cidade dos Meninos, em Duque de Caxias, Rio de Janeiro: avaliação dentro de um novo cenário, após adição de cal.*** Rio de Janeiro, 1999. Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

BAROTTO, A.M. ***Exposição ocupacional a inseticidas organoclorados***. Dissertação – Universidade Federal de Santa Catarina. (2003).

BRAHAMS, D. ***Lindane exposure and aplastic anaemia*** [news]. Lancet, v. 343, n. 8905, p. 1092, 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto 329, de 2 de setembro de 1985. Diário Oficial da União, 3 de setembro de 1985, Seção I, p. 12941.

CARVALHO, J. P. P.; NISHIKAWA, A. M.; ARANHA, S. et al. ***Resíduos de praguicidas organoclorados em gordura bovina***. Biológico,v. 50, n. 2, p. 39-48, (1984).

CARVALHO, W.A., LIMA, J.M, REBERT, P.R.; ROCHA, N.V.P. ***Alterações bioquímicas e hematológicas em indivíduos ocupacionalmente expostos ao***

HCH e ao DDT. Rev. Soc Brás Toxicol. 1 (1): 60-64. (1988).

CARVALHO, W.A. ***Exposição ambiental a inseticidas organoclorados na população do sul da Bahia – Brasil***. Rev Soc Bras Toxicol. 1 (1,2): 64-66. (1998)

CARVALHO, W. A. ***Estudo da exposição ocupacional e ambiental ao HCH (hexacloro-ciclohexano) e ao DDT (2,2-bis-(p-clorofenil) - 1,1,1-tricloroetano) na região Sul do Estado da Bahia.*** 1987. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química da UFBa, Salvador.

CARVALHO, W. A.; BERBERT, P. R.; ROCHA, N. V. P. ***Alterações bioquímicas e hematológicas em indivíduos ocupacionalmente expostos ao hexaclorociclohexano e ao DDT.*** Revista da Sociedade Brasileira de Toxicologia, v. 1, n.1/2, p. 60-4, (1988).

CIOLA, Remolo. ***Fundamentos da Cromatografia a Gás***. São Paulo SP (1985).

DALE, W.E. & MILLES, J.W. ***Quantitative method for determination of DDT and DDT metabolites in blood serum***. J. Assoc. off. Anal. Chem., 53:1287-1292. (1979).

DELGADO, I.F., Barreto H.H.C, et al. ***Serum levels of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls among in habitants of Greater Metropolitan Rio de Janeiro, Brazil***. Cad Saúde Pública; 18 (2): 519-524. (2002).

DDT and its Derivatives. Environmental Health Criteria 9. World Health Organization Geneva. (1979).

DEMERS, A.; AYOTTE, P.; BRISSON, J. et al. ***Risk and aggressiveness of breast cancer in relation to plasma organochlorine concentrations.*** Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention, v. 9, n. 2, p. 161-6, (2000).

DICH, J.; ZAHM, S. H.; HANBERG, A. et al. ***Pesticides and cancer. Cancer Causes Control***, v. 8, n. 3, p. 420-43, (1997).

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – 1, 2, 3, 4, 5, 6-hexachlorocyclohexane (all stereo isomers) (Lindane). Unified Air Toxics Website (UATW). 2001. Disponível em: http://www.epa.gov/ttn/uatw/htlhef/lindane.html.

FAO Food and Agriculture Organization. Agricultural database, 2003. Disponível em: http://www.fao.org

FERNICOLA, N. A.; AZEVEDO. F. A. ***Serum levels of organochlorine insecticides in humans in São Paulo, Brasil.*** Veterinary and Human Toxicology, v. 24, p. 91-3, (1982).

FILHO, E.S. ***Determinação do grau de exposição interna aos praguicidas organoclorados, em população residente sobre aterro a céu aberto na***

localidade de Pilões, Cubatão – SP/Brasil. Tese apresentada à faculdade de Saúde Pública da universidade de São Paulo para obtenção do Grau de Doutorado. (1998).

FRANKLIN, H. M. O. H.; PEIXOTO, T. M. A .G. ***Níveis sangüíneos de HCH e DDT em guardas da SUCAM***. Revista da Sociedade Brasileira de Toxicologia, v. 1, n.1/2, p. 6-8, (1988).

FUNDACENTRO Prevenção de acidentes no trabalho com agrotóxicos; segurança e saúde no trabalho, n.3. São Paulo: Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho, Ministério do Trabalho, (1998).

FURST, FURST & WILMERS, 1994. ***Human milk as a bioindicator for body burden of PCDDs, PCDFs, organochlorine pesticides, and PCBs***. Environmental Health Perspectives, Suplemento 1 v. 102, p. 187-93. (1994).

GALLELLI, G.; MANGINI, S.; GERBINO, C. ***Organochlorine residues in human adipose and hepatic tissues from autopsy sources in northern Italy.*** Journal of Toxicology and Environmental Health, v. 46, n. 3, p. 293-300, 1995.

GONÇALVES, F. M. ***Estudo clínico-epidemiológico em trabalhadores de campanha de saúde pública expostos cronicamente a inseticidas - SUCEN.*** São José do Rio Preto, SP. Ribeirão Preto, 1991. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.

GUTTES, S.; FAILING, K.; NEUMANN, K. et al. ***Chlororganic pesticides and polychlorinated biphenyls in breast tissue of women with benign and malignant breast disease.*** Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 35, n. 1, p. 140-7, 1998.

HOYER, A. P.; GRANDJEAN, P.; JORGENSEN, T. et al. ***Organochlorine exposure and risk of breast cancer.*** Lancet, v. 352, n. 9143, p. 1816-20, 1998.

INTERNATIONAL OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH INFORMATION CENTRE – Lindane. October 1994. Disponível em: http://www.ilo.org/public/english/...s/icsc/dtasht/_icsc0053.htm.

IARC International Agency for Reseaech um Cancer. Overall evaluation of. Carcinogenicity: an updating of. IARC monographs. IARC Monographs, Suplemento 7, p. 440, Lyon, (1987).

IARC International Agency for Reseaech um Cancer. **DDT and associated compound (Review). Occuparional exposures in inseticida application and some pesticidas.** IARC Monographs, v.53, p. 179-249, Lyon, (1991).

INFORMATIVO CRQ III. **O dilema do uso de defensivos agrícolas.** Rio de Janeiro: Conselho Regional de Química, III Região, (1997).

JOSHI, P. L. et al. ***A community-based study on the effect of hexachlorocyclo-hexane (HCH) exposure in spraymen and general population.*** Journal of Community Diseases, v. 28, n. 3, p. 189-98, (1996).

JUNG, D. et al. ***Elimination of beta-hexachlorocyclohexane in occupationally exposed persons.*** Journal of Toxicology and Environmental Health, v. 51, n. 1, p. 23-34, (1997).

KARMAUS, W.; WÓLF, N. ***Reduced birthweight and length in the offspring of females exposed to PCDFs, PCP, and lindane.*** Environmental Health Perspective, v. 103, n. 12, p. 1120-5, (1995).

LANÇAS, F.M. ***Cromatografia em fase gasosa***, Universidade de São Paulo Instituto de Física e Química de São Carlos, Acta, (1993).

LANE, J.E., Lassiter C.C., Gresen, K.W., Glasgow, W.C. ***Suspected chronic organochlorine pesticide poisoning Arch Environ Health***. 57(2): 174-175. (2002)

LARA, W.H.; BARRETTO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K.. ***Níveis de pesticidas organoclorados em soro sanguineo de pessoas expostas á doenças de chagas no Brasil***. Revista Instituto Adolfo Lutz 47 (1/2): 19-24. (1987).

LARA, W.H.; BARRETTO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K.. ***Resíduos de pesticidas organoclorados em leite humano, São Paulo, Brasil, 1979-1981***. Revista Instituto Adolfo Lutz, 42 (1/2): 45-52. (1982).

LARA, W.H.; BARRETTO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K.. ***Níveis de Dieldrin em sangue de aplicadores de Aldrin na região de São José do Rio Preto, São Paulo***. Revista Instituto Adolfo Lutz 41(1): 9-14. (1981).

MANUAL OF ANALYTICAL METHOD FOR THE ANALYSIS OF PESTICIDE RESIDUES IN HUMAN AND ENVIRONMENTAL SAMPLE – USEPA, **Environmental Toxicology Division Research**, Triangle Park N.C. 27711.

MENDONCAS; G.A.S. ***Pesticidas e Câncer de Mama – um estudos caso-controle no Rio de Janeiro***. Tese – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de doutor em medicina. (1997).

NUNES, F.P. ***Avaliação clínico-ocupacional de trabalhadores expostos ao DDT em programas de saúde pública***. Monografia – Faculdade de Ciência da Saúde de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Medicina do Trabalho. (2002).

OLIVEIRA, J. M. B.; SOARES, I. A. A.; SILVA, Z. L. ***Determinação dos níveis séricos de inseticidas organoclorados em indivíduos não expostos da Faculdade de Farmácia da UFMG.*** *Revista de Farmácia e Bioquímica*, v. 8, n. 1/2, p. 79-86. (1987).

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

OLIVEIRA, M. A. G.; DORES, E. F. G. C. ***Níveis de praguicidas organoclorados no leite materno de uma população de Cuiabá*** – Mato Grosso. *Pesticidas*, v. 8, p. 77-90. (1998).

OLIVEIRA, R. M. ***Estudo da contaminação do solo e pasto por hexaclorociclohexano (HCH) na Cidade dos Meninos em Duque de Caxias, RJ.*** Rio de Janeiro, 1994. Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

OLIVEIRA, R. M.; BRILHANTE, O. M.; MOREIRA, J. C. et al. ***Contaminação por hexaclorociclohexanos em área urbana da região Sudeste do Brasil.*** *Revista de Saúde Pública*, v. 29, n. 3, p. 228-33. (1995).

OPAS ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE: **Manual de vigilância da saúde de população expostas a agrotóxicos.** Representação do Brasil, p. 69, Brasília, (2000).

PAUMGARTTEN, F.J.R.; et al. ***Level of organochlorine pesticides in the blood serum of agricultural workers from Rio de Janeiro States, Brazil.*** Resorts in Public Health. 14 (sup.3): p. 33-39. (1998).

PAUMGARTTEN, F. J.; CRUZ, C. M.; CHAHOUD, I. et al. ***PCDDs, PCDFs, PCBs, and other organochlorine compounds in human milk from Rio de Janeiro, Brazil.*** *Environmental Research*, v. 83, n. 3, p. 293-7, 2000.

PERES, F. (org). ***É veneno ou remédio.*** Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro; Editora Fiocruz, (2003).

RADOMSKI, J. L. et al. ***Pesticide concentrations in the liver, brain and adipose tissue of terminal hospital patients.*** Food and Cosmetics Toxicology, v. 6, p. 209-20. (1968).

RATHORE, M. et al. ***Burden of organochlorine pesticides in blood and its effect on thyrid hormones in women.*** The science of the total Environment 295 p. 207-215. (2002).

SANTOS FILHO, E. et al. ***Concentrações sangüíneas de metais pesados e praguicidas organoclorados em crianças de 1 a 10 anos.*** Revista de Saúde Pública, v. 27, n. 1, p. 59-67. (1993).

SCHADE, G.; HEINZOW, B. ***Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human milk of mothers living in northern Germany: current extent of contamination, time trend from 1986 to 1997 and factors that influence the levels of contamination.*** *Science of Total Environment*, v. 215, n. 1/2, p. 31-9. (1998).

SILVA, A. S., BARRETO, H.H.C., LEMES, V.R.R., KUSSUMI, T.A. ***Determinação da***

exposição humana a hexaclorobenzeno, em Sítio com resíduos químicos industriais orgaclorados na Localidade de Samaritá, município de São Vicente, São Paulo, Brasil. Rev. Adolfo Lutz. (1997).

SMITH, A.G. ***Chlorinated Hydrocarbon Insectides. In: Hayes Jr, W.J., Laws Jr, E.R., editors Handbook of Pesticide Toxicology.*** New York: Academic Press; v.2, p.731-816. (1991).

STEINMETZ, R. et al. ***Novel estrogenic action of the pesticide residue beta-hexachloro-cyclohexane in human breast cancer cells.*** Cancer Research, v. 56, n. 23, p. 6503-9. (1996).

THORPE, E.; WALKER, A. I. T. ***The toxicology of dieldrin. II - Comparative longterm oral toxicity studies in mice with dieldrin, DDT, phenobarbitone, beta-BHC, and gamma-BCH.*** Food and Cosmetics Toxicology, v. 11, p. 433-42. (1973).

TOLEDO, H.H.B., et al ***Critérios mínimos para a condução de Estudos de Resíduos. São Paulo.*** Associação Grupo de Analista de Resíduos de Pesticidas - GARP. (2002).

VAN ERT, M.; SULLIVAN Jr., J. B. **Organochlorine pesticides**. In: SULLIVAN Jr., J. B.; KRIEGER, G. R. (Eds.). *Hazardous Materials Toxicology:* Clinical Principles of Environmental Health. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 1027-53.(1992)

VANNUCHI, M. T. O.; ANTUNES, L. A. F.; PINOTTI, M. H. P. ***Resíduos de pesticidas organoclorados em leite materno no município de Londrina, PR.*** *Semina*, v. 13, n. 2, p. 52-7. (1992).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Alpha - and Beta - Hexachlorocyclohexanes (Alpha - and Beta - HCHs) Health and Safety Guide. Geneva**: IPCS; WHO, 1991. (Health and Safety Guide 53).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. ***Alpha- and Beta- Hexachlorocyclohexanes.*** Geneva: IPCS; WHO, 1991. 123 p. (Environmental Health Criteria 123).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. ***Lindane (Gamma-HCH) Health and Safety Guide.*** Geneva: IPCS; WHO, 1991. (Health and Safety Guide 54).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. ***Lindane.*** Geneva: IPCS; WHO, 1991. 208 p. (Environmental Health Criteria 124).

ZHENG, T. et al. ***Beta-benzene hexachloride in breast adipose tissue and risk of 102breast carcinoma.*** Cancer, v. 85, n. 10, p. 2212-8. (1999).

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP-IPEN

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Diretoria de Ensino & Informação Científica e Tecnológica
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3816 - 9148
SÃO PAULO - São Paulo - Brasil
http: //www.ipen.br

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, orgão do Ministério da Ciência e Tecnologia, e associada à Universidade de São Paulo.