UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

Avaliação das concentrações de exposição aos metais Pb, Cd, Mn
e Ni em fundições de metais não ferrosos e correlações
com marcadores de dano oxidativo

Tiago Severo Peixe

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Profa. Dra. Elizabeth de Souza Nascimento

São Paulo
2010

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Peixe, Tiago Severo
P379a Avaliação das concentrações de exposição aos metais Pb, Cd,
Mn e Ni em fundições de metais não ferrosos e correlações com
marcadores de dano oxidativo / Tiago Severo Peixe. -- São
Paulo, 2009.
236p.

Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas
e Toxicológicas.

Orientador: Nascimento, Elizabeth de Souza

1. Toxicologia ocupacional I. T. II. Nascimento, Elizabeth
de Souza, orientador

615.902 CDD

Tiago Severo Peixe

Avaliação das concentrações de exposição aos metais Pb, Cd, Mn
e Ni em fundições de metais não ferrosos e correlações com
marcadores de dano oxidativo

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Dra. Elizabeth de Souza Nascimento
Orientador/Presidente

1º. examinador

2º. examinador

3º. examinador

4º. examinador

São Paulo, 09 de março de 2010.

“O Homem é o Projeto de que si mesmo faz”

Jean Paul Sartre (1905 - 1980)

“Faça o que for necessário para ser feliz. Mas não se esqueça que a felicidade é um sentimento simples, você pode encontrá-la e deixá-la ir embora por não perceber sua simplicidade...”

Mário Quintana (1906 – 1994)

“Não esmorecer jamais”

Elizabeth de Souza Nascimento

*“O Farmacêutico e a segurança do trabalho: também, relacionado ao ramo industrial, o **farmacêutico em segurança do trabalho** pode atuar na toxicologia ocupacional, na segurança de trabalhadores expostos a metais como chumbo, mercúrio, cádmio, arsênio, solventes, gases e vapores asfixiantes, agrotóxicos, entre outros. Os riscos ocupacionais também podem ser oriundos de organismos vivos como bactérias e vírus. Neste ramo de atividade, o farmacêutico que atua em laboratórios, deve estabelecer a rotina correta para os profissionais trabalharem cuidando de sua saúde. Assim ele fiscaliza o uso de equipamentos de proteção individual (EPI's) e utilização segura dos equipamentos, utilizando os procedimentos operacionais padrão, conhecidos como POP's. Dentro deste contexto, ele também tem condições de avaliar a contaminação do ambiente de trabalho.”*

(Conselho Federal de Farmácia, CFF, Quem somos? 2009)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelo apoio e amor constantes, aos irmãos pelo companheirismo e contribuições, por ensinarem a arte do respeito e humildade junto aos homens.

À Profa. Dra. Elizabeth de Souza Nascimento, pela orientação e paciência, mais que uma Mestra, uma amiga. Queria eu que todos os Professores fossem como a senhora o é.

A Deus, pela força, saúde e vida.

AGRADECIMENTOS

Aos coordenadores do Curso de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade de São Paulo, pela oportunidade e confiança.

Aos Professores do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas pelos ensinamentos.

À Fundacentro (Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Saúde e Segurança do Trabalho) pelo apoio logístico e oportunidade de realização do trabalho.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo apoio financeiro ao trabalho, Processo Fapesp nº 06/59210-0.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa concedida.

À Professora Ana Paula de Melo Loureiro pelo apoio nas determinações dos marcadores de estresse oxidativo.

Aos Professores René Mendes, Ângelo Zanaga Trapé e Cláudia Regina dos Santos pelas sugestões e comentários feitos no exame de qualificação.

Aos Prof. Dr. Mauricio Yonamine e Prof. Dr. Ernani Pinto Junior pelo apoio na realização do trabalho e amizades desprendidas.

Ao estatístico Marco Bussacos, por auxiliar nas análises estatísticas, enriquecer as discussões ao tema, um homem sábio.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas: Virgínia, Vânia, Fabiana, Daniele, Simone, Sidnei, Daniel, André, Rodrigo, Tiago, Felipe, Rafael e outros, pelo companheirismo e convivências agradáveis.

Aos funcionários do Laboratório de Análises Toxicológicas LAT/USP meu agradecimento pela indubitável presteza.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho de pesquisa.

E aqueles que acreditam na área da Toxicologia, seu papel na comunidade e a importância Científica nacional e internacional.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE QUADROS	XIV
LISTA DE FIGURAS	XV
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	XIX
RESUMO	XXI
ABSTRACT	XXII
 1. Introdução	 01
 2. Revisão da literatura	 05
2.1 O processo de fundição	05
2.2 Aspectos toxicológicos da exposição a fumos metálicos	06
2.2.1 Chumbo	06
2.2.2 Cádmio	08
2.2.3 Manganês	09
2.2.4 Níquel	10
2.3 Monitorização ambiental	12
2.3.1 Limites de exposição ocupacional (LEO)	13
2.4 Monitorização biológica	15
2.4.1 Biomarcadores de exposição	16
2.4.2 Biomarcadores de efeito	17
2.4.3 Biomarcadores moleculares e de carcinogênese	18
2.4.3.1 Estágio de iniciação	19
2.4.3.2 Estágio de promoção	19
2.4.3.3 Estágio de progressão	20
2.4.4 Ensaio aplicado à avaliação carcinogênica	20
2.4.4.1 Análises de lesões em DNA	21
2.4.4.2 Análises de MDA (malondialdeído) em plasma	22
2.4.4.3 Análises de 8-Oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxodGuo) em leucócitos totais	27
 3. Objetivo/Plano de trabalho	 30
3.1 Objetivo geral	30
3.2 Objetivos específicos	30
3.3 Plano de trabalho	31

4. Material e métodos	32
4.1 Material	32
4.1.1 Instrumentação analítica	32
4.1.2 Vidraria	33
4.1.3 Outros materiais	33
4.1.4 Reagentes	34
4.1.5 Soluções	35
4.1.5.1 Soluções para extração de DNA	35
4.1.5.2 Soluções para hidrólise enzimática do DNA	37
4.1.6 Lavagem de vidraria	38
4.2 Métodos	38
4.2.1 <i>Primeira etapa monitorização ambiental - população estudada</i> .	38
4.2.1.1 Descrição do ambiente de trabalho	39
4.2.1.1.1 Características da Empresa 1	39
4.2.1.1.2 Características da Empresa 2	43
4.2.1.1.3 Características da Empresa 3	45
4.2.1.1.4 Características da Empresa 4	49
4.2.2 Matriz ar	55
4.2.2.1 Coleta de amostras de ar do ambiente de trabalho .	56
4.2.2.2 Amostras de ar do ambiente de trabalho	58
4.2.2.3 Método de análise dos teores de metais no ar	58
4.2.3 Validação do método para a determinação de metais em amostras de ar	59
4.2.3.1 Limite de detecção	59
4.2.3.2 Limite de quantificação	59
4.2.3.3 Linearidade	59
4.2.3.4 Precisão intraensaio e interensaio	60
4.2.3.5 Recuperação	60
4.2.3.6 Exatidão	60
4.2.4 Análises dos pontos de coleta do ar	61
4.2.5 Segunda etapa, monitorização biológica	61
4.2.5.1 Limites para realização da monitorização da exposição ao chumbo, cádmio, manganês e níquel	62
4.2.6 Matrizes biológicas	64
4.2.7 Parâmetros de instrumentação do equipamento EAA/FG	65
4.2.7.1 Parâmetros de otimização	65
4.2.8 Validação do método para a determinação de metais em amostras de sangue e urina	65
4.2.8.1 Limite de detecção	65
4.2.8.2 Limite de quantificação	66

4.2.8.3	Linearidade	66
4.2.8.4	Precisão intraensaio e interensaio	66
4.2.8.5	Recuperação	66
4.2.8.6	Exatidão	67
4.2.8.7	Determinação da densidade e da creatinina urinária ...	67
4.2.9	Terceira etapa, metodologia para determinação de MDA em plasma e 8-oxodGuo em DNA de leucócitos de trabalhadores ..	68
4.2.9.1	Determinação de malondialdeído em plasma de trabalhadores	68
4.2.9.1.1	Método para determinação de MDA em plasma de trabalhadores	69
4.2.9.1.2	Condições cromatográficas para determinação de MDA em plasma por HPLC	69
4.2.10	Validação do método para a determinação de MDA (malondialdeído) em plasma humano	70
4.2.10.1	Limite de detecção	70
4.2.10.2	Limite de quantificação	70
4.2.10.3	Linearidade	71
4.2.10.4	Precisão intraensaio e interensaio	71
4.2.10.5	Recuperação	71
4.2.10.6	Exatidão	72
4.2.11	Determinação de 8-oxodGuo em DNA de leucócitos de trabalhadores	72
4.2.11.1	Condições cromatográficas para determinação de 8-oxodGuo em DNA extraído de leucócitos, por HPLC/ED	74
4.3	Análises estatísticas	74
4.3.1	Amostras de ar	74
4.3.2	Amostras biológicas	75
4.3.3	Correlações estatísticas	76
4.3.3.1	Correlações dos metais no ar e metais em matrizes biológicas	76
4.3.3.2	Correlações dos metais no ar e a função de risco	76
5.	Resultados	78
5.1	Resultados da validação do método para a determinação de metais em amostras de ar	78
5.1.1	Limite de detecção	78
5.1.2	Limite de quantificação	78
5.1.3	Linearidade	78
5.1.4	Precisão intraensaio e interensaio	78
5.1.5	Recuperação	79
5.1.6	Exatidão	79
5.1.7	Análises dos pontos de coleta do ar	80

8.3 Trabalhos completos em periódicos (submetidos)	164
8.4 Trabalhos completos em periódicos (em redação)	164
ANEXO I Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/ Doutorado	165
ANEXO II Questionário de hábitos e estilos de vida	166
ANEXO III Termo de consentimento livre e esclarecido	168
ANEXO IV Despacho do comitê de ética em pesquisa	171
ANEXO V Ficha do aluno – Sistema Fenixweb (www.fenix.usp.br)	172
ANEXO VI Trabalho submetido ao <i>Journal of Occupational and Environmental Health</i>	173
ANEXO V Trabalho publicado na <i>Revista Intertox de Toxicologia Revinter</i> .	174

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Programa de aquecimento para digestão ácida assistida por microondas das amostras de filtros coletados	58
Tabela 2 - Pb, Cd, Mn e Ni em matrizes biológicas	64
Tabela 3 - Precisão intra e interensaios para a determinação dos metais	79
Tabela 4 - Cálculo da inexatidão	79
Tabela 5 - Valores médios em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados e os valores preconizados pela ACGIH, Empresa 1	80
Tabela 6 - Valores médios em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados e os valores preconizados pela ACGIH, Empresa 2	80
Tabela 7 - Valores médios em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados e os valores preconizados pela ACGIH, Empresa 3	81
Tabela 8 - Valores médios em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados e os valores preconizados pela ACGIH, Empresa 4	82
Tabela 9 - Programa de aquecimento, temperatura de pirólise e atomização otimizados para o Pb por EAAFG	111
Tabela 10 - Programa de aquecimento, temperatura de pirólise e atomização otimizados para o Cd por EAAFG	113
Tabela 11 - Programa de aquecimento, temperatura de pirólise e atomização otimizados para o Mn por EAAFG	115
Tabela 12 - Programa de aquecimento, temperatura de pirólise e atomização otimizados para o Ni por EAAFG	117
Tabela 13 - Parâmetros de confiança para validação do método de determinação de metais em fluidos biológicos	118
Tabela 14 - Concentração de Pb-S, Cd-U, Mn-U e Ni-U, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55).....	120
Tabela 15 - Parâmetros de confiança para validação do método de determinação de MDA em plasma humano	141
Tabela 16 - Concentração de MDA plasmático, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55)	144

Tabela 17 - Concentração de 8-oxodGUO plasmático, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55)	148
--	------------

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Indicadores biológicos para o chumbo, e seus respectivos limites recomendados internacional e nacionalmente **63**

Quadro 2: Indicadores biológicos de exposição para os metais urinários **63**

Quadro 3: resumo das empresas com variáveis todos os Metais, Empresas $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) e n= número de observações **98**

Quadro 4: valores das concentrações médias $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.), modos de coletas (individual ou estático) e n (número de observações) **105**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma das etapas de produção na Fundição	05
Figura 2 – Nível do biomarcador & tempo de exposição	17
Figura 3 - Estrutura química do malondialdeído	22
Figura 4 – Representação das fases de lipoperoxidação	23
Figura 5 – Esquema para formação de lipoperóxidos cíclicos a partir do ácido araquidônico	25
Figura 6 - Malondialdeído (MDA) nas diferentes formas em solução aquosa, de acordo com o pH	27
Figura 7 – Principais produtos de oxidação gerados pelo oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) à base guanina no DNA	28
Figura 8 – Imagem do local da fundição, Empresa 1	40
Figura 9 – Planta do local de produção das peças metálicas	41
Figura 10 – Trabalhador operador de forno	42
Figura 11 – Trabalhador no setor de fusão e vazamento	42
Figura 12 – Trabalhador no setor de macharia	42
Figura 13 – Planta do local de produção das peças metálicas, Empresa 2	43
Figura 14 – Imagem do local da fundição, Empresa 3	46
Figura 15 – Trabalhador operador de forno	47
Figura 16 – Trabalhadores no setor de fusão e vazamento	47
Figura 17 – Trabalhador no setor de polimento	48
Figura 18 – Esquema do ambiente de trabalho avaliado	50
Figura 19 - A flecha azul sinaliza o 1º forno (frontalmente é o primeiro à esquerda e ao lado deste tem as coquilhas automáticas); a flecha amarela sinaliza o 2º forno e ao lado deste há o 3º forno; as flechas vermelhas sinalizam os banhos de grafite/água para resfriamento da coquilha	51

Figura 20 - Coquilheiro despeja o fundente na coquilha automática	52
Figura 21 - Coquilheiro retira a peça da coquilha automática	52
Figura 22 - Concheiro e coquilheiro simultaneamente. Na lapela do trabalhador, filtro para coleta de fumos metálicos	53
Figura 23 - Concheiro vaza o fundente na coquilha (mesa comporta três coquilheiros). Coleta individual de fumos metálicos. Todos os quatro trabalhadores têm na região da zona respiratória, um filtro para coleta de fumos metálicos	54
Figura 24 - Coleta ponto estático	56
Figura 25 - Coleta individual	56
Figura 26 - Coleta ponto estático	57
Figura 27 - Coleta individual	57
Figura 28 – reação de formação do complexo MDA-TBA	68
Figura 29 - Coquilha automatizada sem exaustão	88
Figura 30 - Coquilheiro despeja o fundente na coquilha automática	89
Figura 31 - Coquilheiro retira a peça da coquilha automática	89
Figura 32 - Concheiro e coquilheiro simultaneamente. Na lapela do trabalhador, filtro para coleta de fumos metálicos	90
Figura 33 - Concheiro vaza o fundente na coquilha (mesa comporta três coquilheiros). Coleta individual de fumos metálicos. Todos os quatro trabalhadores possuem, na região da zona respiratória, um filtro para coleta de fumos metálicos	91
Figura 34 – Carrinho ergonômico	92
Figura 35 - Trabalhador de pé (flecha azul) atua no policorte e trabalhador sentado (flecha amarela) atua no esmeril	93
Figura 36 - Visão geral do setor de macharia	94
Figura 37 – Máquina batedeira	94
Figura 38 – Bebedouro dentro do setor de fundição	97
Figura 39 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb nas diferentes empresas avaliadas	99

Figura 40 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd nas diferentes empresas avaliadas	100
Figura 41 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Ni nas diferentes empresas avaliadas	101
Figura 42 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn nas diferentes empresas avaliadas	102
Figura 43 - valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb em função das atividades laborais nos setores da fundição	103
Figura 44 - valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd em função das atividades laborais nos setores da fundição	104
Figura 45 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos nos setores da fundição	106
Figura 46 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos nos setores da fundição	107
Figura 47 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos nos setores da fundição	108
Figura 48 - Curva de temperatura de pirólise para solução aquosa de Pb 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ com modificador de matriz	110
Figura 49 - Curva de temperatura de atomização para solução aquosa de Pb com modificador de matriz	111
Figura 50 - Curva de temperatura de pirólise para solução aquosa de Cd 0,2 $\mu\text{g}/\text{L}$ com modificador de matriz	112
Figura 51 - Curva de temperatura de atomização para solução aquosa de Cd 0,2 $\mu\text{g}/\text{L}$ com modificador de matriz	113
Figura 52 - Curva de temperatura de pirólise para solução aquosa de Mn 2,0 $\mu\text{g}/\text{L}$ sem modificador de matriz	114
Figura 53 - Curva de temperatura de atomização para solução aquosa de Mn 2,0 $\mu\text{g}/\text{L}$ sem modificador de matriz	115
Figura 54 - Curva de temperatura de pirólise para solução aquosa de Ni 5,0 $\mu\text{g}/\text{L}$ com modificador de matriz	116
Figura 55 - Curva de temperatura de atomização para solução aquosa de Ni 5,0 $\mu\text{g}/\text{L}$ com modificador de matriz	116

Figura 56 - Concentração de Pb-S, segundo grupo exposto (n=50) e controle (n=55)	120
Figura 57 - Concentração de Mn-U, Ni-U e Cd-U, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55)	121
Figura 58 – Tempo em atividade laboral, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55)	121
Figura 59 – Tempo em hábito de fumar, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55)	122
Figura 60 - valores das concentrações em $\mu\text{g/dL}$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb-S em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle	124
Figura 61 - valores das concentrações em $\mu\text{g/g}$ creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd-U em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle	126
Figura 62 - valores das concentrações em $\mu\text{g/g}$ creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn-U em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle	128
Figura 63 - valores das concentrações em $\mu\text{g/g}$ creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Ni-U em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle	129
Figura 64 – gráfico de regressão linear simples Pb-Ar & Pb-S	133
Figura 65 – gráfico de regressão linear simples Mn-Ar & Mn-U	134
Figura 66 – gráfico de regressão linear simples Cd-Ar & Cd-U	135
Figura 67 - Operador em movimento, com “grande colher”, contendo o fundente de alumínio	140
Figura 68 – Cromatograma de amostra, com a adição de padrão de MDA em plasma na concentração de $0,25 \mu\text{M}$	142
Figura 69 – Espectro de absorbância do complexo MDA-TBA, em 532 nm, com a adição de padrão de MDA em plasma na concentração de $0,25 \mu\text{M}$	143
Figura 70 – Perfil de valores de MDA em plasma de trabalhadores	144
Figura 71 - cromatograma da dGUO ($t = 9,6 \text{ min.}$) e espectro de absorbância $\lambda = 250 \text{ nm}$ em amostra de indivíduo exposto	147

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACGIH - AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS (Conferência Americana de Higienistas Industriais Governamentais).

BEI – BIOLOGICAL EXPOSURE INDICATOR (Indicador Biológico de Exposição).

CDC - CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (Centro de Controle e Prevenção de Doenças).

CHEMINFO – CHEMISTRY INFORMATION (Informações Químicas) - IRIS.

CV – COEFICIENTE DE VARIAÇÃO.

CYP 450 – CITOCROMO P 450.

DL₅₀ – DOSE LETAL QUE MATA 50% DOS ANIMAIS EXPOSTOS.

DI - DIÂMETRO INTERNO.

DNA – ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLÉICO.

GF/EAS - GRAPHITE FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY (Espectrometria de Absorção Atômica/Forno de Grafite).

EC - FILTROS DE ÉSTER METIL CELULOSE.

EPA/US – ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (Agência de Proteção Ambiental Americana).

EPI - EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL.

EROs – ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO.

ERNs – ESPÉCIES REATIVAS DE NITROGÊNIO.

ESCODD - EUROPEAN STANDARDS COMMITTEE ON OXIDATIVE DNA DAMAGE (Comitê Europeu de Padronização de Avaliação de Oxidação de DNA).

FCF - FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

GC/MS – GAS CHROMATOGRAPHY/ MASS SPECTROMETRY (Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa).

HPLC/ED – HIGH LIQUID CHROMATOGRAPHY/ELETCHEMICAL DETECTION (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência/Detector Eletroquímico).

HPLC/PDA – HIGH LIQUID CHROMATOGRAPHY/PHOTO DIODE ARRAY (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência/Detector Arranjo De Diodos).

IARC – INSTITUTE FOR RESEARCH ON CANCER (INSTITUTO DE PESQUISA EM CÂNCER).

IBMP – ÍNDICE BIOLÓGICO MÁXIMO PERMITIDO.

ICP/OES – INDUCTIVELY COUPLED PLASMA/OPTICAL ESPECTROSCOPY SPECTROMETRY (Espectroscopia de emissão óptica/plasma de argônio induzido).

IPCS – INTERNATIONAL PROGRAM ON CHEMICAL SAFETY (Programa Internacional em Segurança Química).

IARC – INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (Agência Internacional de Pesquisa em câncer).

IRIS - INTEGRATED RISK INFORMATION SYSTEM (Sistema Integrado de Informação de Risco).

L – LITROS.

LEO - LIMITES DE EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL.

L. D. – LIMITE DE DETECÇÃO.

L.D.E. - LIMITE DE DETECÇÃO DO EQUIPAMENTO.

L.Q.E - LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO DO EQUIPAMENTO.

L. Q. – LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO.

LT - LIMITE DE TOLERÂNCIA.

MOA – MODO DE AÇÃO.

MDA - MALONDIALDEÍDO.

NA - Nível de Ação.

NHO-07 – NORMA DE HIGIENE OCUPACIONAL N° 07.

NIOSH – NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (Instituto Nacional de Saúde e Segurança do Trabalho).

NHO – NORMAS DE HIGIENE OCUPACIONAL.

NIST/USA – NATIONAL OF STANDART AND TECHNOLOGY (Instituto Nacional de Padrões Tecnológicos), Estados Unidos da América.

NR7 - NORMA REGULAMENTADORA n° 7.

NR15 – NORMA REGULAMENTADORA n° 15.

OSHA - OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH ADMINISTRATION (Administração em Saúde e Segurança).

OPS – ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE.

PCMSO - PROGRAMA DE CONTROLE MÉDICO e SAÚDE OCUPACIONAL.

PFF-1 - PEÇA FACIAL FILTRANTE tipo 1.

PFF-2 - PEÇA FACIAL FILTRANTE tipo 2.

PPM – PARTES POR MILHÃO.

PPRA - PROGRAMA DE PREVENÇÃO A RISCOS AMBIENTAIS.

PV – PRESSÃO DE VAPOR.

SNC – SISTEMA NERVOSO CENTRAL.

SSST - SECRETARIA DE SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO.

T_½ - TEMPO DE MEIA VIDA.

TBA – ÁCIDO TIOBARBITÚRICO.

TLV's - THRESHOLD LIMIT VALUES (Valores Limites Treshould's).

VR – VALOR DE NORMALIDADE.

XAD – RESINA ADSORVENTE DE SÍLICA AMBERLITE (SKC INC®).

USP/SP - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO.

UV/VIS - ESPECTROFOTOMETRIA ULTRA VIOLETA NA REGIÃO DE λ VISÍVEL.

8-oxodGuo - 8-OXO-7,8-DIHDRO-2'-DESOXIGUANOSINA.

dGuo – DEOXIGUANOSINA.

RESUMO

De acordo com a ABIFA (Associação Brasileira de Indústrias de Fundição), a produção de metais não-ferrosos em março de 2006 no País foi de 279.353 toneladas, sendo que deste montante, a região de São Paulo responde por 77.011t, com 26.593 trabalhadores relacionados com a manufatura destes metais. Escumar, mexer, vazar, agitar, encher e outras operações associadas às fundições podem provocar a liberação de grandes quantidades de emanções. Assim podem ser liberadas no ambiente onde são usados metais derretidos, poeiras metálicas, que são pequenas partículas sólidas no ar, e fumos, partículas sólidas ainda menores. As inalações de fumos metálicos são mais perigosas que as das poeiras metálicas porque os fumos metálicos podem ser absorvidos mais facilmente pelos pulmões. As fundições de metais não ferrosos utilizam basicamente lingotes de latão (Cobre (Cu) – Zinco (Zn)), nas quais os níveis de Cu variam de 68 a 98 %, e os de Zn de 2 -32 %, dependendo das características do latão. Além dos componentes primários da liga, aproximadamente 5 % da formulação contém outros metais, dentre eles: chumbo, cádmio, arsênio, estanho, ferro, fósforo, manganês e níquel. Uma vez que os trabalhadores nas fundições estão expostos a diversos compostos, é importante avaliar os níveis de lesões que possam refletir um efeito aditivo, sinérgico ou antagônico acarretado por esses compostos. No presente trabalho foram avaliados os níveis dos metais Pb, Cd, Mn e Ni no ar dos ambientes de trabalho, procurando correlacioná-los aos níveis destes metais no sangue e urina dos trabalhadores expostos em fundições de metais não ferrosos. Além disso, dois marcadores de dano oxidativo, o primeiro ao nível periférico MDA (malondialdeído) e o segundo ao intracelular DNA (8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina) foram eleitos como indicadores de efeito à exposição ocupacional. Os métodos analíticos propostos apresentaram-se sensíveis, precisos e exatos para as análises dos elementos no ar do ambiente de trabalho, como indicadores de dose interna e de efeito. As concentrações obtidas são consoantes a trabalhos populacionais com exposição a metais. A análise de dano oxidativo, no caso da exposição aos metais citados acima nestas empresas, permitiu investigar se essa exposição simultânea leva a danos biológicos mesmo no caso de os níveis isolados dos compostos estarem dentro dos limites de exposição considerados seguros.

ABSTRACT

According to ABIFA (Brazilian Foundry Producers Association), the total amount of non ferrous production in March 2006 was 279.353 tons, the São Paulo region respond per 77.011 tons, with 26.593 workers in this manufacture process. Mould, leak, melt, tune, clean and other foundry assembly line steps can release amounts of metal dust or fine particulate matter in the occupational setting. The metallic fume inhalation depends on the size of the particulate material, and this relates the toxicology profile. The non ferrous foundries raw material basically use brass alloys, mainly composed by Cu (copper) 68 to 98 % and Zn (zinc) 2 – 32 % in formulation. Furthermore, other metals can be added as Pb (lead), Ni (nickel), Cd (cadmium) and manganese (Mn) to grant specific characteristic such as hardness and resistance to heat. Since the workers in foundries are exposed to various compounds, it is important to evaluate the levels of injury that may reflect an additive effect, synergistic or antagonistic caused by these compounds. The present study aimed to evaluate the levels of two markers of oxidative damage, the first level peripheral MDA (malonaldehyde) and the second intracellular DNA (8-oxo-7',8-dihydro-2'-deoxyguanosine), trying to correlate them to levels of the metals Pb, Cd, Ni and Mn found in the blood and urine of workers exposed to non-ferrous metal smelters. The methods proposed showed to be sensitive, precise and accurate for the analysis of elements in the air of the workplace, as indicators of internal dose and effect. The concentrations obtained in population studies are consistent with exposure to metals. Analysis of oxidative damage in case of exposure to the metals mentioned above these companies allowed to investigate whether the simultaneous exposure leads to biological damage even if the levels of the compounds are isolated within the exposure limits considered safe.

1. Introdução

As doenças associadas aos compostos tóxicos em ambientes de trabalho são reconhecidas há centenas de anos. Como exemplo, efeitos tóxicos do chumbo, tais como cólicas abdominais, anemias e paralisias musculares foram relatadas por gregos e romanos desde a antiguidade (WILLAMS *et al.*, 2000).

No século XVII, Bernadino Ramazzini (1633-1714), também chamado “o pai da medicina do trabalho”, em seu primeiro livro intitulado *De Morbis Artificum Diatriba*, descrevia doenças ocupacionais e orientava médicos da época sobre doenças em indivíduos, relacionadas a atividades específicas em ambientes de trabalho (FUNDACENTRO, 1999).

No cenário atual, com todos os avanços científico-tecnológicos, ainda podem ser identificadas diversas formas e situações em que o trabalhador, em suas atividades laborais, encontra-se exposto a agentes químicos e, em decorrência destes, pode desenvolver a curto ou longo prazo, doenças ocupacionais (COLACIOPPO, 2003).

Na década de 1970, o Ministério do Trabalho publicou uma série de Normas Regulamentadoras (NR), destacando-se, a NR-15 (atividades e operações insalubres) – anexo 1 – ruído; anexo 3 – calor; anexo 11 – agentes químicos e as NR-7 (indicadores biológicos) e NR-9, que estabelecem, respectivamente, os parâmetros mínimos e as diretrizes gerais que serviram como base para, em 1994, implantar os Programas de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO) e de Prevenção de Riscos Ambientais (PPRA) que vigoram nos dias atuais (BRASIL, 1978; BRASIL, 1994).

A segurança e a saúde dos trabalhadores podem ser implantadas por meios de medidas e princípios de ação preventiva, tais como, antecipar riscos, avaliar aqueles que não podem ser evitados, combater os riscos em sua origem, adaptar o trabalho ao indivíduo, atualizar o processo laboral de acordo com a evolução tecnológica, substituir substâncias químicas por outras de menor toxicidade, planejar formas de prevenção, priorizar equipamentos de proteção coletiva em detrimento do individual e educar os trabalhadores (OPAS, 2004).

A ACGIH publica anualmente a relação dos limites de exposição ocupacional (TLV-TWA[®], TLV-Ceiling[®], STEL[®]) e limites biológicos de exposição (BEI's[®]), os quais são considerados no processo de avaliação da exposição a xenobióticos (ACGIH, 2007).

A ocorrência de efeitos adversos atribuídos a um toxicante, sob condições específicas, depende de: (I) propriedades intrínsecas ou toxicidade, (II) seus usos e a correspondente exposição a diversos níveis e doses; e (III) da susceptibilidade dos indivíduos expostos (MUTTI, 1999; MUTTI, 2004).

A monitorização da exposição é um procedimento que consiste em uma rotina de avaliação e interpretação de parâmetros biológicos e/ou ambientais, com a finalidade de detectar os possíveis riscos à saúde. A exposição pode ser avaliada por medida da concentração do agente químico em amostras ambientais, como o ar (monitorização ambiental), ou através da medida de parâmetros biológicos (monitorização biológica), denominados indicadores biológicos ou biomarcadores (LAUWERYS, 1996).

Deste modo, na prática de avaliações ocupacionais são estabelecidos valores limites para a exposição a agentes químicos. Os níveis de exposição no ambiente de trabalho podem ser estimados e expressos em termos de

concentrações atmosféricas, além da determinação de níveis do xenobiótico, de seus metabólitos ou de ligações a moléculas alvo em fluidos biológicos do trabalhador exposto (LAUWERYS, 1996; MUTTI, 2004).

Não obstante, a avaliação biológica consiste na determinação de agentes químicos ou seus produtos de biotransformação em tecidos, secreções, excreções, ar exalado ou qualquer combinação destes para avaliar a exposição e o risco à saúde quando comparados com uma referência apropriada, e possui papel relevante e complementar nas informações sobre situações de exposições laborais (VAINIO, 1998; MUTTI, 1999; VIAU, 2002).

Tais procedimentos requerem estudos prévios de reconhecimento e avaliação frente a padrões existentes, para posterior proposta de controle, ou seja, um conjunto de ações destinadas a eliminar, quando possível, ou reduzir, a exposição ocupacional a um nível aceitável e compatível com a manutenção e promoção da saúde (FARIA, 2003).

As fundições de metais não ferrosos utilizam basicamente lingotes de latão (Cobre (Cu) – Zinco (Zn)), nas quais os níveis de Cu variam de 68 a 98 %, e os de Zn de 2 -32 %, dependendo das características do latão. Além dos componentes primários da liga, aproximadamente 5 % da formulação contém outros metais, dentre eles: chumbo, cádmio, arsênio, estanho, ferro, fósforo, manganês e níquel (CDA, 2004).

As poeiras metálicas são pequenas partículas sólidas dispersas no ar com diâmetros superiores a 100 µm geradas a partir de fricção de partículas maiores. São presentes nas atividades de lixamento, polimento, retirada de rebarbas, dentre outras. Os fumos metálicos são partículas sólidas em suspensão inferiores a 5 µm formadas por condensação dos vapores de óxidos metálicos

liberados onde são usados metais derretidos. Escumar, mexer, vaziar, agitar, encher e outras operações que mexem com o fundido podem provocar a liberação de grandes quantidades destas emanções. Ocorrem em galvânicas térmicas (zinco fundido), fundições e siderúrgicas. Esta mudança física está acompanhada com frequência por uma reação química como oxidação (OBERDORSTER *et al.*, 2008).

As inalações de fumos metálicos são de maior risco que as de poeiras metálicas, pois os fumos metálicos podem ser absorvidos mais facilmente nos pulmões devido à capacidade de penetração da partícula na via respiratória. Tal fato as nominam como inalatórias (inferior a 5 μm) e respiratória (de 0,2 a 1 μm) de diâmetros (FUNDACENTRO, 2002; LOPES, 2004; OBERDORSTER *et al.*, 2008).

Neste cenário, sabe-se que há exposição importante de Cu e Zn, entretanto, justifica-se a avaliação da exposição dos outros metais componentes da liga. Assim, serão avaliadas as concentrações de chumbo, cádmio, manganês e níquel no ar do ambiente de trabalho, e no sangue total e urina de trabalhadores. Bem como indicadores de efeitos como o malondialdeído plasmático e a 8-oxodGuo em leucócitos de sangue periférico coletado.

2. Revisão da Literatura

2.1 O processo de fundição

O processo de fundição constitui-se como um dos processos mais simples do ramo metalúrgico e mais antigo também. O processo de fundição refere-se à liquefação das ligas metálicas, que são colocadas em fornos cuja temperatura média varia de 900°C a 1500°C. O metal líquido é então vazado em moldes de geometria pré-definida, que darão forma ao objeto a ser produzido (BURGESS, 1997) . A **Figura 1** apresenta um fluxograma geral do processo em Fundições.

Figura 1 - Fluxograma das etapas de produção na Fundição.

Fonte: Adaptado de RIBEIRO & FILHO, 2006.

A indústria da Fundição apresenta uma diversificação no que diz respeito a materiais, processos e atividades, resultando em exposição ocupacional a uma

ampla gama de substâncias perigosas que podem causar acidentes, doenças e eventualmente morte dos trabalhadores. Ainda que inovações tecnológicas tenham surgido e novos materiais tenham sido desenvolvidos, o processo básico de trabalho e os perigos associados permanecem os mesmos em muitas fundições (ZANETTI & FIORE, 2002; ALTEKAR, 2004).

Algumas das causas mais comuns de acidentes e doenças nesse segmento são (i) exposição à sílica; (ii) exposição a fibras minerais; (iii) contato com metal líquido e quente; (iv) risco de incêndio e explosão; (v) exposição a temperaturas extremas (desconforto térmico); (vi) exposição a radiação não ionizante; (vii) altos níveis de ruído e vibração; (viii) exposição a agentes inaláveis de diversas naturezas; e (ix) contato da pele e olhos com substâncias químicas (ILO, 1995; ROSENMAN, 1996; RODAHL, 2003).

2.2. Aspectos toxicológicos da exposição a fumos metálicos

2.2.1 Chumbo

O Chumbo pode ser gerado nas formas de óxidos voláteis, a partir do aquecimento de ligas de metais não-ferrosos em que este metal tome parte de sua composição. A exemplo, ligas de bronze contêm Pb como aditivo intencional, para permitir o abaixamento do ponto de dureza e resistividade elétrica. Há possibilidade do uso de outros metais para esse fim. No entanto, o chumbo apresenta baixo custo ao produtor, justificando assim a escolha dos fabricantes pelo seu uso (IPCS, 1995).

Toxicocinética

O processo de absorção do chumbo proveniente de fontes ambientais depende da quantidade do metal nas vias de absorção e de seu estado físico e

químico. Fumos e vapores gerados em operações, nas quais os metais são aquecidos, são de tamanho muito pequeno e, portanto, podem ser absorvidos. A taxa absorvida por via dérmica é bastante reduzida, sendo as vias mais importantes a oral e a respiratória (IPSC, 1995).

O chumbo é distribuído entre os tecidos moles (sangue, fígado, rins, dentre outros) e rígidos (ossos e dentes). A meia vida no compartimento sanguíneo é de cerca de 36 dias e nos ossos, aproximadamente, 27 anos. O chumbo inorgânico não sofre biotransformação, no entanto, as formas como o chumbo tetraetila são biotransformadas via CYP 450 (ATSDR, 2005).

A excreção deste metal é feita via urina, fezes e também pelo leite materno. Cerca de 60 % do chumbo absorvido são retidos pelo organismo, junto ao tecido ósseo e hematopoiético, e 40 % são excretados. Sob condições constantes de exposição a baixas concentrações, sua excreção urinária é de, aproximadamente, 70 % da dose absorvida (PALIOELLO & DE CAPITANI, 2003).

Toxicodinâmica

O chumbo pode se ligar a componentes grupos sulfidrilas e amidas, alterando suas configurações e diminuindo as atividades de enzimas que as contêm. Um exemplo bem estudado é a relação entre o chumbo e as enzimas envolvidas na produção do grupo heme. Ao menos três das sete enzimas da síntese do grupo são inibidas, resultando em acúmulo de moléculas precursoras e minimizando a produção do grupo heme (IPSC, 1995).

Os efeitos tóxicos do chumbo são variados e dentre eles observam-se os cardiovasculares, gastrintestinais, hematológicos, renais, endócrinos, neurológicos, reprodutivos, e imunológicos. O potencial carcinogênico e mutagênico do chumbo, quando da exposição ocupacional é pouco específico e

devido à multi-exposições correlacionadas com o agente, a IARC e a EPA inserem o chumbo inorgânico no grupo 2B [prováveis carcinogênicos para humanos] (PALIOLELLO & DE CAPITANI, 2003).

2.2.2 Cádmio

O cádmio pode volatilizar-se e ser emitido como vapor em processos que envolvem temperaturas extremamente altas, como na indústria de ferro e aço. Os processos de combustão são normalmente associados a pequenas partículas passíveis de serem inaladas [diâmetro inferior a 10 μm] (CHASIN & CARDOSO, 2003).

Toxicocinética

Estudos experimentais sugerem que embora lenta, a absorção do cádmio pela via dérmica pode ocorrer, sobretudo em situações em que existam quantidades relevantes do metal em contato com a pele. Outras vias, como a respiratória em que se é notória a absorção de cádmio como material particulado, estima-se que 20 a 50 % do cádmio sejam absorvidos neste caso. A via gastrintestinal é influenciada pelo tipo de dieta e hábitos alimentares, porém, a exposição oral ao cádmio assume proporção importante devido ao acúmulo na cadeia alimentar (IPSC, 1992).

Após a absorção o cádmio é transportado para o fígado, onde é produzida a ligação cádmio-metalotioneína. O cádmio parece não sofrer processos de oxidação, redução ou alquilação. A excreção via renal do metal é lenta, com meia vida de cerca de 17 a 38 anos (ATSDR, 1999).

Grande parte do cádmio inalado ou ingerido é excretada pelas fezes. A excreção fecal, via de regra, reflete a poeira do metal deglutida em situações

ocupacionais. A excreção urinária e fecal é equivalente (IPSC, 1992; ATSDR, 1999).

Toxicodinâmica

A toxicidade do cádmio se expressa em vários órgãos, dentre eles, rins e fígado. A exposição crônica se expressa com aumento de proteínas de baixo peso molecular, como a β 2-microglobulina, na urina. O cádmio altera o metabolismo de vários oligoelementos tais como: zinco, ferro, cobre e selênio. Este metal reduz a atividade da α -1-antitripsina, o que pode estar relacionado com a toxicidade pulmonar observada em exposições ao cádmio (IPSC, 1992).

O cádmio é classificado como carcinógeno para humanos, de acordo com a IARC e está inserido no grupo 1 [carcinogênicos para humanos] no IARC (IARC, 2009).

2.2.3 Manganês

A contaminação do ambiente de trabalho pode ocorrer em todas as indústrias que utilizam o manganês, de acordo com a operação desenvolvida, sob a forma de aerodispersóis, poeira ou fumo. A monitorização do manganês total e poeiras respiráveis são o melhor método de vigilância da exposição ocupacional (MARTINS, 2003).

Toxicocinética

O aparelho respiratório é o de maior importância como via de introdução do manganês. As formas de óxidos de manganês podem promover uma absorção distinta à oral, com relação aos fumos metálicos presentes no ambiente de trabalho. No sangue o Mn se liga em grande extensão às proteínas

plasmáticas e, nos eritrócitos, de 0,5 a 9 % provavelmente à protoporfirina. A β -globulina e a transmaganina transportam o manganês, na forma trivalente, para os tecidos. O Mn atravessa a barreira hematoencefálica, ligado à tranferrina. O $t_{1/2}$ biológico para o manganês é de 37 dias (ATSDR, 2000).

A excreção renal de Mn no homem é pequena, correspondendo a 0,1 a 1,3 % da quantidade diária ingerida. A maior parte do manganês é excretada via bile, seguida pelo fígado e pâncreas (IPSC, 1981).

Toxicodinâmica

O manganês atua como um cofator enzimático e está presente em metaloproteínas. É um oligoelemento essencial à vida, entretanto, seu efeito tóxico se assemelha ao parkinsonismo, alterando-se as concentrações de dopamina (DA) no núcleo caudado do corpo estriado. A diminuição dos gradientes de DA foi constatada em indivíduos com manganismo. A literatura aponta vários locais de ação tóxica para o metal, dentre eles, os pulmões, o SNC e alterações nas enzimas canaliculares hepáticas (MARTINS, 2003).

O manganês não é classificado como carcinógeno para humanos, de acordo com a IARC (IARC, 2009).

2.2.4 Níquel

Nos locais de trabalho, a via respiratória é a principal para a introdução dos compostos de níquel no organismo. O metal é inalado, principalmente, na forma de poeiras de compostos insolúveis, de aerossóis formados a partir de soluções dos compostos solúveis, e de vapores de $\text{Ni}(\text{CO})_4$ (OLIVEIRA, 2003).

Toxicocinética

A quantidade de níquel absorvida pelo organismo é determinada não somente pela quantidade inalada ou ingerida, mas também pelas propriedades

físico-químicas de seus compostos, sendo a solubilidade e o tamanho das partículas fatores importantes na absorção. Em humanos, 20 a 30 % do níquel inalado e retido nos pulmões são absorvido, sendo a taxa de expectoração superior a 70 % (ATSDR, 2005).

No sangue, 75 % do níquel ligam-se às proteínas plasmáticas de alto peso molecular: albumina e transferrina. O pulmão é o órgão de acúmulo para as exposições em longo prazo e o armazenamento se dá nas mitocôndrias. Os rins são outro local de acúmulo deste metal (SANTOS, *apud* IPSC, 1991).

A meia-vida de eliminação urinária varia de 17 a 48 h, a via preferencial de excreção é a urinária, para os compostos solúveis e insolúveis. Entretanto, tratando-se do níquel orgânico a principal via de excreção é a pulmonar (IPSC, 1991; ATSDR, 2005).

Toxicodinâmica

O níquel produz lipoperoxidação e alterações no sistema de defesa contra as espécies reativas de oxigênio, com depleção de algumas enzimas, dentre elas, glutathione, catalase, superóxido dismutase e outras responsáveis pela proteção contra radicais livres. O níquel apresenta um potencial carcinogênico, com uma variedade de mecanismos envolvidos na ação do metal do ponto de vista celular, onde aparentemente há uma interação do Ni com DNA, ocorrendo dano importante na fase S do ciclo celular, no momento da replicação heterocromática do DNA (IPSC, 1991; KIILUNEN, 1994; ATSDR, 2005).

O níquel é classificado como carcinógeno para humanos, de acordo com a IARC e está inserido no grupo 1 [carcinogênicos para humanos] no IARC (IARC, 2009).

2.3 Monitorização ambiental

Monitorar significa medir e comparar, assim, a monitorização ambiental preocupa-se em determinar concentrações de substâncias químicas no ambiente de trabalho comparando-os a valores considerados limites seguros à saúde do indivíduo na atividade laboral. Para tal, existem critérios necessários à representatividade do conjunto de dados a serem analisados. Isto é possível graças à amostragem – escolha de um dado representativo da avaliação realizada.

Segundo DELLA ROSA, *et al.* (2003) há fatores que devem ser considerados quando da avaliação ambiental ou monitorização ambiental, dentre eles:

- Atividades, tarefas ou funções exercidas pelos trabalhadores;
- A área ou local de trabalho;
- O número de trabalhadores presentes e possivelmente expostos;
- Movimentação dos trabalhadores pelo local ou locais de trabalho;
- Movimentação dos materiais (fontes de gases, vapores, poeiras, etc.);
- Condições de ventilação ou movimentação do ar, temperatura e pressão atmosférica;
- Ritmo de produção, e
- Outros agentes químicos ou físicos que possam interferir nas avaliações ou na exposição.

Outro ponto relevante refere-se à estratégia de amostragem, definindo-se:

- Equipamentos a serem utilizados na coleta e na análise da substância;

- Pessoal de coleta e acompanhamento com treinamento adequado;
- Usar critérios estatísticos de representatividade do grupo amostral;
- Número de amostras a serem coletadas em cada trabalhador (zona respiratória) ou ponto estático (coletivo) e tempo de coleta de cada uma.

Uma vez coletadas e analisadas as amostras, os resultados devem ser comparados com Limites de Exposição Ocupacional (LEO's).

2.3.1 Limites de exposição ocupacional - LEO

Os limites de exposição no ambiente de trabalho estão relacionados com os valores toleráveis, à luz dos conhecimentos atuais, como seguros ao trabalhador na atividade ocupacional que desempenham. Eles são expressos e aceitos como níveis de concentrações (limites de exposição ocupacional) ou concentrações de toxicantes, metabólitos, ou marcadores específicos de efeitos (indicadores biológicos de efeito) (MUTTI, 1999).

Os LEO's são estabelecidos no Brasil como *Limites de Tolerância*, que constam da Portaria Ministerial 3.214, do Ministério do Trabalho e Previdência, de dezembro de 1978, que em sua Norma Regulamentadora 15 (NR 15), anexo 11, fixa as substâncias cuja insalubridade é caracterizada por Limites de Tolerância, que por definição é a concentração ou intensidade máxima ou mínima, relacionada com a natureza e o tempo de exposição ao agente, que não causará dano à saúde do trabalhador, durante a sua vida laboral (BRASIL, 1978).

Para os fins de acompanhamento dos valores das concentrações mensurados em avaliações ambientais considera-se o nível de ação, cujo valor for acima da metade dos limites de exposição ocupacional (LEO's), nos quais

devem ser iniciadas ações preventivas de forma a minimizar a probabilidade de que as exposições a agentes ambientais ultrapassem os limites de exposição. As ações devem incluir o monitoramento periódico da exposição, a informação aos trabalhadores e o controle médico (BRASIL, 1994).

Quando os resultados das avaliações quantitativas da exposição dos trabalhadores excederem os valores dos limites previstos na NR 15 ou, na ausência destes os valores limites de exposição ocupacional adotados pela ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists), ou aqueles que venham a ser estabelecidos em negociação coletiva de trabalho, desde que mais rigorosos do que os critérios técnico-legais estabelecidos no País (BRASIL, 1978; BRASIL, 1994).

Existem outras referências, mais atualizadas sobre limites ocupacionais. Nos Estados Unidos há órgãos como o NIOSH (*National Institute for Occupational Safety and Health*), ligado ao CDC (*Center for Disease Control and Prevention*), bem como o OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*) ligado ao Ministério do Trabalho americano. Estes órgãos preconizam limites ocupacionais mais atuais, incluindo estudos epidemiológicos e de “*follow up*”. (OSHA, 2008; NIOSH, 2008).

A ACGIH publica anualmente sua lista de TLV's – *Threshold Limit Values*, os TLV's referem-se a concentrações limites em função do tempo de exposição às substâncias químicas dispersas no ar e representam condições sobre as quais se supõe que quase todos os trabalhadores podem estar expostos dia após dia sem efeitos adversos à saúde (ACGIH, 2007).

2.4 Monitorização biológica

A Monitorização Biológica da exposição aos agentes químicos significa a medida da substância ou seus metabólitos em vários meios biológicos, como sangue, urina e ar exalado. Algumas vezes, o conceito de Monitorização Biológica é estendido para incluir também a detecção precoce de efeitos adversos reversíveis (monitorização biológica de efeito) (por exemplo, ácido delta aminolevulínico δ -ALA-D na urina) (DELLA ROSA, 2003).

A detecção de um efeito adverso (por exemplo, proteinúria aumentada) indica que a exposição é ou tem sido excessiva, e, além disso, tal medida é mais apropriada para ser incluída num programa de detecção precoce de prejuízo à saúde (vigilância à saúde) e também preventivo, devido à exposição a uma determinada substância química. A Avaliação Biológica da exposição às substâncias químicas só é possível quando estiverem disponíveis suficientes informações toxicológicas referentes ao mecanismo de ação e/ou à toxicocinética dos agentes químicos aos quais os indivíduos estão expostos (MUTTI, 1999).

Na avaliação biológica, definem-se os biomarcadores, os quais são usados na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais, indicando como a substância é absorvida pelas diferentes vias; posteriormente, como é distribuída para os diferentes compartimentos do organismo; como é biotransformada; e, finalmente, como é eliminada. Indicam também se a substância se acumula ou não no organismo (MUTTI & WATSON, 2004).

Da mesma forma, se a Monitorização Biológica estiver baseada na medida de uma alteração biológica do organismo, causada pelo agente químico, é necessário conhecer o processo da toxicodinâmica, ou seja, é preciso

conhecer o mecanismo de ação da substância química para identificar quais são os efeitos decorrentes daquela ação. Isso se faz necessário porque só a identificação e a medida de um efeito precoce, não adverso, podem ser usadas para fins de prevenção (SWENBERG, *et al.*, 2008).

2.4.1 Biomarcadores de exposição

Biomarcadores de exposição são substâncias exógenas, metabólitos ou as interações entre o xenobiótico e um alvo molecular ou celular em compartimento do organismo. Os biomarcadores de exposição são divididos em dose interna – substâncias e seus metabólitos em fluidos biológicos e, os indicadores biológicos de dose efetiva – adutos com DNA, RNA e proteínas. Entretanto, o último enfatiza as relações com efeitos adversos críticos em um órgão ou tecido. É importante notar que vários biomarcadores podem estar disponíveis para o mesmo composto químico. Por exemplo, (I) marcadores com tempo de meia vida ($t_{1/2}$) curto - como os que são mensurados no sangue, a dose interna pode significar quantidade do xenobiótico anterior a amostra coletada; (II) biomarcadores com tempo de meia vida ($t_{1/2}$) médio - como os metabólitos urinários, a dose interna pode estimar a exposição em dias precedentes; (III) marcadores com tempo de meia vida ($t_{1/2}$) longo – como os adutos de DNA¹ ou hemoglobina, a dose interna pode estar relacionada a períodos mensais de exposição (THORME, 2003; SWENBERG, *et al.*, 2008). A **Figura 2** ilustra os biomarcadores em monitoramentos ocupacionais de exposições aos agentes químicos em função do tempo de exposição.

¹ Modificações no DNA como oxidações e ligações covalentes, podem levar a mutações em proto-oncogenes ou em genes supressores de tumor e iniciar o processo de carcinogênese.

Figura 2 – Nível do biomarcador & tempo de exposição.

Fonte: Adaptado de MUTTI & WATSON, 2004.

2.4.2 Biomarcadores de efeito

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, a US-EPA incluiu em seu processo de avaliação de carcinogenicidade uma nova abordagem que denominou de Modo de Ação, mais conhecida pela sigla em inglês – MOA, que não deve ser confundido com o mecanismo de ação. Trata-se de “uma seqüência de eventos e processos-chave, começando com a interação do agente químico com a célula, através de processo operacional e de alterações anatômicas, que resultam na formação do dano” (US-EPA, 2005). Assim, o processo patológico é descrito por meio de eventos-chave e passos obrigatórios para que ocorra a lesão.

O MOA trata de “evento(s)-chave” que é um passo precursor, empiricamente observável, que é por si só, um elemento necessário do modo de ação ou é um marcador biológico que sinaliza tal elemento. Pode-se dizer, portanto, que o evento-chave é necessário, mas não suficiente, pois se ele não ocorrer, não existirá o desfecho, entretanto, se ocorrer, poderá ou não

acontecer o desfecho. O mecanismo de ação trata, portanto, de todas as interações bioquímicas, hormonais e teciduais que levarão ao surgimento do tumor, enquanto o MOA é um modo simplificado de evidenciar os pontos importantes da fisiopatologia e identificar pontos onde seria recomendado interpor barreiras (US-EPA, 2005).

2.4.3 Biomarcadores moleculares e de carcinogênese

A utilização de marcadores moleculares diferencia-se pelos conceitos de marcadores de genotoxicidade ou não genotóxicos, deste modo, a monitorização biológica a estes biomarcadores desperta interesse, tendendo-se ao uso destes como preditivos e presuntivos no combate e prevenção a cânceres relacionados à exposição aos xenobióticos nos ambientes de trabalho. Os estudos com estes biomarcadores iniciaram na década de 50 começando com a investigação de adutos de DNA gerados a partir da interação de variantes de toxinas produzidas por fungos do tipo aflatoxinas, após a biotransformação destes xenobióticos, e o DNA celular (MUTTI & WATSON, 2004; SLYSKOVA, *et al.*, 2007; TOPINKA, *et al.*, 2007; YANG, *et al.*, 2007; XIAO, *et al.*, 2007).

O termo carcinogênico significa literalmente o que dá origem a neoplasias epiteliais, ou seja, carcinomas. O que dá origem a sarcomas, ou neoplasias de tecido mesenquimal, seria sarcomagênico, e a tumores em geral, oncogênico. Na prática, entretanto, o termo carcinogênico é usado para designar indutores de neoplasias em geral, sentido mantido neste texto. Por outro lado, a palavra gênica significa dar origem, ou seja, produzir *ab initio*. Também neste aspecto, o presente texto usa o termo em sentido mais amplo, de modo a incluir tanto iniciadores, quanto promotores da carcinogênese (CARNEIRO, *et al.*, 1997).

O processo de carcinogênese, ou seja, de formação de câncer, em geral se dá lentamente, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa prolifere e dê origem a um tumor visível. Os carcinógenos podem ser divididos, a grosso modo, em genotóxicos e epigenéticos ou não genotóxicos. Os *carcinógenos genotóxicos* são as substâncias mutagênicas capazes de iniciar a transformação maligna da célula, por exemplo, os ERO's (Espécies Reativas de Oxigênio), que interagem com sítios nucleofílicos nas células. Os *carcinógenos não genotóxicos* são conhecidos como promotores e potencializam o efeito carcinogênico dos iniciadores quando aplicados depois destes. As *alterações epigenéticas* são anormalidades hereditárias da função gênica que são mediadas por outros fatores que não as alterações que ocorrem primariamente na sequência do DNA. Um exemplo é a metilação do DNA na região promotora, um fenômeno que pode alterar a expressão de um determinado gene (WARD, 2002; CARNEIRO, *et al.*, 2007; SLYSKOVA, *et al.*, 2007). A sequência de fatos ou estágios no processo de formação do tumor será disposta a seguir:

2.4.3.1 Estágio de iniciação

É o primeiro estágio da carcinogênese. Nele as células sofrem o efeito dos agentes cancerígenos ou carcinógenos que provocam modificações em alguns de seus genes. Nesta fase as células se encontram, geneticamente alteradas, porém ainda não é possível se detectar um tumor clinicamente. Encontram-se "preparadas", ou seja, "iniciadas" para a ação de um segundo grupo de agentes que atuará no próximo estágio (BRASIL, 1996).

2.4.3.2 Estágio de promoção

É o segundo estágio da carcinogênese. Nele, as células geneticamente alteradas, ou seja, "iniciadas", sofrem o efeito dos agentes cancerígenos

classificados como oncopromotores. A célula iniciada é transformada em célula maligna, de forma lenta e gradual. Para que ocorra essa transformação, é necessário um longo e continuado contato com o agente cancerígeno promotor. A suspensão do contato com agentes promotores muitas vezes interrompe o processo nesse estágio. Alguns componentes da alimentação e a exposição excessiva e prolongada a hormônios são exemplos de fatores que promovem a transformação de células iniciadas em malignas (CARNEIRO, *et al.*, 1997; DAVIS, *et al.*, 2007).

2.4.3.3 Estágio de progressão

É o terceiro e último estágio e se caracteriza pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas. Nesse estágio o câncer já está instalado, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença. Os fatores que promovem a iniciação ou progressão da carcinogênese são chamados agentes oncoaceleradores ou carcinógenos. O fumo é um agente carcinógeno completo, pois possui componentes que atuam nos três estágios da carcinogênese (BRASIL, 1996; DAVIS, *et al.*, 2007; SLYSKOVA, *et al.*, 2007).

2.4.4 Ensaios aplicados à avaliação carcinogênica

Os biomarcadores freqüentemente utilizados referem-se à excreção de produtos urinários, adutos de hemoglobina, adutos de DNA, adutos de proteínas, troca de cromátides irmãs, ensaio do micronúcleo e aberrações cromossômicas. Cada técnica possui suas particularidades, exemplos de guias experimentais podem ser vistos na página eletrônica da OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development – Organização para o Desenvolvimento e Cooperação Econômica da União Européia) (OECD, 2008).

2.4.4.1 Análise de lesões em DNA

Dados da literatura apontam que a exposição de organismos ou células a metais leva a aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs), sendo estabelecido um estado de estresse oxidativo (VALKO *et al.*, 2006). Metais como As, Ni e Cd são carcinógenos humanos (LU *et al.*, 2005; HU *et al.*, 2006, VALKO *et al.*, 2006) e o excesso de manganês provoca uma desordem neurodegenerativa conhecida como manganismo (DOBSON *et al.*, 2004). Resultados contraditórios quanto à ação genotóxica do Pb são encontrados na literatura (DANADEVÍ *et al.*, 2003). Em todos os casos a geração de estresse oxidativo parece ter um papel na etiologia dos processos degenerativos associados à exposição aos metais citados.

Para a análise das lesões em DNA serão utilizados leucócitos isolados de trabalhadores expostos e não expostos aos metais. 8-Oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxodGuo) é uma lesão gerada por ataque de radical hidroxila ($\text{HO}^\bullet$) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) à base guanina no DNA. O MDA (malondialdeído) resulta da reação de aldeídos gerados endogenamente (peroxidação lipídica, por exemplo) com lipídios de membrana celular (MARTINEZ *et al.*, 2003). As duas lesões são mutagênicas e o aumento dos seus níveis pode levar a um aumento de chance de ocorrência de processos degenerativos.

Além disso, pretende-se determinar adutos em bases do DNA como a 8-hydroxy-2'-deoxiguanosina (8-oxodGuo) e MDA (malondialdeído), via peroxidação lipídica, a qual é notada em vários tumores, com implicações importantes na etiologia do câncer (BASU, *et al.*, 2001; DONNE, 2006; KITCHIN, 2001; DANADEVÍ, 2003; LIU, *et al.*, 2005; LOUREIRO *et al.*, 2002; LU, *et al.*, 2005;

MARTINEZ *et al.*, 2003; VALAVANIDIS, *et al.*, 2005; HU *et al.*, 2006; PAIVA, *et al.*, 2006; VALKO, *et al.*, 2006, VAINIO, 2001).

2.4.4.2 Análises de MDA (malondialdeído) em plasma

O malondialdeído (MDA, $C_3H_4O_2$) plasmático é um produto de peroxidação lipídica, utilizado como biomarcador de efeito à ação de radicais livres no organismo. No processo de respiração celular, a redução tetravalente do oxigênio pode gerar espécies reativas de oxigênio (EROs). Em situações de equilíbrio, as EROs são neutralizadas pelos antioxidantes, todavia, em momentos podem ocorrer desequilíbrios entre as formas oxidante e antioxidantes, gerando-se estresse oxidativo (ANTUNES *et al.*, 2008). A **Figura 3** retrata a estrutura química do malondialdeído.

Figura 3 - Estrutura química do malondialdeído.

O desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio (ROS°), as espécies reativas de nitrogênio (RNS°) e os sistema antioxidante, fenômeno conhecido como estresse oxidativo pode levar a adaptação ou danos oxidativos às células. Para tal, diferentes marcadores têm sido sugeridos na literatura, dentre eles o malondialdeído (MDA). As **Figuras 4 e 5** resumem as três fases do processo. É importante mencionar que a oxidação enzimática do ácido araquidônico, que ocorre durante a síntese de eicosanóides, é uma importante fonte de espécies reativas de oxigênio. Além dos eicosanóides envolvidos na sinalização intra e

intercelular, radicais de oxigênio e hidroperóxidos lipídicos são gerados durante as reações catalisadas por ciclooxygenases ou lipoxigenases (ANGERER *et al.*, 2007; LOUREIRO *et al.*, 2002 (b)).

Figura 4 – Representação das fases de lipoperoxidação.

Fonte: Adaptado de Loureiro *et al.*, 2002.

Figura 5 – Esquema para formação de lipoperóxidos cíclicos a partir do ácido araquidônico.

Fonte: Adaptado de Loureiro *et al.*, 2002.

O malondialdeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados é formado durante o processo oxidativo – o MDA é um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3 (HIDALGO, *et al.*, 2000; SALAMON *et al.*, 2000).

Os níveis de MDA determinados em plasma de indivíduos sadios através de diferentes metodologias variam de zero a 47,2 μM , sendo que os valores mais baixos foram encontrados através da utilização de metodologias mais

específicas, baseadas em cromatografia líquida ou cromatografia gasosa (ANTUNES, 2008).

Malondialdeído (MDA) pode existir em diferentes formas em solução aquosa, de acordo com o pH (**Figura 6**). O valor de pK do grupo OH enólico é 4,5 e, portanto, em pH fisiológico a forma predominante é o ânion enolato, que tem baixa reatividade com a maioria dos grupos amino. A reatividade aumenta à medida em que o pH diminui e a forma enol não dissociada, β -hidroxiacroleína, se torna a espécie predominante, em equilíbrio com a forma ceto. Essa espécie é um eletrófilo que pode reagir com nucleófilos através de adição de Michael, de modo semelhante à reação de outros aldeídos α,β -insaturados (ESTERBAUER *et al.*, 1991).

Figura 6 - Malondialdeído (MDA) nas diferentes formas em solução aquosa, de acordo com o pH.

2.4.4.3 Análises de 8-Oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxodGuo) em leucócitos totais

Muitos dos danos endógenos observados no DNA correspondem a oxidações de bases (**Figura 7**). Entretanto, os níveis detectados de danos oxidativos no DNA de células normais variam de acordo com a metodologia utilizada (HPLC/EC, GC/MS ou ^{32}P -postlabeling) e também entre laboratórios, o que tem sido motivo para grandes debates nesta área (COLLINS *et al.*, 2002).

Níveis de 7,8-dihidro-8-oxo-2'-desoxiguanosina (8-oxodG) relatados em tecidos humanos variam de 1 aduto em 10^7 nucleotídeos a 1 aduto em 10^3 nucleotídeos, e os níveis basais nos mesmos tecidos relatados por diferentes laboratórios variam em ordens de magnitude. Esforços têm sido feitos no sentido de identificar e controlar as fontes de erros dessas medidas. (DIZDAROGLU, 1998; CHEN *et al.*, 1999).

Figura 7 – Principais produtos de oxidação gerados pelo oxigênio singlete (1O_2) à base guanina no DNA.

Fonte: Adaptado de Martinez *et al.*, 2003.

O produto de oxidação do DNA mais extensivamente estudado devido à facilidade com que pode ser detectado é a 8-oxodGuo. Suas propriedades biológicas foram amplamente investigadas, tendo sido verificado que é uma lesão mutagênica em bactérias e células de mamífero, levando principalmente a transversões G→T. Transversões G→T são muito encontradas em genes supressores de tumor e proto-oncogenes mutados. As medidas dos níveis basais de danos oxidativos no DNA, a evidência molecular a respeito das propriedades mutagênicas dessas lesões e a verificação de que dietas ricas em antioxidantes são anti-carcinogênicas sugerem fortemente que danos genéticos induzidos por oxidantes endógenos contribuem para a carcinogênese (ANGERER *et al.*, 2007; BASU, *et al.*, 2001; DONNE, 2006; ESTERBAUER *et al.*, 1991; KITCHIN, 2001; DANADEVI, 2003; LIU, *et al.*, 2005; LOUREIRO *et al.*, 2002; LOUREIRO *et al.*, 2002 (b); LU, *et al.*, 2005; MARTINEZ *et al.*, 2003; VALAVANIDIS, *et al.*, 2005; HU *et al.*, 2006; PAIVA, *et al.*, 2006; VALKO, *et al.*, 2006, VAINIO, 2001).

3. Objetivo/ Plano de trabalho

3.1 Objetivo geral:

Avaliar a exposição aos metais Pb, Cd, Mn e Ni em trabalhadores de fundições de metais não ferrosos na cidade de São Paulo, por meio de análises de ar do ambiente de trabalho, sangue e urina dos trabalhadores, relacionados por setores das empresas, tais como: fusão e vazamento, rebarba, macharia, bem como os grupos controle: funcionários da administração e setor de embalagem e correlacionar os analitos com os marcadores de estresse oxidativo.

3.2 Objetivos específicos:

Aplicar os métodos a serem desenvolvidos para determinar as concentrações de Pb, Cd, Ni e Mn no ar do ambiente de trabalho por ICP/OES e nos fluidos biológicos (urina e sangue total) por EAA/FG dos trabalhadores em fundições.

Avaliar possíveis correlações entre níveis de metais no ar, em fluidos biológicos e os marcadores de dano oxidativo.

Padronizar método para determinação de 8-oxodGuo por HPLC/ED e MDA por HPLC/PDA/UV-Vis.

Detectar e quantificar lesões em DNA (8-oxodGuo) de leucócitos dos trabalhadores e MDA (malondialdeído) em plasma.

3.3 Plano de trabalho

Os trabalhos realizados durante os meses de junho de 2007 a outubro de 2009 tiveram por objetivo as seguintes etapas:

- i. **Primeira etapa** - otimização/validação do método para a determinação dos metais no ar, coletado do ambiente de trabalho, por ICP/OES com a análise das amostras de ar coletadas do ambiente de trabalho (monitorização ambiental).
- ii. **Segunda etapa** - otimização/validação do método para a determinação dos metais nos fluídos biológicos sangue e urina dos trabalhadores por EAA/FG, com análise dos metais nas respectivas matrizes (monitorização biológica).
- iii. **Terceira etapa** – desenvolvimento de técnicas de extração e hidrólise de DNA, a partir de leucócitos humanos, em amostras de sangue coletadas de trabalhadores, para posterior determinação dos adutos 8-hydroxy-2'-deoxiguanosina (8-oxodGuo) e MDA (malondialdeído) - (monitorização biológica de efeito).
- iv. **Quarta etapa** – tratamento estatístico dos dados e correlação dos indicadores avaliados com a exposição.

4. Material e Métodos

4.1 Material

4.1.1 Instrumentação Analítica

- Espectrômetro de emissão atômica com tocha em posição axial CIROS^{CCD}® (Spectro Analytical Instruments®);
- Espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite Analyst 800® (Perkin Elmer®);
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência com detectores PDA/UV-Vis (Shimadzu®)/EC (ESA®);
- Espectrofotômetro UV/VIS Libra S12 (Biochrom®);
- Balança analítica Sartorius® – modelo R200D;
- Estufa para esterilização e secagem Ética Equipamentos® - modelo 410.1, 1 – 150°C;
- Centrífuga refrigerada Eppendorf® - modelo xxx;
- Microondas CEM® MDS 2000;
- Capela de segurança química, Comtec® Engenharia de Laboratório;
- Incubadora com aquecimento New Brunswick Inc. Scientific® mod. G24);
- Freezer – 20°C (Eletrolux®);
- Freezer – 80°C (Revco® mod. ULT1386-7D9);
- Refrigerador (Eletrolux®);
- Filtro de Água (Milipore®) Mili-Q® (18,2 MΩ.cm);
- Termômetros digitais Fisher Scientific® – Accumet mod. 15);
- Banho de ultra-som Unique®;
- Bomba portátil modelo Buck Genie® VSS5, Empresa Buckgenie®, Fluxo 5 - 800 L/min;

4.1.2 Vidraria

- Balões volumétricos de 10,0 mL; 25 mL; 50,0 mL; 100,0 mL; 500,0 mL;
- Pipetas automáticas mLine Biohit® (0,5 - 10; 10,0 – 100,0; 100,0 – 1000,0 µL);
- Béqueres;
- Tubos de ensaio;
- Funis;

4.1.3 Outros materiais

- Filtros de éster-metil-celulose Millipore® com diâmetro de 37 mm e porosidade de 0,8 µm;
- Porta-filtros Millipore®;
- Fita isolante de Teflon®;
- Gás Argônio Ultra Puro (>99,98 %) Air Liquide®;
- Gás O₂, ar comprimido Ultra Puro (>99,98 %) Air Liquide®;
- Gás N₂ Ultra Puro (>99,98 %) Air Liquide®;
- Tubos cônicos TPP® de poliestireno de 15,0 mL;
- Tubos cônicos TPP® de poliestireno de 50,0 mL;
- Tubos cônicos Eppendorf® 2,0 mL;
- Luvas cirúrgicas;
- Luvas nitrílicas;
- Óculos de proteção;
- Protetores auditivos;
- Papel Filtro Watman® 40, 70 mm;
- Tubos Spin-X® (Coring®);
- Parafilme®;
- Pinças;

- Pipetas plásticas descartáveis;
- Estantes;
- Coluna HPLC Luna[®] C18 5 μ 250x4,6mm, Phenomenex[®] ;
- Cartucho de Pré-coluna C18 4x3,0m, Phenomenex[®] ;
- Holder Security Guard Universal, Phenomenex[®] .

4.1.4 Reagentes

- Ácido Clorídrico 37 % p.a., Carlo Erba[®] ;
- Acido Nítrico 65% (Max. 0,0000005% Hg) RS ISO para Análise Ambiental, Carlo Erba[®] ;
- Álcool Etilico Absoluto, Sigma Aldrich[®] ;
- Cloreto de Magnésio MgCl₂.6H₂O p.a., Carlo Erba[®] ;
- Cloreto de Potássio KCl p.a., Merck[®] ;
- Cloreto de Sódio NaCl p.a., Merck[®] ;
- Fosfato de Sódio e amônio NaNH₄HPO₄.4H₂O p.a., Carlo Erba[®] ;
- Dihidrogeno Fosfato de Amônio H₂NH₄HPO₄ p.a., Carlo Erba[®] ;
- Solução de paládio p.a., Merck[®] ;
- Hidróxido de Sódio NaOH p.a., Merck[®] ;
- Metanol Grau HPLC/MS Puriss Carlo Erba[®] ;
- Acetonitrila Grau HPLC/MS Puriss Carlo Erba[®] ;
- Solução padrão de Manganês para absorção atômica 1000 mg/L Fluka;
- Solução padrão de Chumbo para absorção atômica 1000 mg/L Fluka;
- Solução padrão de Cádmio para absorção atômica 1000 mg/L Fluka;
- Solução padrão de Níquel para absorção atômica 1000 mg/L Fluka;

- Solução padrão Multielementar para ICP/OES de As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sb, Vn, Sn e Al em concentrações variáveis de 10 – 40 mg/L Fluka;
- Solução padrão de malondialdeído Acros;
- Padrão de 8-oxodGUO Sigma;
- Enzima Ribonuclease A Tipo II-A, obtido de pâncreas bovino (10 mg/mL);
- Enzima Ribonuclease T1 obtido de *Aspergillus Oryzae* (20 U/mL) (Sigma);
- Enzima Proteinase K 20 mg/mL (Sigma);
- Enzima Fosfodiesterase TIPO IV (Sigma);
- Desferroxamina (Sigma);
- Desoxiribonuclease tipo II obtido de pâncreas bovino ;
- Fosfatase alcalina (Sigma);
- Triton X 100, Biologia Molecular (Sigma);
- Tris Básico Ultra Puro Carlo Erba® ;
- Dodecilsulfato de Sódio (SDS), para Biologia Molecular (Sigma);
- EDTA sal Dissódico P.A., Carlo Erba® .

4.1.5 Soluções

4.1.5.1 Soluções para extração de DNA

As soluções tampão A, B e C e Tris-HCl preparadas e mantidas refrigeradas até o momento de uso.

- **TAMPÃO A** ($pH = 7,5$)
 320 mM de sacarose - (342,30 g/mol)
 5 mM de $MgCl_2$ – (95,30 g/mol)
 10 mM de Tris HCl – (121,1 g/mol)
 0,1 mM de desferroxamina – (656,8 g/mol)
 X mL Triton X 100 2,5%

- **TAMPÃO B** ($pH = 8,0$)
10 mM de Tris HCl – (121,1 g/mol)
5 mM de EDTA- Na_2 – (372,2 g/mol)
0,15 mM de desferroxamina – (656,8 g/mol)
- **TAMPÃO C** ($pH = 7,4$) – *diluição de RNAses*
10 mM de Tris HCl – (121,1 g/mol)
1 mM de EDTA- Na_2 – (372,2 g/mol)
2,5 mM de desferroxamina – (656,8 g/mol)
10 mg/mL de RNase A (10mg/mL)
20 u/uL de RNase T1 (20 U/mL)
- **NaI** ($pH = 8,0$)
7,6 M de NaI – (150,0 g/mol)
40 mM de Tris-HCl – (121,1 g/mol)
20 mM de EDTA – (372,2 g/mol)
0,2 mM de desferroxamina (656,8 g/mol)
- **TAMPÃO tris**
0,2 M Tris-HCl ($pH=7,4$) – (121,1 g/mol)
0,2 M $MgCl_2$ – (121,1 g/mol)
- **Proteinase K**
20 mg/mL de Proteinase K
- **Triton 2,5 %**
- **SDS a 10 %** - (288,38 g/mol)
- **Isopropanol 60 %** (freezer)
- **Etanol a 70 %** (freezer)

4.1.5.2 Soluções para hidrólise enzimática do DNA

Adicionar a cerca de 50 µg DNA

- **1ª etapa***

Tampão Tris-HCl 0,2 M ($pH=7,4$) e $MgCl_2$ 0,2M

2,0 µL de DNase 1 5 U

Incubar a 37°C/ 1 h

** Na 1ª etapa utiliza-se a concentração de DNA A_{260}/A_{280} , em ug/mL. Toma-se 50 ug de DNA, em **X** uL.*

- **2ª etapa**

2 uL de fosfodiesterase 1 (PDE1) 0,002 U

2 uL de fosfatase alcalina 5U

Incubar a 37°C/ 1h

Para as análises de 8-oxodGuo, o DNA hidrolisado é injetado no sistema HPLC/EC.

Condições HPLC/EC:

Tampão fosfato 25 mM

3,405 g KH_2PO_4

920 mL de H_2O

MEDIR $pH = 5,5$

Filtrar à vácuo

Adicionar 80 mL metanol

O volume final da solução é ajustado para 100 µL com H_2O

4.1.6 Lavagem de vidraria

Todos os materiais utilizados são descontaminados em autoclave a 120 °C por 30 minutos e em seguida lavados com detergente neutro, enxaguados várias vezes e mantidos em solução de ácido sulfúrico/nítrico 30% (6:1) por 8 horas. Após esse período, o material é enxaguado 8 a 10 vezes com água

corrente e uma vez com água ultrapura miliQ[®] (18,2 MΩ.cm). A vidraria com imprecisão é secada em estufa a 170 – 180 °C

4.2 Métodos

4.2.1 Primeira etapa, monitorização ambiental - população estudada

As indústrias avaliadas no presente trabalho são: **1)** uma empresa produtora de peças metálicas de bronze e alumínio (metais não ferrosos) empregadas na área de eletricidade e localiza-se no município de São Paulo-SP, cujo processo de trabalho se assemelha ao da grande maioria das indústrias típicas desse setor; **2)** Indústria de metais sanitários localizadas no município de São Paulo; **3)** Indústria de metais sanitários localizada no município de São Paulo e **4)** Indústria de metais sanitários localizadas no município de São Paulo. O trabalho, realizado em parceria, envolve a Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF/USP) e o Centro Tecnológico Nacional da Fundacentro (Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho do Ministério do Trabalho e Emprego (FUNDACENTRO/MTE).

Foram coletadas amostras de ar do ambiente de trabalho, provenientes de coletas com bombas de fluxo contínuo, em pontos fixos e zona respiratória de trabalhadores. A carga horária dos trabalhadores envolvidos no estudo é de oito horas diárias, cinco dias por semana, totalizando 40 horas semanais. Para a avaliação ambiental foi coletado um volume de ar, correspondendo a 80 % da jornada de trabalho, ou seja, 6 horas e 40 minutos de exposição.

As etapas principais do processo de fundição constam na **Figura 1**, e por definição os termos utilizados no trabalho significam: **forneiro** – trabalhador que opera o forno fundindo os metais para confecção das peças metálicas;

macho - peça elaborada com uma mistura de areia contendo resinas fenólicas e moldada sob aquecimento, por exemplo, na caixa de macho; **concheiro** – trabalhador que manipula a concha, recipiente utilizado para transportar o material fundente; **coquilheiro** – trabalhador que manipula a coquilha, caixa de molde em que é vazado o metal fundente; **policorte** – etapa em que o trabalhador corta/separa as peças metálicas que serão enviadas a rebarba; **rebarba** – etapa necessária para retirar partes sobressalentes da peça metálica proveniente da fundição; **polimento /afinação** – momento da produção em que a peça metálica é polida, por meio de lixas específicas, de acordo com as características do produto (PEIXE & NASCIMENTO, 2008).

4.2.1.1 Descrição do ambiente de trabalho

Empresas

A forma de exposição aos metais nas indústrias envolvidas no presente estudo estão relacionadas, de maneira geral, com os processos de fusão e vazamento, bem como, nos setores de macharia, com o preparo do macho, policorte e afinação das peças metálicas. As descrições detalhadas das empresas são apresentadas a seguir.

4.2.1.1.1 Características da Empresa 1

Indústria com o total de 300 (trezentos) empregados. Destes, 11 (onze) indivíduos foram considerados expostos, 4 (quatro) situados no setor de fusão e vazamento, 3 (três) na área de macharia e 4 (quatro) na área de rebarba. O espaço, conforme imagem do local, ilustrado na **Figura 8**, é constituído de um galpão com pé direito de 18 metros, sem janelas, com ventilação natural e exaustores tipo eólicos no teto. Neste local funcionam três fornos com sistemas

de exaustão. A planta da empresa, com os respectivos pontos de coleta são representados na **Figura 9**.

Os 4 trabalhadores do setor de fundição, que realizam as tarefas de fusão e vazamento utilizam como equipamentos de proteção individual (EPI's): protetores auriculares, avental, óculos de acrílico, luvas térmicas e botas de proteção. *Entretanto os mesmos não utilizam máscara de proteção aos fumos metálicos*. As **Figuras 10, 11 e 12** ilustram os setores onde os trabalhadores desenvolvem as atividades consideradas como as do grupo exposto.

Os funcionários da macharia, (n=3) macheiros (**Figura 12**) e da área de rebarba (n=4), utilizam os seguintes EPI's: protetores auriculares, óculos de acrílico e luvas térmicas.

Figura 8 – Imagem do local da fundição, Empresa 1.

Figura 9 – Planta do local de produção das peças metálicas.

- **P 1E #** - ponto estático 1 – área de *fusão e vazamento*, **forno**.
- **P 2E #** - ponto estático 2 – área de *fusão e vazamento*, **vazamento**.
- **P 3I^A** - coleta individual 1 – área de *fusão e vazamento*, **operador de vazamento**.
- **P 4I^A** - coleta individual 2 – área de *macharia em casca*, **operador de vazamento**.

Figura 10 – Trabalhador operador de forno.

Figura 11 – Trabalhador no setor de fusão e vazamento.

Figura 12 – Trabalhador no setor de macharia.

Empresa 2

A forma de exposição aos metais na indústria envolvida no presente estudo está relacionada, de maneira geral, com o processo de fusão e vazamento, bem como, no setor de macharia, com o preparo do macho. Apresenta-se a descrição detalhada da empresa a seguir.

4.2.1.1.2 Características da Empresa 2

Indústria com o total de 74 (setenta e quatro) empregados. Destes, 13 (treze) indivíduos foram considerados expostos, 8 (oito) situados no setor de fusão e vazamento, 4 (quatro) na área de macharia e 1 (um) na rebarba. O espaço, conforme planta do local, ilustrada na **Figura 13**, é constituído de um galpão com pé direito de 12 metros, sem janelas, com ventilação natural e exaustores tipo eólicos no teto. Neste local funcionam dois fornos com sistemas de exaustão aparentemente ineficientes.

Os trabalhadores (n=8) utilizam no setor de fundição (fusão e vazamento) como equipamentos de proteção individual (EPI's): máscaras para material particulado do tipo PFF-1 (peça facial filtrante) ¹, protetores auriculares, avental, óculos de acrílico, luvas térmicas e botas de proteção. Os funcionários da macharia (n= 5), sendo quatro macheiros e um rebarbador, encontram-se com os EPI's: máscara PFF-1, protetores auriculares, óculos de acrílico e luvas térmicas.

¹ Respirador semifacial em formato concha, indicado na proteção contra poeiras e névoas tóxicas classe PFF-1 e gás fluoreto de hidrogênio em concentração até o limite de tolerância.

Figura 13 – Planta do local de produção das peças metálicas, Empresa 2.

- **P 1E #** - ponto estático 1 – área de *fusão e vazamento*, **forno**.
- **P 2E #** - ponto estático 2 – área de *rebarba*, **rebarba**.
- **P 3I^A** - coletas individuais – área de *fusão e vazamento*, **coqueiros**.
- **P 4I^A** - coleta individual – área *macharia*, **concheiros**.
- **P 5I^A** - coleta individual – área *fusão e vazamento*, **forneiro**.

Empresa 3

A forma de exposição aos metais na indústria envolvida no presente estudo está relacionada, de maneira geral, com o processo de fusão e vazamento, bem como, no setor de policorte, com o preparo da peça metálica. A descrição detalhada da empresa é apresentada a seguir.

4.2.1.1.3 Características da Empresa 3

Indústria com o total de 200 (duzentos) empregados. Destes, 06 (seis) indivíduos foram considerados expostos, 5 (cinco) situados no setor de fusão e vazamento e 1 (um) na área de policorte. O espaço, conforme imagem do local, ilustrado na **Figura 14**, é constituído de um galpão com pé direito de 15 metros, sem janelas, com ventilação natural e exaustores tipo eólicos no teto. Neste local funcionam dois fornos com sistemas de exaustão.

Os trabalhadores (n=5) utilizam no setor de fundição (fusão e vazamento) como equipamentos de proteção individual (EPI's): máscaras tipo PFF-2², protetores auriculares, avental, óculos de acrílico, luvas térmicas e botas de proteção. As **Figuras 15, 16 e 17** ilustram os setores onde os trabalhadores desenvolvem as atividades consideradas como as do grupo exposto.

Os dados abaixo ilustram os pontos de coletas escolhidos:

- P 1E [#] - ponto estático 1 – área de *fusão e vazamento, forno – lado esquerdo*.*
- P 2E [#] - ponto estático 2 – área de *fusão e vazamento, forno – lado direito*.*

² Respirador semifacial em formato concha, indicado na proteção contra poeiras, névoas tóxicas e fumos metálicos classe PFF-2 em concentração até o limite de tolerância.

- P 3I^Δ - coleta individual 1 – área de *fusão e vazamento, forneiro*.
- P 4I^Δ - coleta individual 2 – área de *fusão e vazamento, operador de vazamento automatizado*.
- P 5I^Δ - coleta individual 3 – área de *fusão e vazamento, coquilheiro*.
- P 6I^Δ - coleta individual 4 – área de *fusão e vazamento, coquilheiro*.
- P 7I^Δ - coleta individual 5 – área de *policorte, operador de policorte*.

* *Obs.*: posição frontal ao forno.

Figura 14 – Imagem do local da fundição, Empresa 3.

Figura 15 – Trabalhador operador de forno.

Figura 16 – Trabalhadores no setor de fusão e vazamento.

O trabalhador (n=1) do setor de policorte utiliza como equipamentos de proteção individual (EPI's): máscaras tipo PFF2, protetores auriculares, avental, óculos de acrílico, luvas térmicas e botas de proteção (**Figura 17**).

Figura 17 – Trabalhador no setor de policorte.

Em relação à prática laboral da atividade de fusão e vazamento esta é feita parte com auxílio de conquilhas e parte utilizando uma máquina automatizada que possibilita a manufatura de duas peças metálicas ao mesmo tempo. Este tipo de operação pode diminuir a magnitude de exposição aos fumos metálicos.

Observando-se a dinâmica de trabalho da área de policorte, onde um trabalhador realiza o procedimento de recorte das peças metálicas provindas do setor de fusão e vazamento percebe-se que o uso desta operação de policorte, comparado a outros processos produtivos que empregam a rebarbação e afinação das peças este fato pode gerar menor exposição ao trabalhador.

Empresa 4

A forma de exposição aos metais na indústria envolvida no presente estudo está relacionada, de maneira geral, com o processo de fusão e

vazamento, bem como, no setor de macharia, com o preparo do macho. Apresenta-se a descrição detalhada da empresa a seguir.

4.2.1.1.4 Características da Empresa 4

Indústria com o total de 773 (setecentos e setenta e três) empregados que inclui o setor produtivo e administrativo. Do setor avaliado, 15(quinze) indivíduos participaram da amostragem de fumos metálicos (coleta individual), mas de 25 trabalhadores expostos foram coletados sangue (determinação de chumbo no sangue) e urina (determinação de manganês, níquel e cádmio), sendo 9 coquilheiros, 6 trabalhadores que exercem a função de concheiro e coquilheiros ao mesmo tempo; 2 trabalhadores que são coquilheiros na coquilha automática; 1 forneiro; 1 concheiro; 2 macheiros, 1 rebarbador e dois auxiliares de produção sendo que todos eles executam suas funções na fundição (mesmo galpão), posicionados em 3 fornos eqüidistantes (com exceção dos trabalhadores da macharia).

Os trabalhadores, considerados expostos no total de $n=25$, utilizam no setor de fundição (fusão e vazamento, $n=19$) como equipamentos de proteção individual (EPI's): máscaras para material particulado do tipo PFF-1 (peça facial filtrante) ¹, protetores auriculares, avental, óculos de acrílico, luvas térmicas e botas de proteção. Os funcionários da macharia ($n= 4$), sendo quatro macheiros e um rebarbador encontram-se com os EPI's: máscara PFF-1, protetores auriculares, óculos de acrílico e luvas térmicas. Os funcionários do policorte ($n= 2$) encontram-se com os EPI's: máscara PFF-1, protetores auriculares, óculos de acrílico.

A **Figura 18** mostra um esquema do ambiente de trabalho avaliado, constituído basicamente de três fornos com os respectivos banhos de

grafite/água para resfriamento das coquilhas; 2 coquilhas automáticas; mesas onde o trabalhador exerce a função de concheiro e coquilheiro ao mesmo tempo; há também uma bancada ocupada por três coquilheiros que executam sua tarefa específica com o vazamento do fundente pelo concheiro nas coquilhas; há um setor de policorte e de esmerilhamento, bem como, o setor de macharia.

Figura 18 – Esquema do ambiente de trabalho avaliado.

A **Figura 19** retrata parcialmente o ambiente de trabalho do setor de fusão e vazamento.

Figura 19 - A flecha azul sinaliza o 1º forno (frontalmente é o primeiro à esquerda e ao lado deste tem as coquilhas automáticas); a flecha amarela sinaliza o 2º forno e ao lado deste há o 3º forno; as flechas vermelhas sinalizam os banhos de grafite/água para resfriamento da coquilha.

Observa-se na **Figura 20**, há grande quantidade de fumos metálicos presente no momento do vazamento do fundente na coquilha, por não haver um sistema de ventilação local exaustora. Na **Figura 21**, o coquilheiro retira a peça da coquilha.

Figura 20 - Coquilheiro despeja o fundente na coquilha automática.

Figura 21 - Coquilheiro retira a peça da coquilha automática.

Na **Figura 22** observa-se um trabalhador que exerce a função de concheiro e coquilheiro, simultaneamente.

Figura 22 - Concheiro e coquilheiro simultaneamente. Na lapela do trabalhador, filtro para coleta de fumos metálicos.

Já na **Figura 23** observa-se o trabalho do concheiro vazando o fundente nas coquilhas seguradas pelos coquilheiros (três exercem essa função neste local). Visualmente constata-se grande quantidade de fumos metálicos no local e não há ventilação local exaustora móvel.

Figura 23 - Concheiro vaza o fundente na coquilha (mesa comporta três coquilheiros). Coleta individual de fumos metálicos. Todos os quatro trabalhadores têm na região da zona respiratória, um filtro para coleta de fumos metálicos.

Os dados abaixo ilustram os pontos de coletas escolhidos:

- P 1I[#] - coleta individual 1 – área de fusão e vazamento, coquilheiro.
- P 2I[#] - coleta individual 2 – área de fusão e vazamento, coquilheiro.
- P 3I^Δ - coleta individual 3 – área de fusão e vazamento, concheiro/coquilheiro.
- P 4I^Δ - coleta individual 4 – *área de fusão e vazamento, operador de coquilha automatizada* .
- P 5I^Δ - coleta individual 5 – área de fusão e vazamento, coquilheiro e concheiro.
- P 6I^Δ - coleta individual 6 – área de fusão e vazamento, coquilheiro.

- P 7I^Δ - coleta individual 7 – área de fusão e vazamento, concheiro.
- P 8I^Δ - coleta individual 8 – área de fusão e vazamento, **coquilheiro somente.**
- P 9I^Δ - coleta individual 9 – área de fusão e vazamento, coquilheiro e concheiro.
- P 10I^Δ - coleta individual 10 – área de fusão e vazamento, coquilheiro .
- P 11I^Δ - coleta individual 11 – área de fusão e vazamento, coquilheiro e concheiro.
- P 12I^Δ - coleta individual 12 – *área de fusão e vazamento*, operador de **coquilha automatizada.**
- P 13I^Δ - coleta individual 13 – área de fusão e vazamento, coquilheiro e concheiro – 576.
- P 14I^Δ - coleta individual 14 – área de fusão e vazamento, coquilheiro e concheiro .
- P 15I^Δ - coleta individual 15 – área de fusão e vazamento, coquilheiro e concheiro.

4.2.2 Matriz ar

O método analítico utilizado na monitorização ambiental da exposição aos metais em estudo Pb, Cd, Mn e Ni foi a espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma induzido [ICP/OES]. Esta técnica analítica baseia-se no fato de que os elétrons dos átomos, mediante ganho de energia, saltam a camadas mais externas em relação ao núcleo atômico e voltam ao estado fundamental com emissão de determinada quantidade de energia. Esta emissão proporciona linhas espectrais que são particulares a cada elemento. O plasma como fonte de ionização é uma nuvem carregada de átomos ionizados que, mediante temperaturas entre 7000 e 15000 K, produz um maior número de átomos excitados e seus respectivos espectros oferecendo uma fonte adequada para a determinação simultânea de elementos, com ampla faixa de concentração

(KIILUNEN, 1994; APOSTOLI, 2002; HARRIS, 2002; NMAM-NIOSH, 2003; QUITERIO, *et al.*, 2005; WHATAB & YAGHI, 2004; SOUZA, *et al.*, 2006).

4.2.2.1 Coleta de amostras de ar do ambiente de trabalho

Com exemplo, têm-se a coleta realizada na **Empresa 1**, em que quatro bombas foram dispostas, duas em pontos estáticos - forno e área de vazamento (**Figura 24**), e outras de modo individual - coleta na zona respiratória (**Figura 25**). O período de coleta correspondeu a 80 % da jornada de trabalho. Vale ressaltar que estas coletas são importantes para investigar a presença dos metais e as concentrações nos locais de circulação dos trabalhadores da fundição.

Figura 24 - Coleta ponto estático.

Figura 25 - Coleta individual.

A coleta do ar na **Empresa 3** foi realizada dispondo-se sete bombas, duas em pontos estáticos – forno lado esquerdo e direito (**Figura 26**) e outras de modo individual - coleta respiratória (**Figura 27**). O período de coleta correspondeu a 80 % da jornada de trabalho.

Figura 26 - Coleta ponto estático.

Figura 27 - Coleta individual.

A estratégia de amostragem foi desenvolvida coletando-se as amostras em três dias consecutivos, de terça a quinta-feira, no período de 80 % da jornada de trabalho, com observação das temperaturas do local de trabalho e atenção às variações de umidade do ar e pressão atmosférica (PEIXE & NASCIMENTO, 2008).

4.2.2.2 Amostras de ar do ambiente de trabalho

As amostras de ar do ambiente de trabalho, provenientes de coletas com bombas de fluxo contínuo (marca SKC®, modelo 224-PCXR4), em pontos fixos e zona respiratória de trabalhadores. As bombas foram calibradas, utilizando-se calibrador SKC®, para fluxo de 2,0L/min e filtros de éstermetilcelulose (EC) Millipore®, com diâmetro de 37 mm e porosidade de 0,8 µm, montados em porta-filtros Millipore® e isolados com fita Teflon®, nos dias anteriores às coletas, conforme procedimento técnico da Fundacentro, NHO-07.³ As coletas foram realizadas em três dias consecutivos, com vazão de 2,0 L/min, num período correspondendo a 80% da jornada de trabalho (400 min), totalizando um

volume médio de 672 L. Após a coleta, os filtros de éster-metil-celulose (EC) foram transportados em caixas apropriadas e encaminhadas ao laboratório.

4.2.2.3 Método de análise dos teores de metais no ar

Posteriormente, os filtros foram digeridos em forno de microondas fechado CEM MARS de acordo com rampa de aquecimento descrito na **Tabela 1**, adicionando-se 2,0 mL de ácido nítrico 65%, 1,0 mL de peróxido de hidrogênio e 4,0 mL de água Milli-Q[®]. A solução resultante foi filtrada com Filtro Watman[®] 40 µm, 70 mm e transferida a tubo de poliestireno avolumando-se para 25,0 mL com água Mili-Q[®] (18,2 mΩ). A determinação dos metais foi realizada utilizando-se o espectrômetro de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP/OES - CIROS^{CCD} - Spectro Analytical Instruments). A tocha estava com disposição axial e as leituras operaram de modo simultâneo. Os parâmetros instrumentais empregados foram potência 1450 W, frequência 27,12 MHz, fluxo de Ar refrigerante 12L/min, fluxo de gás de Ar auxiliar de 1,0L/min, fluxo de gás de Ar de arraste de 0,95mL/min, introdução de amostra 1,5 mL e comprimentos de onda (nm): Pb 220,35; Cd 214,44; Ni 231,60; Mn 257,61.

Tabela 1 - Programa de aquecimento para digestão ácida assistida por microondas das amostras de filtros coletados.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (min)	Patamar (min)	Exaustão
1	100	05	10	1
2	180	05	05	1
3	180	10	25	2

³ Fundacentro – NHO 07. Calibração de bombas pelo método de bolhas de sabão. São Paulo: Fundacentro; 2002:32p.

4.2.3 Validação do método para a determinação de metais em amostras de ar

4.2.3.1 Limite de detecção

O limite de detecção do equipamento (*LDE*) é definido como a concentração do analito que produz um sinal de três a cinco vezes a razão ruído/sinal do equipamento. Estes foram calculados multiplicando-se o σ (desvio padrão) das dez leituras de absorbâncias do branco por 3 (três) e, posteriormente, considerou-se o volume de coleta de 80% da jornada de trabalho, igual a 672 L e o volume final da solução avolumada de 25,0 mL resultando-se em valores na unidade $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

4.2.3.2 Limite de quantificação

O Limite de Quantificação do equipamento (*LQE*) é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão. Pode ser considerado como sendo a concentração do analito correspondente ao valor da média do branco mais 5, 6 ou 10 desvios padrão. Estes foram calculados multiplicando-se o σ (desvio padrão) das dez leituras de absorbâncias do branco por 10 (dez) e, posteriormente, considerou-se o volume de coleta de 80% da jornada de trabalho, igual a 672 L e o volume final da solução avolumada de 25,0 mL resultando-se em valores na unidade $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

4.2.3.3 Linearidade

Foram construídas curvas analíticas com amostras adicionadas de soluções de referência preparadas nas concentrações de 0,04 – 20,0 mg/L [Pb; e Mn] e 0,02 – 10,0 mg/L [Ni, Cd]. A linearidade das curvas foi avaliada por

meio das equações da reta e coeficiente de determinação (r^2), o qual deve ser superior a 0,98.

4.2.3.4 Precisão intraensaio e interensaio

As precisões intra-ensaio e inter-ensaio foram determinadas por meio da determinação em seis replicatas de amostras adicionadas na concentração na unidade mg/L de Pb (1,2); Ni (0,3), Cd (0,3) e Mn (0,3). A precisão foi calculada indiretamente, por meio da imprecisão dada pelo coeficiente de variação (CV) das áreas relativas obtidas, sendo que o CV não deve ser superior a 15%.

4.2.3.5 Recuperação

Com objetivo de se avaliar a eficiência do método de digestão da amostra (filtros de éster-metil-celulose) e verificar possíveis alterações na determinação, amostras identificadas como controle foram analisadas. Por comparação da resposta obtida na adição prévia à extração *versus* a resposta da adição posterior à extração, obteve-se a porcentagem do analito recuperado.

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração amostra} \times 100}{\text{Concentração após adição}}$$

Amostras de filtros branco de éster-metil-celulose foram fortificadas, na concentração na unidade mg/L de Pb (1,2); Ni (0,3), Cd (0,3) e Mn (0,3).

4.2.3.6 Exatidão

Para o estudo da exatidão, foram determinadas as concentrações dos metais de acordo com as amostras de filtros certificadas em dois níveis II d e III d – 2676 (NIST/USA), considerando-se os seguintes metais : Pb, Mn e Cd. As

amostras foram processadas de acordo com os parâmetros e procedimentos expostos no item **4.2.2.3**. A inexatidão foi calculada pela tendenciosidade (*bias*) de acordo com a equação abaixo, não podendo ser superior a 15% (CHASIN *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2001; BRASIL, 2003).

$\text{Inexatidão \%} = \frac{\text{Conc. Obtida} - \text{Conc. Esperada}}{\text{Conc. esperada}} \times 100$

4.2.4 Análises dos pontos de coleta do ar

Foram coletadas amostras de filtros coletados nos seguintes pontos de coletas, conforme ilustram as **Figuras 24, 25, 26 e 27** e procedendo-se a análise em laboratório de acordo com a marcha analítica descrita no item **4.2.2.3**.

4.2.5 Segunda etapa, monitorização biológica

Foram coletadas amostras de sangue e urina de 105 (cento e cinco) indivíduos, sendo 55 (cinquenta e cinco) trabalhadores dos setores de fusão, vazamento, macharia, rebarba e policorte e 50 (cinquenta) funcionários considerados como grupo controle dos setores de montagem, embalagem e administração.

Todos os funcionários responderam ao questionário de avaliação de hábitos alimentares, uso de medicamentos, consumo de bebidas alcoólicas e estilo de vida (**Anexo I**). Além disso, para a participação no projeto assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Anexo II**). O protocolo de trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, conforme Ofício CEP nº 47/2007 (**Anexo III**).

4.2.5.1 Limites para realização da monitorização da exposição ao chumbo, cádmio, manganês e níquel

Para a avaliação da exposição ocupacional nos trabalhadores recomenda-se a realização da monitorização biológica, que consiste em avaliar os níveis da substância em questão ou o produto de biotransformação ou ainda um efeito precoce em amostras de fluídos biológicos, sangue ou urina.

No caso em questão a legislação nacional através da Norma Regulamentadora N° 7 (BRASIL, 1994), propõe limites apenas para a exposição ao chumbo e para o cádmio.

Na monitorização biológica frente a exposição ocupacional ao chumbo, o indicador biológico mundialmente utilizado é o chumbo sanguíneo. A ACGIH (2007) adota como valor máximo para o chumbo sanguíneo $30\mu\text{g/dL}$, com nota especial que diz: “Mulheres em idade fértil, cujo chumbo no sangue exceda $10\mu\text{g/dL}$, correm o risco de gerar uma criança com taxa de chumbo no sangue acima de $10\mu\text{g/dL}$, que é o guia estabelecido pelo Centro de Controle de Doenças (CDC-USA). Se a taxa de chumbo no sangue destas crianças permanecer elevada, poderão correr o risco de ter um aumento no déficit cognitivo. O chumbo no sangue destas crianças deve ser monitorizado com frequência e medidas apropriadas devem ser tomadas para minimizar a exposição ao chumbo proveniente do ambiente” (ACGIH, 2007).

No entanto, no Brasil, de acordo com a NR-7, os parâmetros para controle biológico da exposição ao chumbo inorgânico incluem indicadores de exposição e de efeito, sendo o limite para chumbo sanguíneo consideravelmente maior que o adotado pela ACGIH (2007). Os limites para

monitorização biológica propostos internacional e nacionalmente podem ser observados no **Quadro 1**.

Quadro 1: Indicadores biológicos para o chumbo, e seus respectivos limites recomendados internacional e nacionalmente.

Indicador biológico	Valor de Referência	Valor limite
Pb-S (ACGIH, 2007)	-----	30 µg/dL
Pb-S (BRASIL, 1994)	40 µg/dL	60 µg/dL
ALA-U (BRASIL, 1994)	4,5 mg/g creatinina	10 mg/g creatinina
ZPP-S (BRASIL, 1994)	40 µg/dL	100 µg/dL

Notas: IBMP – Índice Biológico Máximo Permitido. Pb-S - Chumbo sanguíneo. ALA-U - Ácido Deltaminolevulínico urinário. ZPP-S Zincoprotoporfirina sanguínea.

Para o cádmio a NR-7, recomenda a determinação de cádmio urinário para a realização da monitorização biológica, e estabelece como VR (Valor de Referência) 2 µg/g de creatinina e o IBMP (Índice Biológico Máximo Permitido) de 5 µg/g de creatinina (BRASIL, 1994). A ACGIH (2007) propõe como limite para cádmio urinário, o mesmo valor adotado no Brasil para o IBMP e inclui a determinação de cádmio sanguíneo, com o limite de 5 µg/L.

Para o manganês e para o níquel não são descritos limites nacionais nem internacionais, desta forma, com a finalidade comparativa, consideraram-se valores de literatura que incluem a avaliação de manganês urinário (Mn-U) e níquel urinário (Ni-U) em trabalhadores. O **Quadro 2** resume os limites para monitorização biológica aos metais urinários.

Quadro 2: Indicadores biológicos de exposição para os metais urinários.

Metal	NR-7		ACGIH
	VR [#] (µg/g creat.)	IBMP (µg/g creat.)	BEI * (µg/g creat.)
Cd	2	5	5
Mn	3	10,2	-
Ni	0,2	5,6	-

Notas: IBMP – Índice Biológico Máximo Permitido. VR – valor de referência. * BEI – Biological Exposure indicator. [#] VR: trabalhos científicos (µg/L) (OLIVEIRA *et al.*, 2000; BURGOA *et al.*, 2001; APOSTOLI, 2002).

4.2.6 Matrizes biológicas

O método analítico a ser utilizado na monitorização biológica de exposição aos metais em estudo, Pb, Cd, Mn e Ni utiliza a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite [EAAFG]. A técnica de espectrometria de absorção atômica baseia-se na idéia de que átomos no estado fundamental absorvem energia mediante uma fonte de radiação, e isto ocorre em um determinado comprimento de onda. Assim, quanto maior o número de átomos maior será a absorção. Usando-se soluções de referência, com concentrações específicas dos metais, pode-se construir uma curva de calibração a qual é utilizada na construção de um gráfico de absorbância versus concentração dos metais e, posteriormente, a equação da reta para uso nas quantificações (KIILUNEN, 1994; APOSTOLI, 2002; HARRIS, 2002).

A **Tabela 2** apresenta parâmetros importantes relacionados à otimização analítica para determinação dos metais em questão, em fluídos biológicos, empregando a técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite [EAAFG].

Tabela 2 - Pb, Cd, Mn e Ni em matrizes biológicas (APOSTOLI, 2002; HARRIS, 2002; SANTOS, 2004)

Parâmetro utilizado	Cd-U	Mn-U	Ni-U	Pb-S
Diluição da urina, sangue	1:2	1:2	1:2	1:10
Concentração de trabalho	2,0 µg/L	50 µg/L	100 µg/L	50 µg/L
Modificador de matriz	Paládio 5 µL	Sem modificador	Paládio 5µL	H ₂ NH ₄ HPO ₄ /Triton x 100
Temperatura de pirólise	500 °C	1300 °C	1000 °C	850 °C
Temperatura de atomização	1300°C	2000 °C	2300 °C	1600 °C
Matriz de análise	Urina	Urina	Urina	Sangue

4.2.7 Parâmetros de instrumentação do equipamento EAA/FG

As determinações de Pb, Cd, Mn e Ni foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica, modelo Analyst[®] 800 (Perkin Elmer, Estados Unidos), equipado com sistema de correção de fundo baseado no efeito Zeeman, atomizador recoberto com grafite pirolítico aquecido transversalmente e plataforma de grafite pirolítico. O espectrômetro foi operado com as lâmpadas - de catodo oco (HCL) para o Ni ($\lambda = 232,0$ nm, $i = 18$ mA); Mn ($\lambda = 232,0$ nm, $i = 32$ mA) e descarga sem eletrodos (EDL) para o Pb ($\lambda = 283,3$ nm, $i = 39$ mA); (Cd (228,8 nm, $i = 12$ mA). Todas as medidas foram baseadas em valores de absorbância integrada. Como gás de purga foi utilizado argônio 99,9998 % v/v (Air Liquide – São Paulo).

4.2.7.1 Parâmetros de otimização

Amostras de metais em soluções aquosas foram submetidas aos procedimentos de escolha das temperaturas de pirólise e atomização, em função do tipo de metal, das matrizes e as faixas de análises.

4.2.8 Validação do método para a determinação de metais em amostras de sangue e urina.

4.2.8.1 Limite de detecção

O limite de detecção é definido como a concentração do analito que produz um sinal de três a cinco vezes a razão ruído/sinal do equipamento. Estes foram calculados multiplicando-se o σ (desvio padrão) das dez leituras de absorbâncias do branco por 3 (três).

4.2.8.2 Limite de quantificação

O Limite de Quantificação é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão. Pode ser considerado como sendo a concentração do analito correspondente ao valor da média do branco mais 5, 6 ou 10 desvios padrão. Estes foram calculados multiplicando-se o σ (desvio padrão) das dez leituras de absorbâncias do branco por 10 (dez).

4.2.8.3 Linearidade

Foram construídas curvas analíticas com amostras adicionadas de soluções de referência preparadas nas concentrações de 5 – 50 $\mu\text{g/dL}$ [Pb]; 0,2 – 2,0 $\mu\text{g/L}$ [Cd]; 2,0 – 20,0 $\mu\text{g/L}$ [Mn] e 5,0 – 20,0 $\mu\text{g/L}$ [Ni] em solução aquosas. A linearidade das curvas foi avaliada por meio das equações da reta e coeficiente de determinação (r^2), o qual deve ser superior a 0,98.

4.2.8.4 Precisão intra-ensaio e interensaio

As precisões intra-ensaio e inter-ensaio foram determinadas por meio da determinação em seis replicatas de amostras adicionadas na concentração de Pb [15,0 e 35,0 $\mu\text{g/dL}$]; Ni [7,5 e 15,0], Cd [0,35 e 1,25] e Mn [7,5 e 17,5] $\mu\text{g/L}$ em solução aquosa. A precisão foi calculada indiretamente, por meio da imprecisão dada pelo coeficiente de variação (CV) das áreas relativas obtidas, sendo que o CV não deve ser superior a 15%.

4.2.8.5 Recuperação

Foram analisadas amostras de referência com o objetivo de se avaliar o comportamento das mesmas em função dos parâmetros otimizados. Com a

resposta obtida *versus* a resposta informada nos materiais certificados obtiveram-se as porcentagens do analito recuperado.

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração amostra} \times 100}{\text{Concentração amostra de referência}}$$

Amostras de referência NIST[®] (National Institute of Standards and Technology) - SRM 955b, chumbo em sangue bovino e SRM 2670a, Mn, Ni e Cd em urina. Concentrações de referência, na unidade ug/dL: Pb [4,04; 10,30; 20,59; 39,36]; Ni [100,0], Cd [4,862] e Mn [99,0] µg/L foram utilizadas no ensaio de recuperação.

4.2.8.6 Exatidão

Para o estudo da exatidão, foram determinadas as concentrações dos metais de acordo com as amostras certificadas SRM 955b, chumbo em sangue bovino e SRM 2670a, Mn, Ni e Cd em urina (NIST/USA). As amostras foram submetidas aos parâmetros e procedimentos expostos na **Tabela 2**. A inexatidão foi calculada pela tendenciosidade (*bias*) de acordo com a equação abaixo, não podendo ser superior a 15% (Chasin *et al.*, 1998; Queiroz *et al.*, 2001; BRASIL, 2003).

$$\text{Inexatidão \%} = \frac{\text{Conc. Obtida} - \text{Conc. Esperada} \times 100}{\text{Conc. esperada}}$$

4.2.8.7 Determinação da densidade e da creatinina urinária

As amostras de urina foram corrigidas e ajustadas pela medição da densidade e a determinação da creatinina urinária. A densidade foi medida com auxílio de um urodensímetro e os teores de creatinina foram determinados por método espectrofotométrico utilizando-se um “Kit” da marca Labtest[®].

4.2.9 Terceira etapa, metodologia para determinação de MDA em plasma e 8-oxodGuo em DNA de leucócitos de trabalhadores

4.2.9.1 Determinação de malondialdeído em plasma de trabalhadores

O teste de TBA quantifica o malondialdeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo – o MDA é um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3. A **Figura 28** ilustra a reação do MDA + TBA, a qual possibilita a formação de um complexo TBA-MDA o qual é lido em comprimento de onda de 532 nm. A formação do composto TBA-MDA, na proporção de 2:1, é possivelmente iniciada pelo ataque nucleofílico, envolvendo o carbono 5 do TBA e o carbono 1 do MDA, seguido de desidratação e reação similar subsequente do composto intermediário com uma segunda molécula de TBA, na proporção de 1:16 (NIELSEN *et al.*, 1997).

Figura 28 – reação de formação do complexo MDA-TBA.

4.2.9.1.1 Método para determinação de MDA em plasma de trabalhadores

O bisdietilacetato de malondialdeído (22 mg) foi dissolvido em 10 mL de H_2SO_4 1% (v/v). A solução ficou em repouso por 2 horas em temperatura ambiente. Em seguida, foram avolumados 10 μL dessa solução para 1000 μL de H_2SO_4 1%. A concentração de MDA estoque foi determinada medindo-se a absorbância a 245 nm contra um branco de H_2SO_4 1%, utilizando-se a equação de Laber Beer $\varepsilon = b.C.A$ (onde b é o caminho óptico, C a concentração e A a absorbância, $\varepsilon = 13670$). Para construção da curva de calibração foram preparadas soluções de MDA nas concentrações de 0,05; 0,10; 0,50; 1,0; 2,0; 4,0 μM em pool de plasma, num volume de 250 μL ($n=8$). Em seguida, adicionou-se 25 μL de BHT (Butil-hidroxitolueno), volume de 1,0 mL de TCA 5% (ácido tricloroacético), com posterior centrifugação a 4.000 rpm/ 10 min. Retirou-se 700 μL do sobrenadante, acrescentando 500 μL de TBA (0,6 % em HCL 0,2 N: H_2O , 2:1) com posterior incubação por 50 minutos a 80 °C. Após a incubação, o aduto (fase rósea) foi transferido 300 μL para vial de HPLC, filtrado com Millex® (Millipore®), 22 μm . Um volume de 50 μL foi injetado no sistema cromatográfico (HPLC/PDA/UV-Vis).

4.2.9.1.2 Condições cromatográficas para determinação de MDA em plasma por HPLC

O sistema cromatográfico era composto por um sistema quaternário de bombas LC-10 AT, módulo controlador SCL-10A, degaseificador DGV-14A, forno de coluna CTO-10AS, auto-injetor SIL-10AF e detector de arranjo de diodos (DAD) SPD-M10A. O sistema foi controlado pelo programa LC Solution (Shimadzu, Kyoto, Japão). A separação foi realizada em uma coluna Luna® (C 18, 150 x 4,6 mm, d.i. 5 μm).

Os cromatogramas foram monitorados em 532 nm, com aquisição de dados de varredura entre 500 e 580 nm. Foram injetados 50 µL da amostra, com eluição isocrática com fluxo de 1,0 mL/min de fase móvel composta por metanol:NaHPO₄ 50mM pH = 7,0. O forno foi mantido a 30 °C durante a análise.

4.2.10 Validação do método para a determinação de MDA (malondialdeído) em plasma humano

Para a padronização do método analítico foi utilizado um *pool* de plasma de voluntários sadios (n = 6), acadêmicos da Universidade de São Paulo, não possuindo histórico de contato com exposição a fumos metálicos, não fumantes e sem uso de medicação.

4.2.10.1 Limite de detecção

O limite de detecção (LD) foi determinado por diluições sucessivas da amostra adicionada de MDA até a menor concentração detectável, na qual foi possível obter picos integrados pelo equipamento, nas condições cromatográficas otimizadas em seis replicatas e coeficiente de variação menor que 20 % (CAUSON, 1997; CHASIN *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2001; ANVISA, 2003).

4.2.10.2 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LD) foi determinado por diluições sucessivas da amostra adicionada de MDA até a menor concentração detectável, na qual foi possível obter picos integrados pelo equipamento, nas condições cromatográficas otimizadas em seis replicatas e coeficiente de variação menor

que 10 % (CAUSON, 1997; CHASIN *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2001; ANVISA, 2003).

4.2.10.3 Linearidade

Foram construídas curvas analíticas com amostras adicionadas de soluções de referência preparadas nas concentrações de 0,05 – 4,00 μM de MDA em plasma. A linearidade das curvas foi avaliada por meio das equações da reta e coeficiente de determinação (r^2), o qual deve ser superior a 0,98 (QUEIROZ *et al.*, 2001; ANVISA, 2003).

4.2.10.4 Precisão intraensaio e interensaio

As precisões intra-ensaio e interensaio foram determinadas por meio da extração em seis replicatas de amostras fortificadas nas concentrações plasmáticas de 0,30 e 3,00 μM . A precisão foi calculada indiretamente, por meio da imprecisão dada pelo coeficiente de variação (CV) das áreas relativas obtidas, sendo que o CV não deve ser superior a 15% (CAUSON, 1997; CHASIN *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2001).

4.2.10.5 Recuperação

Com objetivo de se avaliar a eficiência do método de extração da amostra, após esta ter sido processada conforme descrito no item **4.2.9.1.1**, e, verificarem-se possíveis alterações na determinação, amostras identificadas como controle foram analisadas. Por comparação da resposta obtida na adição prévia à extração *versus* a resposta da adição posterior à precipitação com ácido tricloroacético 5,0%, obteve-se a porcentagem do analito recuperado (CAUSON, 1997; CHASIN *et al.*, 1998; BRASIL, 2003).

Recuperação =	$\frac{\text{Concentração amostra} \times 100}{\text{Conc. após adição de padrão}}$
---------------	---

4.2.10.6 Exatidão

A inexatidão foi calculada pela tendenciosidade (*bias*) de acordo com a equação abaixo, não podendo ser superior a 15% (CHASIN *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2001; BRASIL, 2003).

Inexatidão % =	$\frac{\text{Conc. Obtida} - \text{Conc. Esperada} \times 100}{\text{Conc. esperada}}$
----------------	--

As amostras foram homogeneizadas e adicionadas de MDA (malondialdeído) em diferentes concentrações, para a escolha dos pontos da curva analítica e estudo dos parâmetros de validação, submetido ao procedimento descrito no item **4.2.9.1.1**.

4.2.11 Determinação de 8-oxodGuo em DNA de leucócitos de trabalhadores

A amostra de sangue periférico total colhida com Heparina-Li/7,5mL é homogeneizada, por inversão, e transferida com pipeta de 1 mL para um tubo cônico e centrifugada a 4 ° C em 1500g/5min. Com o auxílio de pipeta automática (100uL) – ponteira estéril – despreza-se o plasma. Adiciona-se ao sedimento 2000 uL do tampão pH 7,5 (320 mM de sacarose, 5 mM de MgCl₂, 10 mM de Tris HCl, 0,1 mM de desferroxamina e Triton X 100 2,5%), garantindo a lise das hemácias. Repete-se por três vezes o procedimento a 1500 g/10 minutos. Descartar-se o sobrenadante por inversão, adicionando-se 1000 uL do tampão pH 8,0 (10 mM de Tris HCl, 5 mM de EDTA-Na₂, 0,15 mM de desferroxamina) e 20 uL de SDS (10%). Posteriormente, adiciona-se 3 uL de

RNase A (em tampão C) e 1 uL de RNase T1 (em tampão C). Incuba-se a 37°C por 1h.

Após a incubação, adiciona-se 10 uL de proteinase K Incuba-se a 37°C por 1h, centrifugando a 5000g/15 minutos. Coleta-se o sobrenadante em tubos brancos, acrescenta-se 1500 uL de isopropanol 60% (freezer) e 500 uL de NaI. O precipitado de DNA, obtido sob agitação, é mantido por uma noite, sendo que no dia seguinte, é centrifugado a 5000g/15 min a 4°C, desprezando-se o sobrenadante e adicionando-se 1500 uL de isopropanol 60% (freezer), com segunda centrifugação a 5000g/15 min a 4°C. A solução resultante é adicionada de 1500 uL etanol a 70% (freezer), centrifugada a 5000g/15 min e o sobrenadante é desprezado. Ressuspende-se o DNA com 200 µL de desferroxamina. A solução de DNA é armazenada a -20 °C. Confirma-se a quantidade de DNA extraído, de modo semi-quantitativo, procedendo-se a diluição 100X (10 uL /990 uL H₂O) e determinação por Espectrofotometria UV/VIS na faixa de comprimento de onda de UV/260nm - 280nm λ, cuja razão deve ser superior a 1,7.

O DNA extraído é hidrolisado enzimaticamente para subsequente análise por HPLC/ED. Um total de 2 pmol do padrão interno (padrão isotópico do aduto a ser quantificado), 10 µL de Tris-HCl 0,2 M (pH=7,4), 10 uL de MgCl₂ 0,2M e 2,5 u DNase 1 são adicionados com posterior incubação a 37°C/ 1 h a uma alíquota de solução contendo 50 µg de DNA. Em seguida, são adicionados 2 µL de fosfodiesterase 1 (PDE1) 0,002 U e incubação a 37°C/ 1,5h e 2 µL de fosfatase alcalina 5U. A amostra é incubada a 37 °C por 1 hora. O volume final da solução é ajustado para 300 µL com água Milli-Q®. As quantidades de reagentes e padrão interno [¹⁵N₅] são proporcionalmente ajustadas para hidrólise e análise de outras quantidades de DNA.

4.2.11.1 Condições cromatográficas para determinação de 8-oxodGuo em DNA extraídos de leucócitos, por HPLC/ED

O sistema cromatográfico (Shimadzu, Kyoto, Japão) era composto por um sistema quaternário de bombas LC-10 AT, módulo controlador SCL-10A, degaseificador DGV-14A, forno de coluna CTO-10AS, auto injetor SIL-10AF e detector eletroquímico (Colochem III, ESA, Cella Analítica 5010A, Chemsford, MA), como descrito por HERMIDA *et al.*, 2006. O sistema foi controlado pelo programa LC Solution (Shimadzu, Kyoto, Japão). A separação foi realizada em uma coluna Luna® (C 18, 250 x 4,6 mm, d.i. 5 µm).

Os cromatogramas foram monitorados, inicialmente, em 252 nm no PDA para a determinação da curva de calibração da dG (deoxiguanosina), com aquisição de dados de varredura entre 200 e 300 nm. Posteriormente, a amostra foi introduzida no detector eletroquímico, que avalia a geração de oxidação na base guanina, nos seguintes potenciais aplicados às celas analíticas (eletrodo n° 1 - 205 mV e eletrodo 2 – 275 mV). Foram injetados 40 µL da amostra, eluição isocrática e fluxo de 0,6 mL/min de fase móvel composta por Acetato de Lítio 25mM:Acetonitrila 95:05, pH = 4,1, ajuste de pH com H₃PO₄ 25mM. O forno foi mantido a 30 °C durante a análise.

4.3 Análises estatísticas

4.3.1 Amostras de ar

Realizaram-se análises estatísticas descritivas para cada agente e variáveis: função, empresa e ponto de coleta. Em cada variável calcularam-se as medidas centrais e de dispersão. Para representar graficamente estes resultados foram utilizados gráficos tipo “Box Plot”.

Nas comparações das Empresas, segundo as concentrações varias médias dos diferentes elementos utilizou-se o teste paramétrico Análise de Variância (ANOVA), com um fator e, aplicou-se o teste de Scheffe para identificar as diferenças encontradas.

Ao compararem-se as concentrações médias nos diferentes modos de coleta (individual ou estático), adotou-se o teste paramétrico T-Student., considerando-se a dispersão dos dados (variâncias iguais ou não). O nível de significância para as diferenças estatísticas encontradas foi fixado em 5 % ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas pelo software SAS versão 9.2.0.

4.3.2 Amostras biológicas

Realizou-se uma analise estatística descritiva para cada agente para as seguintes variáveis: indivíduos controles, expostos, tabagismo e tempo na função. Para cada variável calculou-se as medidas centrais e de dispersão. Para representar graficamente estes resultados, utilizou-se o gráfico tipo “Box Plot”. Também testou-se a relação linear entre o Pb-S e MDA plasmático através do coeficiente de correlação de Pearson, considerando-se a significância de $p \leq 0,05$.

Para cada agente químico e concentrações nas matrizes biológicas respectivas e a variável função, realizaram-se análises estatísticas descritivas. Em cada variável calcularam-se as medidas centrais e de dispersão. Para representar graficamente estes resultados foram utilizados gráficos tipo “Box Plot”. O nível de significância para as diferenças estatísticas encontradas foi fixado em 5 % ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas pelo software SAS versão 9.2.0.

4.3.3 Correlações estatísticas

4.3.3.1 Correlações dos metais no ar e metais em matrizes biológicas

Realizaram-se análises estatísticas de correlação linear e regressão simples para cada agente, com as seguintes variáveis: **independente** – Metais Ar e **dependente** – metais em matrizes biológicas. Para cada variável calculou-se as respectivas regressões lineares simples cujo modelo foi testado através do teste F de Snedecor, obtendo-se a equação $y = \text{parâmetro estimado} * \text{metal Ar}$ ($y = a * x$). Para representar graficamente estes resultados utilizou-se o gráfico de regressão linear obtida, considerando-se a significância de $p \leq 0,05$.

Para se avaliar a normalidade das variáveis de regressão linear aplicou-se o teste Shapiro-Wilk, testando a Normalidade das variáveis. As hipóteses deste teste são: A hipótese nula = os dados tem distribuição Normal e a hipótese alternativa = os dados não tem distribuição normal. A hipótese nula será aceita se o valor de p for igual ou maior que 0.05 ($p \geq 0.05$). As análises foram realizadas pelo software estatístico SAS versão 9.2.0.

4.3.3.2 Correlações dos metais no ar e a função de risco

Após ajustar um modelo de regressão linear simples entre os metais no ar e metais em matrizes biológicas, introduziu-se uma nova variável ao modelo, que mede o risco da ocupação do trabalhador. Criou-se uma escala graduada crescente (1, 2, 3 a 4), assumindo-se: 1 – não expostos; 2 – concheiro/coquilheiro automático e macheiro; 3 – concheiro e coquilheiro e 4 – forneiro. Realizaram-se análises estatísticas de correlação linear e regressões múltiplas para cada agente, com as seguintes variáveis: **independente** – Metais

Ar e as funções de risco e **dependente** – metais em matrizes biológicas. Para cada variável calculou-se as respectivas regressões lineares múltiplas considerando-se a sua significância através do teste F de Snedecor, obtendo-se a equação $y = \text{parâmetro estimado} * \text{metal Ar} + \text{parâmetro estimado} * \text{risco}$ ($y = a*x_1 + b*x_2$). O nível de significância adotado para as diferenças estatísticas encontradas e ajuste dos modelos foi fixado em 5 % ($p \leq 0,05$).

Para se avaliar a normalidade das variáveis de regressão linear aplicou-se o teste Shapiro-Wilk, testando a Normalidade das variáveis. As hipóteses deste teste são: A hipótese nula = os dados tem distribuição Normal e a hipótese alternativa = os dados não tem distribuição normal. A hipótese nula será aceita se o valor de p for igual ou maior que 0.05 ($p \geq 0.05$). As análises foram realizadas pelo software estatístico SAS versão 9.2.0.

5 Resultados

5.1 Resultados da validação do método para a determinação de metais em amostras de ar

5.1.1 Limite de detecção

Para as análises de Pb, Ni, Cd e Mn em amostras de filtros de éster-metil-celulose os limites de detecção (LD) foram respectivamente: 0,4; 3,8; 1,0 e 0,5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

5.1.2 Limite de quantificação

Para as análises de Pb, Ni, Cd e Mn em amostras de filtros de éster-metil-celulose os limites de quantificação (LQ) foram respectivamente: 1,3; 12,7; 3,2; 1,3 e $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

5.1.3 Linearidade

As curvas de calibração apresentaram-se lineares nas faixas de concentração informadas. As equações de regressão linear e o coeficiente de determinação foram: (Pb) $y = 11104x + 3798$, $r^2 = 0,999$; (Mn) $y = 35780x + 27687$, $r^2 = 0,999$; (Ni) $y = 55067x + 7288$, $r^2 = 0,999$; (Cd) $y = 13363x + 9252$, $r^2 = 0,999$.

5.1.4 Precisão intra-ensaio e interensaio

Os resultados obtidos em relação à precisão intra-ensaio, com seus respectivos CV em porcentagem (%) são apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Precisão intra e interensaios para a determinação dos metais.

Metal	C (mg/L)	Precisão intra-ensaio *		Precisão interensaio **	
		C.V. (%)	D.P.	C.V. (%)	D.P.
Pb	1,2	2,0	0,03	1,8	0,02
Ni	0,3	2,8	0,08	3,0	0,11
Cd	0,3	3,3	0,12	2,7	0,09
Mn	0,3	2,2	0,02	3,0	0,11

* Média dos valores das análises em seis replicatas. ** Valores calculados para 3(três) dias. C.V. – Coeficiente de variação. D.P. – Desvio Padrão.

5.1.5 Recuperação

Os resultados para o parâmetro recuperação, em porcentagem (%), obtidos para cada metal Pb; Ni, Cd e Mn foram, respectivamente: 113,3 %; 110,0 %; 105,0 % e 106,7 %.

5.1.6 Exatidão

A exatidão do método é representada pela tendenciosidade, através do cálculo da inexatidão (CHASIN *et al.*, 1998), apresentada na **Tabela 4**.

Tabela 4 - Cálculo da inexatidão.

Metal	C (µg/filtro) - II d	C.V. (%)	C (µg/filtro) – III d	C.V. (%)
Pb	13,3	8,7	27,4	7,9
Cd	2,4	13,4	9,5	8,2
Mn	9,1	7,0	20,0	1,0

* Média dos valores das análises em seis replicatas.
C.V. – Coeficiente de variação.

5.1.7 Análises dos pontos de coleta do ar

A **Tabela 5** apresenta os valores médios em µg/m³ para os metais nos filtros coletados na **Empresa 1**.

Tabela 5 - Valores médios em µg/m³ para os metais nos filtros coletados e os valores preconizados pela ACGIH, **Empresa 1**.

Metal	L. D.	L. Q.	C (µg/m ³)				Limite
			P 1E [#]	P 2E [#]	P 3I ^Δ	P 4I ^Δ	ACGIH ^{!!}
Pb	0,4	1,3	132,64 ± 125,09	10,8 ± 7,6	2,6 ± 1,4	36,4 ± 6,3	50,0
Ni	3,8	12,7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	50,0^Ω
Cd	1,0	3,2	28,3 ± 3,2	N.D.	N.D.	19,8 ± 1,8	10,0^Ω
Mn	0,5	1,3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	20,0

Valor médio em triplicata. **C. V.** < 2,0 %; [#] estático; ^Δ individual; ^Ω **Cd e Ni** – os valores correspondem às frações totais inaláveis. **N. D.** – Inferior ao Limite de Quantificação ^{!!} Valor **TLV-TWA** (*Threshold Limit Value - Time Weighted Average / Média Ponderada pelo Tempo*) - Limite de exposição para um dia normal de trabalho (8 horas) ou semana (40 horas). **P 1E[#]** - ponto estático 1 – área de *fusão e vazamento, forno*. **P 2E[#]** - ponto estático 2 – área de *fusão e vazamento, vazamento*. **P 3I^Δ** - coleta individual 1 – área de *fusão e vazamento, operador de vazamento*. **P 4I^Δ** - coleta individual 2 – área de *macharia em casca, operador de vazamento*.

Tabela 6 - Valores médios em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados e os valores preconizados pela ACGIH, **Empresa 2**.

Metal	L. D.	L. Q.	C ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)					Limite
			P 1E [#]	P 2E [#]	P 3I ^Δ	P 4I ^Δ	P 5I ^Δ	ACGIH ^{!!}
Pb	0,4	1,3	20,94 ± 5,05	325,11 ± 44,58	30,16 ± 6,82	44,46 ± 1,34	58,68 ± 29,35	50,0
Ni	3,8	12,7	N.D.	32,62 ± 7,82	N.D.	N.D.	3,99 ± 2,15	50,0^Ω
Cd	1,0	3,2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	10,0^Ω
Mn	0,5	1,3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	20,0

Valor médio em triplicata. C. V. < 2,0 %; [#] estático; ^Δ individual; ^Ω Cd e Ni – os valores correspondem às frações totais inaláveis. N. D. – Inferior ao Limite de Quantificação ^{!!} Valor TLV-TWA (*Threshold Limit Value - Time Weighted Average / Média Ponderada pelo Tempo*) - Limite de exposição para um dia normal de trabalho (8 horas) ou semana (40 horas). P 1E[#] - ponto estático – área de fusão e vazamento, **forno**. P 2E[#] - ponto estático – área de rebarba, **rebarba**. P 3I^Δ - coleta individual – área de fusão e vazamento, **coquilheiro**. P 4I^Δ - coleta individual – área de fusão e vazamento, **concheiro**. P 5I^Δ - coleta individual – área de fusão e vazamento, **forneiro**.

A **Tabela 7** ilustra os valores médios obtidos em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados de acordo com os respectivos pontos de coleta, **Empresa 3**.

Tabela 7 - Valores médios em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados e os valores preconizados pela ACGIH, **Empresa 3**.

Metal	L. D.	L. Q.	C ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)							Limite
			P 1E [#]	P 2E [#]	P 3I ^Δ	P 4I ^Δ	P 5I ^Δ	P 6I ^Δ	P 7I ^Δ	ACGIH ^{!!}
Pb	0,4	1,3	11,0 ± 1,2	9,4 ± 5,9	27,9 ± 4,4	25,5 ± 7,8	26,9 ± 21,1	19,6 ± 12,5	55,9 ± 28,8	50,0
Ni	3,8	12,7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2,5 ± 2,1	100,0^Ω
Cd	1,0	3,2	N.D.	N.D.	N.D.	0,6 ± 0,3	1,2 ± 0,8	1,5 ± 0,5	N.D.	10,0^Ω
Mn	0,5	1,3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,9 ± 0,5	N.D.	200,0

* Valor médio em triplicata. C. V. < 2,0 %; [#] estático; ^Δ individual; ^Ω Cd e Ni – os valores correspondem às frações totais inaláveis. N. D. – Inferior ao Limite de Detecção. ^{!!} Valor TLV-TWA (*Threshold Limit Value - Time Weighted Average / Média Ponderada pelo Tempo*) - Limite de exposição para um dia normal de trabalho (8 horas) ou semana (40 horas).

A **Tabela 8** ilustra os valores médios obtidos em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados de acordo com os respectivos pontos de coleta, **Empresa 4**.

Tabela 8 - Valores médios em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para os metais nos filtros coletados e os valores preconizados pela ACGIH, **Empresa 4**.

Metal	L. D.	L. Q.	C ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)															Limite
			P 1I [#]	P 2I [#]	P 3I [#]	P 4I [#]	P 5I [#]	P 6I [#]	P 7I [#]	P 8I [#]	P 9I [#]	P 10I [#]	P 11I [#]	P 12I [#]	P 13I [#]	P 14I [#]	P 15I [#]	
Pb	0,4	1,3	19,7 ± 8,6	6,0 ± 5,3	12,9 ± 7,3	9,3 ± 6,0	16,1 ± 9,3	20,3 ± 4,2	10,6 ± 6,0	21,9 ± 4,4	23,9 ± 9,5	22,8 ± 20,4	25,0 ± 16,6	14,3 ± 7,3	1,7 ± 1,3	30,0	26,3	50,0
Ni	3,8	12,7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	100,0^Ω
Cd	1,0	3,2	N.D.	1,6 ± 0,9	0,6 ± 0,1	N.D.	N.D.	0,4 ± 0,2	1,2 ± 0,3	5,0 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,3	1,2 ± 0,3	0,9 ± 0,5	0,4 ± 0,2	4,4	4,8	10,0^Ω
Mn	0,5	1,3	0,9 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,9 ± 0,1	N.D.	0,8 ± 0,5	1,2 ± 0,3	0,2 ± 0,1	1,7 ± 0,5	0,6 ± 0,5	N.D.	2,5 ± 1,4	N.D.	N.D.	0,7	1,4	200,0

* Valor médio em triplicata. C. V. < 2,0 %; [#] individual; ^Ω Cd e Ni – os valores correspondem às frações totais inaláveis. N. D. – Inferior ao Limite de Detecção. ^{!!} Valor TLV-TWA (*Threshold Limit Value - Time Weighted Average / Média Ponderada pelo Tempo*) - Limite de exposição para um dia normal de trabalho (8 horas) ou semana (40 horas).

O conjunto de dados para a determinação dos metais em filtros de éster-metil-celulose coletados no ambiente de trabalho faz parte de trabalho apresentado no **Anexo IV**, submetido ao *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, **2009**.

6. Discussão dos resultados

6.1 Primeira etapa – monitorização ambiental

A técnica analítica proposta (ICP/OES), para a determinação dos metais no ar do ambiente de trabalho demonstrou ser altamente precisa e exata. Valores adequados de sensibilidade e linearidade também foram obtidos para os analitos. No parâmetro de recuperação a técnica empregada apresentou-se satisfatória demonstrando, por meio dos valores encontrados, (recuperação superior a 105,0 % para o Ni). Os coeficientes de determinação (r^2) foram superiores a 0,99 dentro das faixas de interesse de 0,04 – 20,0 mg/L [Pb; Mn] e 0,02 – 10,0 mg/L [Ni, Cd], estando de acordo com o preconizado pelas diretrizes vigentes (CAUSON, 1997; CHASIN *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2001; BRASIL, 2003).

Os valores de L.D. (Limite de Detecção) e L.Q. (Limite de Quantificação) apresentados nas **Tabelas 5, 6, 7 e 8** foram adequados para as determinações dos metais no ar do ambiente de trabalho.

6.1.1 Monitorização ambiental – resultados por empresas

Os resultados para a **Empresa 1** apresentados na **Tabela 5** foram apropriadamente corrigidos em função da vazão fornecida pela bomba, assim como pelo tempo de amostragem, de modo a fornecer valores em μg dos metais por m^3 de ar. A maior concentração de Pb ambiental foi de $132,64 \pm 125,09 \mu\text{g}/\text{m}^3$ no ponto de coleta **P 1E** [#] - ponto estático 1 – área de *fusão e vazamento, forno* sendo superior ao estabelecido pela ACGIH (Associação Governamental de Higienistas Industriais Americanos) e pela NR-15. Observando-se este dado isolado, vale sugerir medidas de controle e

engenharia, pois tal valor supera o Nível de Ação (valor correspondente a 50 % da concentração limite TLV-TWA da ACGIH (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

Nota-se a presença de Cd em concentração de $28,3 \pm 3,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ no ponto de coleta **P 1E**[#] - ponto estático 1 – área de *fusão e vazamento, forno* e $19,8 \pm 1,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ **P 4I**^A - coleta individual 2 – área de *macharia em casca, operador de vazamento* sendo superiores ao estabelecido pela ACGIH (Associação Governamental de Higienistas Industriais Americanos) e pela NR-15. Observando-se este dado, vale sugerir medidas de controle e engenharia, pois tal valor supera a concentração limite TLV-TWA da ACGIH (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

Os resultados para a **Empresa 2** apresentados na **Tabela 6** foram apropriadamente corrigidos em função da vazão fornecida pela bomba, assim como pelo tempo de amostragem, de modo a fornecer valores em μg dos metais por m^3 de ar. A maior concentração de Pb ambiental foi de $325,11 \pm 44,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ no ponto de coleta **P 2E**[#] - ponto estático – área de *rebarba, rebarba*. Sendo superior ao estabelecido pela ACGIH (Associação Governamental de Higienistas Industriais Americanos) e pela NR-15. Observando-se este dado, sugerem-se medidas de controle e engenharia. É possível que haja deslocamento de fumos metálicos por correntes de convecção na fábrica, bem como formação de poeira metálica na área próxima ao operador de rebarba (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

Nas concentrações individuais obtidas, em coleta de zona respiratória o valor médio de Pb encontrado foi de $30,16 \pm 6,82 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para os trabalhadores - **P 3I**^A - coleta individual – área de *fusão e vazamento, coquilheiros*. O valor é inferior ao estabelecido pela ACGIH (Associação Governamental de Higienistas Industriais Americanos) e pela NR-15. Bem como é inferior ao Nível de Ação

(valor correspondente a 50 % da concentração limite de tolerância da NR-15) (BRASIL, 1994; ACGIH 2009). É notório que a média dos valores, para coletas em triplicatas com $n = 4$ (laborantes), denota que estão sucessivamente expostos a fumos metálicos.

Nos indivíduos concheiros, por meio de coletas em zona respiratória, o valor médio de Pb encontrado foi de $44,46 \pm 1,34 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para esses trabalhadores - **P 4I^A** - coleta individual – área de fusão e vazamento, **concheiro**. O valor é inferior ao estabelecido pela ACGIH (Associação Governamental de Higienistas Industriais Americanos) e pela NR-15. No entanto, supera o Nível de Ação (valor correspondente a 50 % da concentração limite TLV-TWA da ACGIH (BRASIL, 1994; ACGIH 2009)).

Entende-se que a média dos valores obtidos pode refletir maior exposição aos fumos metálicos pela atividade laboral, em que os trabalhadores deslocam-se, constantemente, em direção ao forno e, ainda, são os que praticam o movimento de vazamento na coquilha.

Outro indicador que chama a atenção é a concentração de Pb obtida na coleta individual do ponto - **P 5I^A** - coleta individual – área de fusão e vazamento, **forneiro**. Este trabalhador, que manipula as ligas metálicas e opera o forno expõe-se a média de valores de $58,68 \pm 29,35 \mu\text{g}/\text{m}^3$. A dinâmica da atividade exercida pode justificar o achado, a performance do fundir as ligas metálicas associada ao processo de movimentação na área próxima ao forno permite a exposição aumentada. Assim, este trabalhador deve receber especial atenção quanto ao uso de EPI. Percebe-se que o sistema de exaustão está sendo insuficiente para diminuir a concentração dos fumos próximos à via inalatória.

O menor valor médio de Pb encontrado foi de $20,94 \pm 5,05 \mu\text{g}/\text{m}^3$, no ponto - **P 1E[#]** - ponto estático – área de *fusão e vazamento, forno*. Tal fato pode estar relacionado à situação em que o deslocamento de ar na posição de coleta é menor que a convecção próxima à posição frontal do operador do forno.

Os resultados da **Empresa 3** apresentados na **Tabela 7** foram apropriadamente corrigidos em função da vazão fornecida pela bomba, assim como pelo tempo de amostragem, de modo a fornecer valores em μg dos metais por m^3 de ar. A maior concentração de Pb ambiental foi de $55,9 \pm 28,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ no ponto de coleta **P 7I^A** - coleta individual 7 – área de *policorte, operador de policorte*. Sendo superior ao estabelecido pela ACGIH (Associação Governamental de Higienistas Industriais Americanos), porém inferior à NR-15. Observando-se este dado, sugerem-se medidas de controle e engenharia. É possível que haja produção de poeira metálica decorrente da operação e o sistema de exaustão está ineficiente (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

Nas concentrações individuais obtidas, em coleta de zona respiratória o valor médio de Pb encontrado foi de $33,32 \pm 18,84 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para os trabalhadores - **P 4I^A ; P 5I^A ; P 6I^A** - coleta individual – área de *fusão e vazamento, coqueiros*. O valor é inferior ao estabelecido pela ACGIH (Associação Governamental de Higienistas Industriais Americanos) e pela NR-15. No entanto, supera o Nível de Ação (valor correspondente a 50 % da concentração limite TLV-TWA da ACGIH (BRASIL, 1994; ACGIH 2009). É notório que a média dos valores, para coletas em triplicatas, com $n = 3$ (laborantes) denotam que estão sucessivamente expostos a fumos metálicos.

Nos concheiros, por meio de coletas em zona respiratória, o valor médio de Pb encontrado foi de $26,19 \pm 0,89 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para esses trabalhadores - **P 3I^A ; P**

4I^A - coleta individual – área de fusão e vazamento , **concheiro**. O valor é inferior ao estabelecido pela ACGIH e pela NR-15. No entanto, supera tenuamente o Nível de Ação (valor correspondente a 50 % da concentração limite TLV-TWA da ACGIH (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

O trabalhador **forneiro**, ponto **P 3I^A** - coleta individual – área de fusão e vazamento exerce a função de forneiro, em que alimenta o forno com lingotes, peças reprovadas no controle de qualidade e sucatas. O valor médio de Pb encontrado neste ponto de coleta foi de $27,9 \pm 4,4 \mu\text{g}/\text{m}^3$. O valor é inferior ao estabelecido pela ACGIH e pela NR-15 (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

É certo que os níveis dos metais nos trabalhadores são menores que os considerados críticos pelas legislações. O cenário avaliado é consoante com a literatura científica, que apresenta exemplos de sucesso na iniciativa de diminuir a exposição a fumos metálicos em fundições. Estes artigos visam a minimizar a exposição em fundições, usando sistemas de ventilação adequados (CARRER *et al.*, 1992; EDMONDS *et al.*, 1993; LEE *et al.*, 1993; GRESSEL, 1997; CHUNG, 1998; GUFFEY *et al.*, 2000) e a avaliação da eficiência de protetores respiratórios (MYERS *et al.*, 1996; HAN, 2002).

Uma sugestão seria realizar manutenção na ventilação exaustora da fundição, fornos de fundição e junto ao policorte. A **Tabela 7** reforça esta observação. Em que os valores encontrados, para alguns metais no ar, estão superiores aos valores médios das concentrações nos locais mais afastados destes pontos de exposição aos fumos metálicos.

Sugere-se que o bebedouro e o local de café, paradas de 10 minutos, devem ser dispostos numa área fora do galpão da fundição. Na sua atual localização, com certeza, ele é uma fonte de contaminação para os

trabalhadores. As trocas das máscaras tipo PFF-2 sejam feitas todos os dias conforme preconiza a lei. Deve-se sempre exigir dos trabalhadores a utilização de aventais e luvas adequadas na manipulação do forno, vazamento do fundente pelos concheiros e na manipulação das coquilhas e peças produzidas pelo coquilheiros.

Empresa 4

As coquilhas automatizadas não têm ventilação local exaustora, porém o trabalhador não despende o esforço físico realizado no processo manual. Nas **Figuras 29, 30 e 31** temos o processo de coquilha automática.

Figura 29 - Coquilha automatizada sem exaustão.

Observa-se na **Figura 30** que há grande quantidade de fumos metálicos presente, por não haver um sistema de ventilação local exaustora.

Figura 30 - Coquilheiro despeja o fundente na coquilha automática.

Figura 31 - Coquilheiro retira a peça da coquilha automática.

Na **Figura 32**, observa-se um trabalhador que exerce a função de concheiro e coquilheiro, simultaneamente.

Figura 32 - Concheiro e coquilheiro simultaneamente. Na lapela do trabalhador, filtro para coleta de fumos metálicos.

Já na **Figura 33** vemos o trabalho do concheiro vazando o fundente nas coquilhas seguradas pelos coquilheiros (três exercem essa função neste local). Visualmente constata-se grande quantidade de fumos metálicos no local e sem ventilação local exaustora móvel.

Figura 33 - Concheiro vaza o fundente na coquilha (mesa comporta três coquilheiros). Coleta individual de fumos metálicos. Todos os quatro trabalhadores possuem, na região da zona respiratória, um filtro para coleta de fumos metálicos.

Na **Figura 34**, constata-se um bom exemplo: carrinho ergonomicamente projetado para carregamento das peças fundidas, evitando danos osteomusculares no trabalhador. Ao fundo, um concheiro/coquilheiro exercendo sua função.

Figura 34 – carrinho ergonômico.

A **Figura 35** ilustra os setores de policorte e de esmerilhamento: há uma boa ventilação local exaustora nos equipamentos utilizados. Na máquina de policorte são eliminados os canais das peças fundidas e no esmerilhamento é eliminada a rebarba mais grossa.

Figura 35 - Trabalhador de pé (flecha azul) atua no policorte e trabalhador sentado (flecha amarela) atua no esmeril.

Para a produção de machos na macharia há 11 máquinas *Shell Molding*, sendo que as rebarbas dos machos são eliminadas por quatro rebarbadores que não usam máscara PFF2 para protegê-los da poeira, que pode conter sílica livre cristalina.

Figura 36 - Visão geral do setor de macharia.

Na **Figura 37**, nota-se uma máquina bateadeira para eliminar os resíduos do macho e areia das peças fundidas.

Figura 37 – Máquina bateadeira.

Em avaliações qualitativas e quantitativas de um ambiente de trabalho, conforme realizada nas empresas analisam-se: os aspectos ligados ao processo produtivo como os equipamentos utilizados nas diferentes etapas, sua disposição na área e a eficácia do sistema de exaustão; a organização do trabalho; setores que estão no mesmo galpão e que podem ser atingidos pelos contaminantes gerados na fusão e vazamento da liga fundida na produção das peças e subprodutos gerados (machos, poeiras metálicas, ruído gerados no policorte, esmeril, na bateadeira, prensas, etc.) e os equipamentos individuais utilizados (qualidade, adequação à operação realizada pelo trabalhador). Além disso, na avaliação biológica podemos verificar: a eficácia do sistema de exaustão, a eficácia da máscara utilizada pelo trabalhador, a difusão dos contaminantes para outras áreas além da avaliada e a comparação com grupo de trabalhadores não expostos (grupo controle).

Desta forma, agrupamos os resultados da avaliação ambiental por setor x função para fazer algumas considerações em relação aos metais no ar e nas matrizes biológicas (Pb-S, Cd-U, Mn-U e Ni-U) dos trabalhadores avaliados, obtendo-se um retrato do setor avaliado e as funções de maior risco.

O setor do forno foi o que apresentou as maiores concentrações de chumbo no ar (média geométrica) e na função concheiro e coquilheiro – trabalho simultâneo, mas incluindo também a de coquilheiro. Os valores ficaram entre 20,3 e 30,0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, valores que se aproximam da metade do valor estabelecido como TLV da ACGIH para o PB = 50,0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Se verificarmos os valores de Pb-S para todas as funções e setores, verifica-se que os valores estão ao redor de 15,0 $\mu\text{g}/\text{dL}$, que é metade do valor limite da ACGIH para Pb-S = 30,0 $\mu\text{g}/\text{dL}$. Os valores do Pb-S dos trabalhadores desses setores na faixa citada mostra alguns agravantes: 1º que o risco está socializado porque apesar de concentrações ambientais diferentes de Pb-Ar, os valores de Pb-S são semelhantes, ou seja, apesar dos trabalhadores utilizarem máscara (PFF-1 que é inadequada para fumos metálicos) o contaminante está sendo absorvido pelas vias respiratórias dos trabalhadores e transportado pro meio do sangue aos diferentes órgãos do corpo humano, mostrando também que a máscara que deve ser trocada todo o dia, está saturada, não sendo mais um fator de proteção ao trabalhador, que fica com a falsa ilusão que está protegido por estar utilizando EPI mas ressaltando inadequado já que o correto para fumos metálicos é a PFF-2; 2º os sistemas de ventilação local exaustora nos fornos é inadequado para a captação dos contaminantes.

Nos processos envolvendo as coquilhas automatizadas estas não têm ventilação local exaustora, mas com a grande vantagem que o trabalhador não despende o esforço físico realizado no processo manual. Observa-se na **Figura**

30 há grande quantidade de fumos metálicos presente por não haver um sistema de ventilação local exaustora.

No intuito de maiores contribuições em relação aos ambientes de trabalho sugere-se:

1. A utilização de máscaras com filtros como paliativo ou em situações de risco até que se modifique ou se faça manutenção do sistema de ventilação exaustora. Os trabalhadores usam continuamente **as máscaras PFF-1 inócuas para o tipo de contaminante existente – fumos metálicos - mais freqüente no ambiente de trabalho da fundição avaliada. A máscara correta é a PFF-2. Deve-se reforçar que a troca das mesmas deve ser diária conforme preconiza a norma NR-6.**
2. Que sejam fornecidos óculos com lentes verdes para filtrar as radiações não ionizantes provenientes do forno;
3. Que o bebedouro seja colocado em local coberto fora da área de fundição e que haja pausa para café conforme preconiza a lei. Na sua atual localização, com certeza, ele é uma fonte de contaminação para os trabalhadores (**Figura 38**). Nossa sugestão é que o coloque na área de fora, numa cabine apropriada;

Figura 38 – bebedouro dentro do setor de fundição.

Que os trabalhadores **sejam proibidos de:**

- ✓ Fumar no local de trabalho;
- ✓ Comer no local de trabalho;
- ✓ Não esquentar alimentos/marmitas ao lado dos fornos.

Todas essas práticas, certamente, são fontes de contaminação dos trabalhadores pelos fumos e poeiras metálicas existentes no ambiente de trabalho. Ratifica-se que somente por meio da melhoria contínua e da manutenção da política de educação continuada será possível obter melhores resultados produtivos tornando o segmento industrial mais competitivo, com menor risco à saúde dos trabalhadores.

6.2 Análises estatísticas

6.2.1 Amostras de ar coletado

6.2.1.1 Empresas avaliadas

O **Quadro 3** ilustra os valores das concentrações médias $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) e n= número de observações encontradas nas diferentes Empresas avaliadas.

Quadro 3: resumo das empresas com variáveis todos os Metais, Empresas $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) e n= número de observações.

Metais	Empresa 1	Empresa 2	Empresa 3	Empresa 4
Pb	58,01 $\pm$ 87,67 (n=12)	36,14 $\pm$ 17,59 (n=24)	23,76 $\pm$ 19,03 (n=23)	17,09 $\pm$ 10,41 (n=38)
Cd	19,46 $\pm$ 21,17 (n=5)	2,25 $\pm$ 1,29 (n=8)	1,00 $\pm$ 0,62 (n=9)	1,25 $\pm$ 1,46 (n=28)
Mn	N.D.	2,92 $\pm$ 2,69 (n=6)	0,88 $\pm$ 0,47 (n=2)	0,92 $\pm$ 0,86 (n=14)
Ni	N.D.	1,79 $\pm$ 2,03 (n=6)	1,95 $\pm$ 2,35 (n=4)	3,53 $\pm$ 1,77 (n=3)

* **N.D.** – não detectado (inferior ao limite de quantificação).

A **Figura 39** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb em função das empresas. Para tal considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Figura 39 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb nas diferentes empresas avaliadas.

Por meio da análise estatística de Anova verificou-se que houve diferença nas concentrações médias de Pb ($p = 0,0024$) e com o teste de “Scheffe” identificou-se que as Empresas 1 e 2 são similares nas concentrações encontradas e são diferentes das Empresas 3 e 4.

Nota-se que a Empresa 1 apresenta maior concentração média do metal nas condições avaliadas. Pode-se inferir que a variância é alta, comparada as outras empresas do conjunto considerado. É possível que estas magnitudes se devam ao fato de que o Pb é adicionado intencionalmente como aditivo para oferecer características como maleabilidade, dureza e condutividade elétrica à peça de bronze confeccionada, de acordo com a faixa de concentração fornecida pela empresa que varia entre 4 e 6 % em massa de liga produzida (CDA, 2004; FUNDACENTRO, 2002; LOPES, 2004).

A **Figura 40** apresenta os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd em função das empresas. Para tal considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Figura 40 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd nas diferentes empresas avaliadas.

Com a análise em ANOVA verificou-se que houve diferença nas concentrações médias de Cd ($p < 0,0001$) e teste de Scheffe identificou-se que a Empresa 1 é diferente das demais empresas.

A Empresa 1 apresenta maior concentração média do metal nas condições avaliadas. Pode-se inferir que a variância é alta, comparada as outras empresas do conjunto considerado. Nota-se a presença de Cd nas situações de coletas **P 1E[#]** - ponto estático 1 – área de *fusão e vazamento, forno* e **P 4I^A** - coleta individual 2 – área de *macharia em casca, operador de vazamento* com concentrações, respectivamente de $28,3 \pm 3,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ e $19,8 \pm 1,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ contribuem para a dispersão encontrada, ratifica-se que tais valores são superiores aos limites estabelecidos pela ACGIH e NR-15 (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

A **Figura 41** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Ni em função das empresas. Para tal considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Figura 41 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Ni nas diferentes empresas avaliadas.

A ANOVA ilustra que não houve diferença nas concentrações médias de Ni ($p = 0,4979$) entre as empresas.

As Empresas 2 e 3 apresentam perfil de exposição semelhante nas condições avaliadas. No entanto, os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) são inferiores aos limites estabelecidos pela ACGIH e NR-15 (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

A **Figura 42** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn em função das empresas. Para tal considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Figura 42 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn nas diferentes empresas avaliadas.

Para este metal o teste da ANOVA ficou no limiar da significância, ou seja, valor de p encontrado igual a 0,0476 e, conseqüentemente, o teste de Scheffe não consegue identificar as diferenças entre as empresas.

As Empresas 3 e 4 apresentam perfil de exposição semelhante nas condições avaliadas. A Empresa 2 ilustra que a concentração em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (média $\pm$ D.P.) é superior às determinações nas restantes. Entretanto, os valores das concentrações são inferiores aos limites estabelecidos pela ACGIH e NR-15 (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

6.2.1.2 Concentrações dos metais e tipos de atividades laborais (função)

Devido a particularidades como layout, disposição das funções, dinâmica de trabalho, características das ligas, volume de produção, etc., não é possível utilizar o teste de Anova ou seu equivalente não paramétrico Kruskal-Wallis, pois o número de categorias a serem avaliadas inviabilizaria a análise. Assim, a estatística apresentada a seguir é puramente descritiva.

A **Figura 43** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb em função das atividades laborais nos setores da fundição. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Legenda de função/atividade: 1 – concheiro; 2 – concheiro/coquilheiro; 3 – coquilha automática; 4 – forneiro; 5 – coquilheiro manual; 7 – macharia; 8 – policorte.

Figura 43 - valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb em função das atividades laborais nos setores da fundição.

De acordo com o gráfico, nota-se que em relação ao metal Pb, a média dos valores encontrados é maior no ponto de coleta do forneiro (4), seguido do coquilheiro manual (5) e concheiro (1). Tal perfil de exposição é esperado em função da prática laboral, a frequência de movimentos decorrentes do processo de geração da peça metálica e a proximidade da fonte contaminante. A coquilha automática (3) ou o operador simultâneo concheiro/coquilheiro (2) têm exposição média menor que os operadores que realizam apenas as funções individualizadas de números 1 e 5. A respeito dos limites da ACGIH e NR-15, os valores médios encontram-se dentro da concentração limite de $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para o Pb no ar do ambiente de trabalho (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

A **Figura 44** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd em função das atividades laborais nos setores da fundição. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Legenda de função/atividade: 1 – concheiro; 2 – concheiro/coquilheiro; 3 – coquilha automática; 4 – forneiro; 5 – coquilheiro manual; 7 – macharia; 8 – policorte.

Figura 44 - valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd em função das atividades laborais nos setores da fundição.

De acordo com o gráfico, nota-se que em relação ao metal Cd, a média dos valores encontrados é maior no ponto de coleta do coquilheiro manual (5), seguido do concheiro (5) e da coquilha automática (3). A coquilha automática (3) diminui a exposição ao metal, quando comparada com a operação concheiro/coquilheiro (2) e coquilheiro manual, em que a dinâmica de se unirem as funções e/ou semi-automatização pode minimizar a exposição ao metal. A respeito dos limites da ACGIH e NR-15, os valores médios encontram-se dentro da concentração limite de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para o Cd no ar do ambiente de trabalho. Porém, picos de exposição podem ser observados nos operadores de coquilha manual, com magnitudes acima do nível de ação e limites legais permitidos (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

No que se refere aos metais Mn e Ni, estes não apresentaram variâncias importantes em função das concentrações obtidas em diferentes funções e nas observações estatísticas.

6.2.1.3 Concentrações dos metais e modos de coletas – individuais ou estáticos

O **Quadro 4** ilustra os valores das concentrações médias $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) e os modos de coletas (individual ou estático) nas Empresas avaliadas.

Quadro 4: valores das concentrações médias $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.), modos de coletas (individual ou estático) e n (número de observações).

Modo	Chumbo	Manganês	Níquel	Cádmio
Estático	38,05 $\pm$ 68,55 (n=15)	2,33 $\pm$ 2,19 (n=5)	N.D.	28,47 $\pm$ 35,70 (n=2)
Individual	26,69 $\pm$ 27,71 (n=82)	1,21 $\pm$ 1,57 (n=17)	N.D.	2,14 $\pm$ 3,96 (n=48)

* N.D. – não detectado.

A **Figura 45** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos – nos setores da fundição. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Figura 45 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos nos setores da fundição.

A variabilidade da concentração nos modos de coleta foi estaticamente significativo ($p < 0,0001$). Assim, utilizou-se o teste de T-Student com o método de “Satterthwaite” e não houve diferença estatística entre as médias ($p = 0,5361$).

A **Figura 45** ilustra que os valores de concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb são semelhantes no que tange ao modo de coleta, individual - em zona respiratória dos trabalhadores e estático – ponto de situação considerado com maior dispersão nas determinações do elemento. Os picos de concentração do Pb podem refletir a dinâmica do processo de trabalho, condições de circulação de ar no ambiente, tipo de liga e mistura aplicada e falha no sistema de exaustão. As médias obtidas encontram-se dentro dos

limites propostos pela legislação brasileira e americana, o que não exclui a informação do perigo Pb e os riscos de exposição ao metal nos cenários avaliados (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

A **Figura 46** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos – nos setores da fundição. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Figura 46 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos nos setores da fundição.

A variabilidade da concentração dos metais nos modos de coleta foi estaticamente igual ($p > 0,2963$). Assim, utilizou-se o método “Pooled”, concluindo-se que as médias das concentrações são estatisticamente iguais ($p = 0,2110$).

A **Figura 46** retrata que os valores de concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn não são diferentes no que se refere ao modo de coleta,

individual - em zona respiratória dos trabalhadores e estático. Os picos de concentração do Mn podem refletir a dinâmica do processo de trabalho, condições de circulação de ar no ambiente, tipo de liga e mistura aplicada e falha no sistema de exaustão. As médias obtidas encontram-se dentro dos limites propostos pela legislação brasileira e americana (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

A **Figura 47** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos – nos setores da fundição. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de filtros de ar coletados nos ambientes de trabalho.

Figura 47 - concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd em função dos modos de coletas – individuais ou estáticos nos setores da fundição.

Em função do número reduzido de observações no modo de coleta estático ($n=2$) não foi possível realizar tanto o teste paramétrico T-Student, bem como o teste não paramétrico de “Wilcoxon”.

A **Figura 47** retrata que os valores de concentrações em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (médias $\pm$ D.P.) do metal são diferentes no que se refere ao modo de coleta, individual -

em zona respiratória dos trabalhadores e estático – ponto de situação considerada a de maior exposição ao metal. Os picos de concentração do Cd podem refletir a dinâmica do processo de trabalho, condições de circulação de ar no ambiente, tipo de liga e mistura aplicada e falha no sistema de exaustão (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

6.3 Segunda etapa – monitorização biológica a metais

6.3.1 Parâmetros de instrumentação do equipamento EAA/FG Temperatura de Pirólise e Atomização

Na otimização de um programa de aquecimento para determinações por EAAFG, as temperaturas de pirólise são escolhidas com o objetivo de se manter a estabilidade térmica do elemento de interesse e a intensidade do sinal do fundo.

A escolha das temperaturas de atomização é feita considerando-se a magnitude e o perfil dos sinais analíticos de absorbância e os desvios padrões entre as medidas.

6.3.1.1 Elemento Pb

As curvas de pirólise e atomização de Pb [5,0 ug/L], na presença de modificador químico 0,2%DPNH₃/0,5%T/0,2%HNO₃, são apresentadas nas **Figuras 48 e 49**, respectivamente. O gráfico da **Figura 48** indica que em temperaturas superiores a 900 °C ocorrem perdas dos elementos por volatilização, portanto a temperatura escolhida para pirólise foi de 850 °C. Na curva de atomização observa-se que a melhor temperatura seria de 1600 °C para a atomização do elemento.

É importante ressaltar que as otimizações foram feitas em soluções aquosas com modificadores químicos, pois, como relatado em trabalhos

anteriores, com o corretor de fundo Zeeman não se obteria performance adequada para correção de background promovida pelo elemento Pb no sangue total diluído (SANTOS *et al.* 2006).

Figura 48 - Curva de temperatura de pirólise para solução aquosa de Pb 5 µg/L com modificador de matriz.

Figura 49 - Curva de temperatura de atomização para solução aquosa de Pb 5 µg/L com modificador de matriz.

O programa de aquecimento, a temperatura de pirólise e atomização otimizados estão descritos na **Tabela 9**.

Tabela 9 - Programa de aquecimento, temperatura de pirólise e atomização otimizados para o Pb por EAAFG.

	T (°C)	Rampa	Patamar	Gás (Ar)	Leitura
Secagem I	110	1	30	250	Não
Secagem II	130	15	30	250	Não
Pirólise	850	10	20	250	Não
Atomização	1600	0	3	0	Sim
Limpeza	2450	1	3	250	Não

Nas **Figuras 48 e 49** estão apresentados os sinais analíticos de absorbância para o Pb, obtidos nas melhores condições adotadas para o programa de aquecimento com a amostra. Pode-se observar como é importante a utilização de um modificador químico durante a etapa de atomização.

6.3.1.2 Elemento Cd

As curvas de pirólise e atomização de Cd [0,2 ug/L], na presença de modificador químico Pd 5 µL, são apresentadas nas **Figuras 50 e 51**, respectivamente. O gráfico da **Figura 50** indica que em temperaturas superiores a 600 °C ocorrem perdas dos elementos por volatilização, portanto a temperatura escolhida para pirólise foi de 500 °C. Na curva de atomização observa-se que a melhor temperatura seria de 1300 °C para a atomização do elemento.

É importante ressaltar que as otimizações foram feitas em soluções aquosas com modificadores químicos, pois, como relatado em trabalhos anteriores, com o corretor de fundo Zeeman não se obteria performance adequada para correção de background promovida pelo elemento Cd na urina diluída (NORDBERG *et al.*, 2005).

Figura 50 - Curva de temperatura de pirólise para solução aquosa de Cd 0,2 µg/L com modificador de matriz.

Figura 51 - Curva de temperatura de atomização para solução aquosa de Cd 0,2 µg/L com modificador de matriz.

O programa de aquecimento, a temperatura de pirólise e atomização otimizados estão descritos na **Tabela 10**.

Tabela 10 - Programa de aquecimento, temperatura de pirólise e atomização otimizados para o Cd por EAAFG.

	T (°C)	Rampa	Patamar	Gás (Ar)	Leitura
Secagem I	110	1	30	250	Não
Secagem II	130	15	30	250	Não
Pirólise	500	10	20	250	Não
Atomização	1300	0	3	0	Sim
Limpeza	2450	1	5	250	Não

Nas **Figuras 50 e 51** estão apresentados os sinais analíticos de absorbância para o Cd, obtidos nas melhores condições adotadas para o programa de aquecimento com a amostra.

6.3.1.3 Elemento Mn

As curvas de pirólise e atomização de Mn [2,0 ug/L], com a presença de modificador químico [Pd 5 µL], são apresentadas nas **Figuras 52 e 53**, respectivamente. O gráfico da **Figura 52** indica que em temperaturas superiores a 1400 °C ocorrem perdas dos elementos por volatilização, portanto a temperatura escolhida para pirólise foi de 1300 °C. Na curva de atomização observa-se que a temperatura de escolha seria de 2000 °C para a atomização do elemento.

É importante ressaltar que as otimizações foram feitas em soluções aquosas com o modificador químico Pd e a correção de fundo Zeeman obtêm-se performance adequada para o ajuste de background promovido pelo elemento Mn (SANTOS, 2004).

Figura 52 - Curva de temperatura de pirólise para solução aquosa de Mn 2,0 µg/L com modificador de matriz.

Figura 53 - Curva de temperatura de atomização para solução aquosa de Mn 2,0 µg/L com modificador de matriz.

O programa de aquecimento, a temperatura de pirólise e atomização otimizados estão descritos na **Tabela 11**.

Tabela 11 - Programa de aquecimento, temperatura de pirólise e atomização otimizados para o Mn por EAAFG.

	T (°C)	Rampa	Patamar	Gás (Ar)	Leitura
Secagem I	110	1	30	250	Não
Secagem II	130	15	30	250	Não
Pirólise	1300	10	20	250	Não
Atomização	2000	0	3	0	Sim
Limpeza	2450	1	3	250	Não

Nas **Figuras 52 e 53** estão apresentados os sinais analíticos de absorbância para o Mn, obtidos nas melhores condições adotadas para o programa de aquecimento com a amostra.

6.3.1.4 Elemento Ni

As curvas de pirólise e atomização de Ni [5,0 ug/L], sem a presença de modificador químico, são apresentadas nas **Figuras 54 e 55**, respectivamente. O gráfico da **Figura 54** indica que em temperaturas superiores a 1400 °C ocorrem perdas dos elementos por volatilização, portanto a temperatura escolhida para pirólise foi de 1000 °C. Na curva de atomização observa-se que a temperatura de escolha seria de 2300 °C para a atomização do elemento.

É importante ressaltar que as otimizações foram feitas em soluções aquosas sem modificadores químicos, pois, de acordo com trabalhos anteriores, com o corretor de fundo Zeeman se obtêm performance adequada para correção de background promovida pelo elemento Ni (YOKOTA, 2007).

Figura 54 - Curva de temperatura de pirólise para solução aquosa de Ni 5,0 µg/L sem modificador de matriz.

Figura 55 - Curva de temperatura de atomização para solução aquosa de Ni 5,0 µg/L sem modificador de matriz.

O programa de aquecimento, a temperatura de pirólise e atomização otimizados estão descritos na **Tabela 12**.

Tabela 12 - Programa de aquecimento, temperatura de pirólise e atomização otimizados para o Ni por EAAFG.

	T (°C)	Rampa	Patamar	Gás (Ar)	Leitura
Secagem I	110	1	30	250	Não
Secagem II	150	15	30	250	Não
Pirólise	1000	10	20	250	Não
Atomização	2300	0	5	0	Sim
Limpeza	2450	1	3	250	Não

Nas **Figuras 54 e 55** estão apresentados os sinais analíticos de absorbância para o Ni, obtidos nas melhores condições adotadas para o programa de aquecimento com a amostra.

6.3.2 Discussão dos resultados da monitorização biológica

Os parâmetros de validação dos métodos (LD, LQ, precisão intra e interensaio, exatidão e recuperação) para os metais em estudo estão dispostos na **Tabela 13**.

Tabela 13 - Parâmetros de confiança para validação do método de determinação de metais em fluidos biológicos.

	Metal			
	Pb (µg/dL)	Cd (µg/L)	Mn (µg/L)	Ni (µg/L)
LD	1,5	0,06	0,54	0,7
LQ	4,8	0,19	0,99	4,1
Precisão intraensaio (CV, %)				
C ₁	2,9	3,5	5,0	10,6
C ₂	4,8	2,3	8,1	3,4
Precisão interensaio (CV, %)				
C ₁	13,2	6,7	2,4	6,9
C ₂	7,7	8,5	4,9	2,8
Recuperação				
C ₁	109,2	105,9	97,1	84,7
C ₂	91,8	--	--	--
C ₃	88,1	--	--	--
C ₄	96,9	--	--	--
Exatidão				
C ₁	8,4	5,6	2,9	15,0
C ₂	8,9	--	--	--
C ₃	13,6	--	--	--
C ₄	3,2	--	--	--

* LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação; CV: Coeficiente de variação.

As curvas de calibração apresentaram-se lineares nas faixas de concentração informadas. As equações de regressão linear e o coeficiente de correlação foram: (Pb) $y = 0,0317x + 0,0013$, $r^2 = 0,999$; (Mn) $y = 0,0118x + 0,0088$, $r^2 = 0,998$; (Ni) $y = 0,0138x - 0,054$, $r^2 = 0,990$; (Cd) $y = 0,0508x + 0,024$, $r^2 = 0,992$.

As amostras de sangue e urina dos trabalhadores expostos a fumos metálicos, bem como aquelas do grupo controle, foram analisadas por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, conforme os procedimentos específicos para determinação de cada um dos metais em questão (Pb-S, Cd-U, Mn-U, Ni-U). Todos os métodos foram, otimizados e validados. A concentração de Pb-S foi expressa em $\mu\text{g/dL}$ e as concentrações de Cd-U, Ni-U e Mn-U em $\mu\text{g/g}$ de creatinina.

A determinação de creatinina foi realizada por método colorimétrico padrão, utilizando Kit da “LabTest”. Os procedimentos adotados para a realização desta análise foram aqueles descritos na bula do Kit, considerando o fato de se tratar de um teste já validado pelo fabricante do mesmo.

A **Tabela 14** mostra os resultados médios, bem como os respectivos desvios padrão, e o nível de significância (p) das determinações dos metais em questão, nos grupos exposto e controle. As **Figuras 56 e 57** ilustram estes dados para o Pb-S e para Cd-U, Mn-U e Ni-U, respectivamente.

Tabela 14 - Concentração de Pb-S, Cd-U, Mn-U e Ni-U, segundo grupo controle ($n=50$) e expostos ($n=55$).

Determinação	Controle $\pm$ DP	Exposto $\pm$ DP	p
Pb-S ¹	$3,45 \pm 3,24$	$15,35 \pm 7,61$	$< 0,0001$
Cd-U ²	$1,06 \pm 1,01$	$1,96 \pm 1,81$	$0,0028$
Mn-U ²	$0,69 \pm 0,67$	$2,63 \pm 1,83$	$0,0325$
Ni-U ²	$5,13 \pm 4,96$	$5,12 \pm 4,78$	$0,9909^*$

¹: $\mu\text{g/dL}$;

²: $\mu\text{g/g}$ creatinina.

* não significante ($p > 0,05$).

Figura 56 - Concentração de Pb-S, segundo grupo controle (n=50) e exposto (n=55).

Figura 57 - Concentração de Mn-U, Ni-U e Cd-U, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55).

Figura 58 – Tempo em atividade laboral, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55).

Figura 59 – Tempo em hábito de fumar, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55).

Em relação ao tempo de atividade laboral (**Figura 58**), para o grupo controle o valor (média $\pm$ D.P.) foi de $96,3 \pm 81,6$ meses de trabalho nas diversas atividades. O grupo exposto apresentou tempo de $106,7 \pm 103,1$ meses em labor. Estes valores, de acordo com o teste de análise de variância T-student não foi significativo ($p = 0,652$).

A **Figura 59** ilustra o tempo de tabagismo em função dos grupos avaliados. O grupo controle apresentou valor (média $\pm$ D.P.) de $270,0 \pm 109,3$ meses com o hábito de fumar. Já nos indivíduos expostos obteve-se $205,7 \pm 97,1$ meses. Porém, aplicando-se o teste de T-student, os trabalhadores expostos não apresentam hábito estatisticamente diferentes dos controles ($p = 0,338$).

Foram avaliados 105 trabalhadores, 55 indivíduos expostos a fumos metálicos, trabalhadores de indústrias do setor de fusão e vazamento e outros que trabalhavam no mesmo espaço físico, e 50 indivíduos não expostos das mesmas indústrias. Os dados serão discutidos considerando os metais individualmente, na seguinte ordem: Pb-S; Cd-U; Mn-U e Ni-U.

Devido a particularidades como layout, disposição das funções, dinâmica de trabalho, características das ligas, volume de produção e número de trabalhadores nas funções não é possível utilizar o teste de Anova ou seu equivalente não paramétrico Kruskal-Wallis, pois o número de categorias a serem avaliadas inviabilizaria a análise. *Assim, as estatísticas apresentadas considerando a determinação dos metais nas matrizes biológicas e as funções de atuação nas fundições a seguir são puramente descritivas.*

Pb-S

A utilização de um grupo controle no estudo permitiu a observação de níveis de “normalidade” na população não exposta, comparados com valores de referência descritos na literatura e os da Legislação brasileira (NR-7) e ACGIH. PAOLIELLO *et al.*, (2001), apresentaram resultados na determinação de valores de referência para o chumbo sanguíneo, em população urbana do sul do Brasil, que incluíam homens e mulheres não fumantes. Os resultados obtidos no referido estudo definem como $5,5 \mu\text{g/dL}$ o valor de referência médio para o Pb-

S com variação entre 1,20 µg/dL a 13,72 µg/dL. Estes dados permitem afirmar que o grupo controle selecionado no presente estudo apresenta níveis de Pb-S, que podem ser considerados normais, com concentrações médias de $3,45 \pm 3,24$ µg/dL.

Em relação ao grupo exposto, todos os indivíduos apresentaram valores de concentração de Pb-S inferior aos Limites propostos pela NR-7 e ACGIH, 2009. As concentrações (médias $\pm$ D.P.) dos trabalhadores, em função da atividade e em ordem decrescente de valores foram: *forneiros* – $21,87 \pm 13,25$ µg/dL > *rebarbadores* – $20,74 \pm 7,73$ µg/dL > *conquilheiros* – $19,12 \pm 8,09$ µg/dL.

A **Figura 60** ilustra os valores das concentrações em µg/dL (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de Pb-S nos trabalhadores avaliados.

Legenda de função/atividade: 1 - controle; 2 – concheiro; 3 – concheiro/coquilheiro; 4 – coquilheiro; 5 – forneiro; 6 – macheiro; 7 – afinador; 8 – policorte e 9 - rebarbador.

Figura 60 - valores das concentrações em µg/dL (médias $\pm$ D.P.) do metal Pb-S em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle.

Nota-se que em relação à determinação do Pb-S, a média dos valores encontrados é maior no ponto de coleta do forneiro (5), seguido do concheiro (2), coquilheiro manual (4) e rebarbador (9). O perfil de exposição denota a falta de utilização de EPI (máscara tipo PFF2) adequado ou a saturação das máscaras utilizadas por parte dos rebarbadores e possível deglutição e inalação do metal particulado. Já, nos pertencentes ao setor de forno e vazamento, nota-se exposição ao metal com a presença de valores médios semelhantes. Aplicando-se o teste de T-student, os trabalhadores expostos apresentam valores estatisticamente diferentes dos controles ($p \leq 0,0001$). A respeito dos limites da ACGIH e NR-7, os valores médios encontram-se dentro da concentração limite de 30 e 60 $\mu\text{g}/\text{dL}$ para o Pb-S em trabalhadores avaliados. Porém, percebe-se que há exposição nos setores da fundição, quando comparado ao grupo controle (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

Cd-U

Os níveis dos metais avaliados na urina do grupo controle apresentaram-se nas faixas descritas na literatura dentro dos valores de referência para o Mn-U e Ni-U, com pequena variação para o Cd-U. Neste, de acordo com dados da literatura, o ***Cd-U*** é de 0,9 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina, sendo a média do grupo controle em questão de $1,06 \pm 1,01$ $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina. Tais magnitudes encontram-se próximas aos valores de referência em estudos de populações não expostas ocupacionalmente (NORDBERG *et al.*, 2005; DAVIS *et al.*, 2006).

Nos indivíduos considerados expostos, os níveis encontrados em média $\pm$ D.P. foram de $1,96 \pm 1,81$ $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina. Em estudo realizado na China, os valores para a população exposta trabalhadores de áreas industriais variaram entre 2,6 a 11,8 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina para o Cd-U. Aplicando-se o teste de T-student, os trabalhadores expostos apresentam valores estatisticamente diferentes dos

controles ($p = 0,028$). No trabalho, os autores demonstraram que há correlação significativa entre o aumento de lesões renais tubulares na população a partir de $4,8 \mu\text{g/g}$ creatinina, utilizando-se os marcadores **UB2MG**: Beta-2-microglobulina urinária e **UNAG**: N-acetil-d-glicosaminonidase (NORDBERG *et al.*, 2005).

A **Figura 61** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g/g}$ creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de Cd-U nos trabalhadores avaliados.

Legenda de função/atividade: 1 - controle; 2 - concheiro; 3 - concheiro/coquilheiro; 4 - coquilheiro; 5 - fornheiro; 6 - macheiro; 7 - afinador; 8 - policorte e 9 - rebarbador.

Figura 61 - valores das concentrações em $\mu\text{g/g}$ creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Cd-U em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle.

De acordo com o gráfico, nota-se que em relação ao metal Cd, a média dos valores encontrados é maior no ponto de coleta do concheiro (2), seguido do coquilheiro manual (4), fornheiro (5) e rebarbador (9). Tal perfil de exposição é esperado em função da prática laboral, a frequência de movimentos

decorrentes do processo de geração da peça metálica e a proximidade da fonte contaminante. A respeito dos limites da ACGIH e NR-7, os valores médios encontram-se dentro da concentração limite de 5 µg/g creatinina (BEI e IBMP) para o Cd na urina dos trabalhadores expostos (BRASIL, 1994; ACGIH 2009).

Mn-U

Para o Mn-U são descritos valores de referência de 3 µg/L a 10,2 µg/L, no estudo em questão, o grupo controle apresentou níveis médios de $0,69 \pm 0,67$ µg/g creatinina. Quanto os indivíduos considerados expostos, os níveis encontrados em média $\pm$ D.P. foram de $2,63 \pm 1,83$ µg/g creatinina. Tais magnitudes estão dentro dos valores de referência em estudos de populações não expostas ocupacionalmente (APOSTOLI, 2002). Aplicando-se o teste de T-student, os trabalhadores expostos apresentam valores estatisticamente diferentes dos controles ($p = 0,0325$).

Em trabalho realizado no México, como um estudo piloto e caráter epidemiológico, investigaram-se as correlações entre o manganês, a peroxidação lipídica plasmática, a atividade da monoaminoxidase (MAO) plaquetária e testes clínicos comportamentais. Em relação aos ensaios de peroxidação lipídica (avaliação de oxidação dos resíduos de triptofano, cisteína e tirosina por fluorescência, TBARS (testes com TBA) apresentaram relações inversas aos níveis de Mn-P (plasmático) acima de 10 µg/L (coeficiente = -0,69, $p < 0,05$) e atividade da MAO (coeficiente = 0,39, $p < 0,05$). Não obstante, os indivíduos possuem diminuição nas performances dos testes de coordenação motora, cognição e resposta do tipo Mini-Mental com concentrações plasmáticas de Mn acima de 15 µg/L. (BURGOA *et al.*, 2001).

A **Figura 62** ilustra os valores das concentrações em µg/g creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn em função das atividades laborais nos setores da

fundição e grupo controle. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de Mn-U nos trabalhadores avaliados.

Legenda de função/atividade: 1 - controle; 2 - concheiro; 3 - concheiro/coquilheiro; 4 - coquilheiro; 5 - fornheiro; 6 - macheiro; 7 - afinador; 8 - policorte e 9 - rebarbador.

Figura 62 - valores das concentrações em $\mu\text{g/g}$ creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Mn-U em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle.

Observa-se no gráfico que em relação ao metal Mn, a média dos valores encontrados é maior no ponto de coleta do macheiro (6), seguindo-se do coquilheiro (4) e concheiro (2). A respeito dos limites da ACGIH e NR-7, não são regulamentados os valores para determinação deste metal em amostras biológicas. No entanto, comparando-se aos dados na literatura, tais magnitudes estão dentro dos valores de referência em estudos de populações não expostas ocupacionalmente (BRASIL, 1994; APOSTOLI, 2002; ACGIH 2009).

Ni-U

Por último, mas não menos importante, o Ni-U no grupo controle apresentou níveis médios de $5,13 \pm 4,96 \mu\text{g/g}$ creatinina, os valores estão considerados dentro dos valores de referência para a população não exposta ocupacionalmente, que variam entre 1,58 a $12,78 \mu\text{g/g}$ creatinina (CHANG *et al.*, 2006).

Nos trabalhadores considerados expostos, os níveis encontrados em média $\pm$ D.P. foram de $5,12 \pm 4,78 \mu\text{g/g}$ creatinina. Tais magnitudes estão dentro dos valores de estudo realizado por OLIVEIRA, *et al.* (2000) e YOKOTA *et al.*, 2007, em avaliação da exposição e monitoramento biológico a Ni em trabalhadores de galvanicas, cuja média do grupo exposto indicada no trabalho foi de $14,7 \pm 13,5 \mu\text{g/g}$ creatinina (OLIVEIRA, *et al.*, 2000; CHANG *et al.*, 2006; YOKOTA, 2007). Aplicando-se o teste de T-student, os trabalhadores expostos não apresentam valores estatisticamente diferentes dos controles ($p = 0,9909$).

A **Figura 63** ilustra os valores das concentrações em $\mu\text{g/g}$ creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Ni em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle. Considerou-se o conjunto dos dados obtidos nas diferentes determinações de Ni-U nos trabalhadores avaliados.

Legenda de função/atividade: 1 - controle; 2 - concheiro; 3 - concheiro/coquilheiro; 4 - coquilheiro; 5 - forneiro; 6 - macheiro; 7 - afinador; 8 - policorte e 9 - rebarbador.

Figura 63 - valores das concentrações em $\mu\text{g/g}$ creatinina (médias $\pm$ D.P.) do metal Ni-U em função das atividades laborais nos setores da fundição e grupo controle.

Nota-se que em relação ao metal Ni, a média dos valores encontrados é maior no ponto de coleta do macheiro (6), seguido do concheiro (2) e o rebarbador (9). (BRASIL, 1994; ACGIH 2009). A respeito dos limites da ACGIH e NR-7, não são regulamentados os valores para determinação deste metal em amostras biológicas. No entanto, comparando-se aos dados na literatura, tais magnitudes estão próximas aos valores de exposição ocupacional em galvanicas (OLIVEIRA, *et al.*, 2000) e populações não expostas ocupacionalmente, que variam entre 1,58 a 12,78 $\mu\text{g/g}$ creatinina (CHANG *et al.*, 2006; YOKOTA, 2007).

Considerando os resultados apresentados a exposição ao chumbo é a que pode considerada no grupo de indústrias avaliadas como aquela que representa maior risco a saúde do trabalhador. Desta forma considerando o limite recomendado para o indicador biológico de exposição ou de dose interna ao chumbo, Pb-S, conforme a NR-7 (BRASIL, 1978), o mesmo é alvo de vários estudos brasileiros, que discutem a inadequação da adoção do valor de 60 $\mu\text{g/dL}$

como Índice Biológico Máximo Permitido (IBMP), e 40µg/dL como Valor de Referência, valores propostos na primeira redação da Norma Regulamentadora 7, em 1978, e que utilizou como valor o mesmo adotado pela OSHA em 1975 (CORDEIRO & LIMA, 1995).

Com o passar do tempo e o avanço nos estudos que determinam a relação entre o aparecimento de sintomas neurológicos iniciais e valores de Pb-S, as recomendações internacionais sofreram alterações. Hoje, por exemplo, a recomendação norte americana segundo a ACGIH para o Pb-S é 30µg/dL (ACGIH, 2007).

No Brasil, foram realizados estudos que avaliaram alterações neurológicas iniciais, em nível de neuropatia periférica. Foram avaliados 20 trabalhadores de uma fábrica de acumuladores elétricos, cujos níveis de Pb-S encontravam-se entre 38 a 60 µg/dL. Nessa faixa de concentração, podem ser encontradas alterações neurocomportamentais e diminuição da velocidade de condução dos nervos motores e sensitivos (CORDEIRO, 1995; CORDEIRO & LIMA-FILHO, 1995).

Alguns desses efeitos neurológicos podem deixar seqüelas, e, mesmo havendo a possibilidade de reversão, a capacidade produtiva do trabalhador pode ser afetada. Posteriormente, foram descritos, para o mesmo grupo avaliado, alterações comportamentais, quando os níveis de Pb-S encontravam-se abaixo do IBMP. Tais alterações incluíram sinais de comprometimento da memória, humor e coordenação motora fina, significativamente diferente daqueles obtidos para o grupo controle (CORDEIRO *et al.*, 1995). Sugeriu-se que o limite para os níveis de Pb-S, fosse reduzido para 32 µg/dL, ou seja, muito próximo do limite recomendado pela ACGIH, 2009.

Esta discussão vem à tona quando avaliados os resultados obtidos nas determinações de Pb-S nos trabalhadores das fundições em questão, em função da dificuldade de propor modificações no ambiente de trabalho, uma vez que níveis de até 60 µg/dL são respaldados pela legislação brasileira como dentro ou abaixo do IBMP, proposto pela NR-7 (BRASIL, 1994).

As indústrias envolvidas no estudo possuem implementado o PCMSO (Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional), proposto pela NR-7 (BRASIL, 1994), bem como realiza discussões internas quanto à questão segurança e higiene do trabalho. Esta situação, após esta avaliação, permite observar adequação às premissas recomendadas no tocante à salubridade do ambiente das empresas.

Atualmente, no quadro de profissionais das empresas, são encontrados, técnicos de segurança do trabalho e médicos do trabalho. Ainda, há a Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA), conforme a NR-5, o Programa de Prevenção de Riscos Ambientais (PPRA), conforme a NR-9, e o PCMSO, conforme a NR-7.

6.3.3 Correlações estatísticas

6.3.3.1 Correlações dos metais no ar e metais em matrizes biológicas

Com relação aos ajustes lineares as **Figuras 64, 65 e 66** ilustram as análises de regressão linear entre os metais no Ar e em matrizes biológicas, como variáveis dependentes.

Figura 64 – gráfico de regressão linear simples Pb-Ar & Pb-S.

O coeficiente de determinação encontrado foi de 0,6049 ou seja, a variável independente, Chumbo no Ar, explica 60,49% dos valores de Chumbo no sangue, sendo uma relação linear significativa através do teste F de Snedecor ($F=66,49$; $p < 0,001$; $n=31$) e a equação gerada foi $Pb-S = 0,294.Pb-Ar$. Tais dados permitem inferir que há correlação linear entre as concentrações em zona respiratória do Pb no ar e o metal na matriz biológica. Os trabalhadores podem estar expostos ao perigo Pb de modo socializado, bem como o uso do EPI pode estar sendo negligenciado. O teste Shapiro-Wilk, testando a normalidade das variáveis, demonstra que os dados possuem distribuição Normal. O valor encontrado foi de $p = 0,0987$.

Estudos atuais sobre limite de tolerância ambiental avaliados através dos níveis de Pb-Ar mostram que, para um valor limite de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (o mesmo estabelecido pela legislação brasileira), 65,0 % a 99,6 % dos trabalhadores podem apresentar Pb-S acima de $40 \mu\text{g}/\text{dL}$, dependendo do tamanho do material particulado presente no ambiente de trabalho. Segundo modelo adotado pela OSHA, que desconsidera as variações no tamanho das partículas

83,7% dos trabalhadores podem apresentar valores de Pb-S acima de 40 µg/dL. De acordo com os mesmos modelos e considerando-se um limite de 0,05 µg/m³, a estimativa dos trabalhadores com Pb-S acima de 40 µg/dl é de 19,2% a 78,0%, ou de 50,3%, como prevê a OSHA (ARAUJO *et al.*, 1999).

Vários estudos sobre a exposição ocupacional ao chumbo procuram correlacionar os níveis de Pb-S e de Pb-Ar. Os principais fatores que influenciam essa correlação são: o tamanho e a solubilidade das partículas, a taxa de ventilação pulmonar, as diferenças metabólicas individuais e, ainda, a contribuição do chumbo ósseo (SNEE *et al.*, 1985; ULENBELT *et al.*, 1991).

Figura 65 – gráfico de regressão linear simples Mn-Ar & Mn-U.

O coeficiente de determinação encontrado foi de 0,5691, ou seja, a variável independente, Manganês no ar, explica 56,91% do Manganês na urina. O modelo foi significativo através do Teste F de Snedecor ($F=5,38$; $p = 0,007$; $n=10$) e a equação gerada foi $Mn-U = 1,040.Mn-Ar$. Tais dados permitem inferir que há correlação linear entre as concentrações em zona respiratória do Mn no ar e o metal na matriz biológica. Os trabalhadores podem estar expostos ao

perigo Mn de modo socializado, bem como o uso do EPI pode estar sendo negado. O teste Shapiro-Wilk, testando a normalidade das variáveis, demonstra que os dados possuem distribuição Normal. O valor encontrado foi de $p = 0,1258$.

Figura 66 – gráfico de regressão linear simples Cd-Ar & Cd-U.

O coeficiente de determinação encontrado foi de 0,5851, ou seja, O cádmio do Ar explica 58,51% dos valores de Cádmio na urina , com um modelo significativo ($F=18,33$; $p = 0,0009$; $n=14$) e a equação gerada foi $Cd-U = 0,131.Cd-Ar$. Tais dados permitem inferir que há correlação linear entre as concentrações em zona respiratória do Cd no ar e o metal na matriz biológica. Os trabalhadores podem estar expostos ao perigo Mn de modo socializado, bem como o uso do EPI pode estar sendo renegado. O teste Shapiro-Wilk, testando a normalidade das variáveis, demonstra que os dados possuem distribuição Normal. O valor encontrado foi de $p = 0,1387$.

Não foi possível ajustar um modelo de regressão linear simples para o metal Ni, em função do pequeno número de amostras de filtros coletados em

zona respiratória com os valores em concentração superiores ao LOQ do método analítico (n=1).

6.3.3.2 Correlações dos metais no ar e a função de risco

Com relação aos ajustes lineares com análises de regressão múltiplas entre os metais no Ar e as funções de risco, variáveis independentes e as matrizes biológicas, como variável dependente, os modelos apresentara as seguintes relações:

Para o metal Pb, o coeficiente de determinação encontrado foi de 0,8243, ou seja, as variáveis independentes explicam 82,3% do Chumbo no sangue e o modelo foi significativo através do teste F de Snedecor ($F= 45,93$; $p<0,001$; $n=31$) e a equação gerada foi $Pb-S = 0,096.Pb-Ar + 12,28.Função$. Tais dados permitem inferir que há correlação linear entre as concentrações em zona respiratória do Pb no ar, o metal na matriz biológica e a função exercida. Por exemplo, a concentração estimada de chumbo no sangue de um indivíduo forneiro é $(12,28.4) = 49,12$ vezes maior considerando sua função no ambiente de trabalho, além da concentração do metal no ar.

Em relação ao metal Cd, o coeficiente de determinação encontrado foi de 0,8411 ,ou seja, as variáveis independentes explicam 84,11% a variável dependente com modelo significativo ($F= 18,33$; $p[F1]=0,0009$; $n=14$) e a equação gerada foi $Cd-U = 0,0811.Cd-Ar + 0,94.Função$. Tais dados permitem inferir que há correlação linear entre as concentrações em zona respiratória do Cd no ar, o metal na matriz biológica e a função exercida. Infere-se, por exemplo, que a concentração estimada de cádmio no sangue de um indivíduo concheiro é $(0,94 . 3) = 3$ vezes maior considerando sua função no ambiente de trabalho, além da concentração do metal no ar.

Não foram obtidas regressões significativas para os metais Ni ($F=$ e $p>0.05$) e Mn ($F=$ e $p>0.05$) em função do risco de exposição.

6.3.4 Considerações finais e recomendações para os metais em matrizes ambientais e biológicas

O método proposto apresentou-se adequado, para a análise dos metais em amostras do ar do ambiente de trabalho. As concentrações inferiores ao preconizado pela ACGIH, nos pontos coletados: a) estático – forno da fundição; b) individual - trabalhador da área de fusão e vazamento podem estar relacionados ao sistema de exaustão, a dinâmica de trabalho e/ou a composição das ligas metálicas, que se diferem entre si. As variações para um mesmo ponto (em dias diferentes de coleta) devem-se provavelmente a uma série de fatores, dentre eles: alterações climáticas, número de vazamentos realizados, volume de peças para acabamento, etc.

As análises estatísticas das concentrações determinadas em função do tipo de empresa, modo de coleta e função exercida pelos trabalhadores permitem sugerir as práticas industriais de maior ou menor impacto aos indivíduos atuantes neste setor. Ademais, o sistema de automatização de fundições pode diminuir a exposição aos fumos metálicos, perigos no ambiente de trabalho e, por si, minimizar os riscos decorrentes. Não obstante, a pode-se traçar um perfil de exposição em função das características operacionais deste processo fabril.

É importante ressaltar que essa amostragem teve caráter exploratório e não teve a finalidade de definir o perfil de exposição ocupacional nas plantas. As coletas realizadas são uma “fotografia instantânea” da produção. O perfil detalhado da exposição ocupacional deve ser definido levando-se em conta

amostragens em diferentes semanas, meses, clima e volume de produção. Além disso, coletamos amostras de sangue e urina para avaliar os níveis de certos metais nos fluidos biológicos dos trabalhadores.

Os resultados médios obtidos para a determinação dos metais Pb, Cd, Mn e Ni em fluidos biológicos, nas indústrias de metais revelam que, mesmo se tratando de um processo industrial semi-automatizado, o processo de fundição de metais não ferrosos pode ser realizado sem que os trabalhadores apresentem exposição que representem riscos à saúde. Sugere-se a adoção de máscaras do tipo PFF-2¹ aos trabalhadores dos setores das áreas da fundição enquanto não forem realizadas as modificações no sistema de exaustão.

Uma das sugestões para a **Empresa 1** que evitaria possível acidente grave é a substituição por outra forma de operação, do transporte manualmente da “colher com o fundente” que é transportado de um forno à outro. Da forma realizada, além do peso da “colher” em relação ao peso e a parte ergonômica, se houver um tropeção, pode haver um acidente de graves proporções, que com medidas simples, poderia- se fazer uma eliminação do risco (**Figura 67**).

Figura 67 - Operador em movimento, com “grande colher”, contendo o fundente de alumínio.

¹ **PFF-2**: Máscara filtrante com retenção de fumos, névoas e poeiras metálicas.

A outra sugestão é a necessidade de se implantar ventilação local exaustora nos setores de afinação, rebarba e macharia. As concentrações de metais nos fluídos biológicos desses trabalhadores foram maiores que os da área de fusão e vazamento, propriamente dita. É importante ratificar que os tamanhos das partículas dos metais, em suas formas de óxidos ou inorgânicos gerados por atrito, podem ser objetos de estudos complementares de avaliação da exposição aos elementos em fundições de metais não ferrosos.

Reafirma-se que somente por meio da melhoria contínua e da manutenção da política de educação continuada será possível obter melhores resultados produtivos tornando o segmento industrial mais competitivo, com menor risco à saúde dos trabalhadores.

6.4 Terceira etapa – determinação MDA em plasma e 8-oxodGuo em DNA de leucócitos de trabalhadores

6.4.1 MDA em plasma

Os parâmetros de validação dos métodos (LD, LQ, precisão intra e interensaio, exatidão e recuperação) para a determinação do MDA em estudo estão dispostos na **Tabela 15**.

Tabela 15 - Parâmetros de confiança para validação do método de determinação de MDA em plasma humano.

	MDA (μM)
LD	0,03
LQ	0,05
Precisão intraensaio (CV, %)	
C ₁	3,1
C ₂	6,1
Precisão interensaio (CV, %)	
C ₁	13,8
C ₂	14,9
Recuperação	
C ₁	94,9
C ₂	105,9
Exatidão	
C ₁	3,1
C ₂	6,7

* LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação; CV: Coeficiente de variação.

6.4.1.1 Linearidade

A curva de calibração apresentou-se linear na faixa de concentração informada. A equação de regressão linear e o coeficiente de correlação foram: (MDA) $y = 57247x + 8204,3$, $r^2 = 0,990$, respectivamente.

6.4.1.2 Determinação de MDA em plasma humano

6.4.1.2.1 Otimização das condições cromatográficas na determinação de MDA em plasma

A **Figura 68** ilustra um cromatograma de adição de padrão de MDA, onde não se observam picos interferentes. A análise cromatográfica do padrão de MDA foi considerada satisfatória quanto ao tempo da análise e perfil cromatográfico.

Figura 68 – Cromatograma de amostra, com a adição de padrão de MDA em plasma na concentração de 0,25 μ M.

A **Figura 69** ilustra um espectro de absorbância do complexo MDA-TBA, em 532 nm, com a adição de padrão de MDA em plasma na concentração de 0,25 μ M. A análise espectral do padrão de MDA foi considerada adequada a análise de perfil de absorbância no comprimento de onda adotado, bem como da performance do detector de arranjo diodos (PDA).

Figura 69 – Espectro de absorvância do complexo MDA-TBA, em 532 nm, com a adição de padrão de MDA em plasma na concentração de 0,25 μM .

6.4.1.2.2 Determinação de MDA em amostras de trabalhadores

A **Tabela 16** ilustra os valores (média $\pm$ D.P.) para determinação de MDA em plasma de trabalhadores de fundições de metais não ferrosos.

Tabela 16 - Concentração de MDA plasmático, segundo grupo controle (n=50) e expostos (n=55).

Determinação	Controle $\pm$ DP	Exposto $\pm$ DP	p
MDA ¹	0,09 $\pm$ 0,06	0,10 $\pm$ 0,09	0,52

¹: μM .

A **Figura 70** representa os valores de MDA em plasma dos trabalhadores pertinentes aos grupos controles (n=50) e expostos (n=55). O valor não é significativo, o valor de p = 0,52.

Figura 70 – Perfil de valores de MDA em plasma de trabalhadores.

O MDA plasmático é um biomarcador de efeito utilizado como indicador de avaliação de estresse oxidativo via peroxidação lipídica. A formação do complexo MDA-TBA é possível devido ao ataque nucleófilo envolvendo o carbono 5 do TBA e o carbono 1 do MDA, acompanhada pela desidratação e reação similar do aduto intermediário MDA-TBA com uma segunda molécula de TBA (NIELSEN *et al.*, 1997)

Relatam-se alguns métodos para determinação de MDA em amostras de plasma humano utilizando-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (NIELSEN, 1997; MUTTI, 1999; GROTTTO, 2007; LINDEN, 2008).

A vantagem deste método está na dispensa de uso de solvente de extração, como o n-octanol, o qual gera um processo de evaporação lento. O modo de operação do equipamento, de modo isocrático permite a análise de cerca de 60 amostras diárias. Os resultados obtidos com este método indicam a possibilidade de utilizá-lo na determinação do MDA plasmático de trabalhadores expostos no ambiente ocupacional.

No estudo da especificidade foi observada boa separação cromatográfica; os estudos de precisão intra e inter-ensaios, com CV < 15% demonstraram ser suficientes alíquotas de 250,0 µL de plasma para a determinação de MDA. A temperatura da incubação, de 85 °C não promoveu degradação importante do composto, provavelmente pelo uso de tubo Ependorff®, que permitiu um equilíbrio entre a pV do ácido tricloroacético e a pV do ambiente do frasco. Após o aquecimento, os tubos eram acondicionados em recipiente contendo gelo para ofertar uma menor influência na evaporação do ácido tricloroacético.

A técnica analítica proposta para a determinação de MDA plasmático demonstrou ser altamente precisa e exata, mesmo sem a utilização de padrão interno. O não emprego de PI foi devido à característica necessária deste reagir nas mesmas condições com o TBA. Além disso, seria necessária a utilização de uma molécula de aldeído estável no meio reacional. Valores adequados de sensibilidade e linearidade também foram obtidos para o analito. No parâmetro de recuperação a técnica empregada apresentou-se satisfatória demonstrando, por meio dos valores encontrados, uma perda aceitável frente às condições propostas (recuperação superior a 94,9% para o MDA). O coeficiente de determinação (r^2) foi superior a 0,99 dentro da faixa de interesse de 0,05 – 4,00 µM, estando de acordo com o preconizado pela Legislação vigente (CHASIN *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2001; BRASIL, 2003).

Na população objeto do estudo não houve diferença significativa, com o teste de Anova entre indivíduos controles e expostos ($p = 0,52$). Os níveis (média ± D.P.) foram: $0,09 \pm 0,06$ µM para o grupo controle e $0,10 \pm 0,09$ µM no grupo exposto. Porém, as quantificações resultaram em valores médios dentro dos índices relatados na literatura para populações de indivíduos entre 19 e 69 anos (NIELSEN, 1997; LINDEN, 2008).

A quantificação de MDA em amostras provenientes de coletas de sangue de trabalhadores de fundições de metais não ferrosos demonstraram tênue correlação positiva entre o Pb-S de indivíduos expostos a fumos metálicos e o MDA plasmático ($r^2 = 0,008$). Porém, aplicando-se o teste de Pearson, observa-se resultado não significativo ($p = 0,69$). Infere-se que o MDA plasmático é um biomarcador individual pouco específico, mas pode representar populacionalmente o aumento de fatores de elevação do estresse oxidativo (MUTTI, 1999).

6.4.2 Determinação de 8-oxodGuo em DNA de leucócitos

Foi padronizada o método para detecção dos adutos 8-oxodGuo em DNA (LOUREIRO *et al.*, 2002; MARTINEZ, *et al.*, 2003). As etapas referentes aos ensaios foram realizadas no Laboratório de Toxicologia Molecular e marcadores à xenobióticos, Bloco 13 B, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, com supervisão da Profa. Dra. Ana Paula Loureiro. A extração do material DNA foi desenvolvida de acordo com o procedimento do item **4.2.11**.

As curvas de calibração **diárias** para a determinação de 8oxodGUO e dGUO apresentaram-se lineares nas faixas de concentração otimizadas. As equações de regressão linear e o coeficiente de correlação foram: (dGUO) $y = 785028 x + 231716$, $r^2 = 0,998$ com os seguintes pontos (0,5 a 20,0 nmol) e da (8-oxodGUO) $y = 142,76x + 2260,1$, $r^2 = 0,994$ com os seguintes pontos (50 a 1000 fmol).

A **Figura 71** ilustra o cromatograma da dGUO e o espectro de absorbância no comprimento de onda de 250 nm em amostra de indivíduo considerado exposto.

Figura 71 - cromatograma da dGUO ($t = 9,6$ min.) e espectro de absorvância $\lambda = 250$ nm em amostra de indivíduo exposto.

A **Tabela 17** apresenta os valores (média $\pm$ D.P.) para determinação de 8-oxodGUO em DNA leucocitário de sangue periférico coletado em trabalhadores de fundições de metais não ferrosos.

Tabela 17 - Concentração de 8-oxodGUO plasmático, segundo grupo controle ($n=8$) e expostos ($n=8$).

Determinação	Controle $\pm$ DP	Exposto $\pm$ DP	p
8-oxodGUO/ 10^6 dGUO ¹	$8,7 \pm 2,1$	$5,5 \pm 0,9$	0,07

¹: 8-oxodGUO base oxidada/ 10^6 dGUO nucleotídeos não oxidados, fmol.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que as concentrações encontradas nas amostras de sangue periférico coletado de trabalhadores estão próximos aos valores apresentados na literatura atual (até 1 a 10 bases oxidadas em relação a 10^6 não oxidadas) e para a população estudada não foi observado valor estatístico diferenciado ($p = 0,07$) (DIZDAROGLU, 1998; COLLINS, 2002; COLLINS, 2004).

O marcador mais comumente medida de dano oxidativo ao DNA é a 8-oxo-7,8-dihidroxi guanina (8-oxoGua) ou o seu desoxiribonucleosídeo (8-oxodGuo). Dentre os trabalhos publicados, as estimativas de concentração de 8-oxoGua/8-oxodGuo em DNA de células humanas normais variam em um intervalo de três ordens de grandeza. Análises por métodos cromatográficos (GC-MS, HPLC com detecção eletroquímica (ECD) ou HPLC-MS/MS) são assoladas por problemas de oxidação da guanina acidental durante a preparação da amostra (COLLINS, 2004).

Uma abordagem alternativa, baseada no uso da enzima de reparo do DNA formamidopirimidina DNA N-glicosilase (FPG) para fazer pausas no DNA em sítios de bases oxidadas, apresenta valores muito inferiores. O ESCODD (Comitê Europeu de Padronização de Avaliação de Oxidação de DNA) está testando a capacidade dos diferentes laboratórios participantes, utilizando uma variedade de métodos para quantificar a 8-oxodGUO em amostras padrão de 8-oxodGUO a partir de extrações de DNA (timo de bezerro e fígado de porco), oligonucleotídeos, e em linfócitos isolados de sangue de voluntários (DIZRUGULU, 1998; COLLINS, 2002).

Vale ressaltar que o número de amostras será expandido, totalizando 50 indivíduos controle e 55 indivíduos expostos.

7. Conclusões

A técnica analítica proposta (ICP/OES), para a determinação dos metais no ar do ambiente de trabalho demonstrou ser altamente precisa e exata. Valores adequados de sensibilidade e linearidade também foram obtidos para os analitos. No parâmetro de recuperação a técnica empregada apresentou-se satisfatória demonstrando, por meio dos valores encontrados, (recuperação superior a 105,0 % para o Ni). Os coeficientes de determinação (r^2) foram superiores a 0,99 dentro das faixas de interesse de 0,04 – 20,0 mg/L [Pb; Mn] e 0,02 – 10,0 mg/L [Ni, Cd], estando de acordo com o preconizado pelas diretrizes vigentes (CAUSON, 1997; CHASIN *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2001; BRASIL, 2003).

A avaliação da exposição ocupacional foi realizada, considerando: a empresa avaliada, o tipo de função e o modo de coleta. Os valores encontrados permitiram inferências sobre os setores, graus de exposição dos trabalhadores, dinâmica dos processos produtivos e apontamento de sugestões aos empregadores parceiros. Houve correlações estatísticas adequadas para o Pb Ar & Pb sangue, o Cd-Ar & Cd-U e Mn-Ar & Mn-U. Tais observações podem ser notadas nas equações de correlação indicadas no presente trabalho, bem como os graus de exposição ou riscos de exposição.

Os métodos para a análise de Pb, Cd, Ni e Mn podem ser utilizados nas determinações em matrizes biológicas. Os resultados mostraram que os trabalhadores, em condições de exposição, estavam abaixo dos valores de referência para ACGIH e NR-7 brasileira. Neste cenário, referindo-se a estes biomarcadores, os valores médios dos indivíduos expostos estão sob o nível de ação, uma primeira abordagem para introduzir medidas de controle e prevenção.

Tal afirmativa é reforçada considerando que a média das determinações em fluidos biológicos:

- 1) Pb-S revelaram níveis de chumbo para os trabalhadores expostos – $15,35 \pm 7,61 \mu\text{g/dL}$ sendo superiores aos indivíduos controles – $3,45 \pm 3,24 \mu\text{g/dL}$ ($p < 0,0001$);
- 2) O Mn-U apresentou níveis médios de $0,69 \pm 0,67 \mu\text{g/g}$ creatinina para os indivíduos controle. Quanto os indivíduos considerados expostos, os níveis encontrados em média $\pm$ D.P. foram de $2,63 \pm 1,83 \mu\text{g/g}$ creatinina ($p = 0,0325$);
- 3) O nível de Ni-U no grupo controle apresentou níveis médios de $5,13 \pm 4,96 \mu\text{g/g}$ creatinina, valores são considerados acima dos valores de referência para a população não exposta ocupacionalmente. Nos trabalhadores considerados expostos, os níveis encontrados em média $\pm$ D.P. foram de $5,12 \pm 4,78 \mu\text{g/g}$ creatinina. Porém, no cenário de fundições de metais sanitários, em trabalho de OLIVEIRA *et al.* (2000), valores de $14,7 \pm 13,5 \mu\text{g/g}$ creatinina foram obtidos em trabalhadores de setores correlatos ao avaliado no presente trabalho.
- 4) Na determinação de Cd-U obtiveram-se valores a média do grupo controle em questão de $1,06 \pm 1,01 \mu\text{g/g}$ creatinina. Nos indivíduos considerados expostos, os níveis encontrados em média $\pm$ D.P. foram de $1,96 \pm 1,81 \mu\text{g/g}$ creatinina. Tais magnitudes encontram-se próximas aos valores de referência em estudos de populações não expostas ocupacionalmente (NORDBERG *et al.*, 2005; DAVIS *et al.*, 2006).

É certo que os níveis dos metais nos trabalhadores são menores que os considerados críticos pelas legislações. Os cenários avaliados são consoantes com a literatura científica, que apresenta exemplos de sucesso na iniciativa de

diminuir à exposição a fumos metálicos em fundições. Sendo focados, desde a década de 90, estudos com a finalidade de minimizar a exposição, reduzindo as exposições em fundições, com propostas de sistemas de ventilação adequados (EDMONDS *et al.*, 1993) e a avaliação da eficiência de protetores respiratórios (MYERS *et al.*, 1996).

A determinação de MDA em plasma por HPLC / PDA foi validada. Os resultados obtidos mostram que os níveis mais elevados do produto da peroxidação lipídica em amostras de plasma de trabalhadores de fundição de ligas não ferrosas, quando comparado ao grupo controle não exposto. O aumento da peroxidação lipídica pode representar maior risco de desenvolvimento da doença para esses indivíduos, como o câncer e outras doenças degenerativas, o que deve ser investigado.

Os valores médios das lesões avaliadas por métodos cromatográficos foi de 5,23 8-oxodGuo/ 10^6 dGuo, com um intervalo de estimativas 120 vezes entre o menor e maior valor. A variação dos resultados de métodos enzimáticos avaliados foi de 0,79 a 106, com um intervalo de 83 X. A idéia do Instituto ESCODD é padronizar e uniformizar os procedimentos analíticos que envolvam as análises de adutos de DNA, desde o momento de extração, na etapa de hidrólise e detecção cromatográfica nos diferentes instrumentais (COLLINS, 2002).

8. Referências

[ABHO], ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HIGIENISTAS OCUPACIONAIS. **Limites de Exposição - TLVs® e índices Biológicos - BEIs®**. ACGIH, 2009, 219 p.

[ACGIH], AMERICAN CONFERENCE of GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HIGYENISTS. **TLVs®**, Cincinnati: ACGIH, 2009.

[ABIFA], ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE FUNDIÇÃO. Índices de Mercado: Produção de Fundidos: março de 2006. São Paulo. Disponível em: http://www.abifa.org.br/mercado/mercado_prod_fun.asp. Acesso em 01/05/06.

ALTEKAR R. V. Developing Supply Chain Management (SCM) Strategy for Indian Foundry Sector – Challenges and Issues”. *Rev. Fund. Mat. Prim.*, v. 60, p. 2, 2004.

ANGERER, J.; EWERS, U.; WILHELM, M. Human biomonitoring: State of the art. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, Bochum, v. 210, p. 201–228, 2007.

ANTUNES, M. V.; LAZZARETTI, C.; GAMARO, G. D.; LINDEN, R. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. *Rev. Bra. Cienc. Farm.*, São Paulo, v. 44, n. 2, 2008.

APOSTOLI, P. Elements in environmental and occupational medicine. *J. Chromatogr. B.*, Amsterdam, v. 778, p. 63 – 97, 2002.

ARAUJO, U. C.; PIVETTA, F. R.; MOREIRA, J. C. Avaliação da exposição ocupacional ao chumbo: proposta de uma estratégia de monitoramento para prevenção dos efeitos clínicos e subclínicos. *Cad. Saúde Publ.*, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 123 - 131, 1999.

[ATSDR], AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND REGISTRY. **Toxicological profile for cadmium**. Atlanta: ASDR, 1999. <http://www.atsdr.cdc.gov/>. Acesso em 01/05/06.

[ATSDR], AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND REGISTRY. **Toxicological profile for lead**. Atlanta: ASDR, 2005. <http://www.atsdr.cdc.gov/>. Acesso em 01/05/06.

[ATSDR], AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND REGISTRY. **Toxicological profile for manganese**. Atlanta: ASDR, 2005. <http://www.atsdr.cdc.gov/>. Acesso em 01/05/06.

[ATSDR], AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND REGISTRY. **Toxicological profile for nickel**. Atlanta: ASDR, 2003. <http://www.atsdr.cdc.gov/>. Acesso em 01/05/06.

BASU, A.; MAHATA, J.; GUPTA, A. K.G. Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. *Mutat. Res.*, Orlando, v. 488, p. 171 – 194, 2001.

BAUMGÄRTEL, I. **Dangerous Working Substances in Foundries - Mold Materials**. Vienna: International Section for the Prevention of Occupational Accidents and Diseases in the Iron and Metal Manufaturing Industry of the International Social Security Association, 1984, 43 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. [ANVISA] – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resoluções. **Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Anexo I: Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. 2003. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm. Acesso em: 13/10/2007.

[BRASIL] - Ministério do Trabalho e Emprego. **NORMA REGULAMENTADORA nº 7**. Brasil: Ministério do Trabalho e Emprego, 1978. Disponível em: <http://www.mte.gov.br/empregador/segsau/legislacao/normas/conteudo/nr07/default.asp> Acesso em: 07/03/2005.

[BRASIL] - Ministério do Trabalho e Emprego. **NORMA REGULAMENTADORA nº 15**. Brasil: Ministério do Trabalho e Previdência, 1994. Disponível em: <http://www.mte.gov.br/empregador/segsau/legislacao/normas/conteudo/nr15/default.asp>. Acesso em: 07/03/2005.

[BRASIL] - Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação Nacional de Controle de Tabagismo - CONTAPP. "Falando Sobre Câncer e Seus Fatores de Risco". Rio de Janeiro, 1996. Disponível em: http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=319 Acesso em: 04/03/2008.

BURGOA, C. S; CAMILO, R.; MERCADO, L.A.; SERRANO, R.A.; VALLE, F.C.; WYNTER, R.A.E.; SANGRADOR, J.L.T.; BARRAGAN, J.P.V.; AGUDELO, Y.R.; MONTES, S. Exposure to manganese: health effects on general population, a pilot study in central Mexico. *Environ. Res.*, v. 85, n. 2, p. 90 – 104, 2001.

BURGESS W.A. **Identificação de Possíveis Riscos à Saúde do Trabalhador nos Diversos Processos Industriais**. Belo Horizonte: Ergo Editora Ltda, 1997.

CARNEIRO, M. R. G. *et al.* Fatores de risco ambientais para o câncer gástrico: a visão do toxicologista. **Cad. Saúde Publ.**, Rio de Janeiro, v. 13, 1: 27 – 38, 1997.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analyses – Viewpoint and discussion. **J. Chromatogr. B.**, Amsterdam, v. 689, p. 175-180, 1997.

[CDA] - COOPER DEVELOPMENT ASSOCIATION. **Composição das ligas de cobre-latão**. Cooper & Cooper Alloy Microstructures: Brasses. Disponível em <http://www.cooper.org/resources/properties/microstructure.html>. Acesso em: 16/05/06.

CHANG, F. H.; CHANG, H.J.; WANG, S. L.; WANG, Y.C.; WANG, D.P.H.; HSIEH, L. W.; CHANG, Y. C. K. Survey of urinary nickel in residents of areas with a high density of electroplating factories. **Chemosphere** v. 65, p. 1723 – 1730, 2006.

CHASIN, A.A.M.; NASCIMENTO, E. S.; NETO, L.M.R.; SIQUEIRA, M.E.P.B.; ANDRAUS, M.H.; SALVADORI, M.C.; FERNÍCOLA, N.A.G.; GORNI, R.; SALCEDO, S. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. **Rev. Bras. Tox.**, São Paulo, v. 11 (1), 1-6, 1998.

CHASIN, A. A. M.; CARDOSO, L. M. N. **Cádmio**. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. Metais: Gerenciamento da toxicidade. 1. ed. São Paulo: Atheneu, p. 263 - 298, 2003.

CHEN, L.; BOWEN, P. E.; ERZY, D.; ARYEE, F.; STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M.; RILEY, R. E. Diet modification affects DNA oxidative damage in healthy humans. **Free Rad. Biol. Med.**, New York, v. 26, n. 5 – 6, p. 695 - 703, 1999.

COLACIOPPO, S. **Higiene e Toxicologia Ocupacional**. Apostila da disciplina de Higiene e Toxicologia Ocupacional - HSA 5740. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 135 p., 2003.

COLLINS, A. R *et al.* Inter-laboratory Validation of Procedures for Measuring 8-oxo-7,8-dihydroguanine/8-oxo-7,8-dihydro-20-deoxyguanosine in DNA. **Free Rad. Res.**, London, v. 36 (3), p 239–245, 2002.

COLLINS, A. R *et al.* Are we sure we know how to measure 8-oxo-7,8-dihydroguanine in DNA from human cells? **Arch. Biochem. Bioph.**, v. 423, p. 57 – 65, 2004.

CORDEIRO, R. **Quando Começa o Saturnismo?** Tese de Doutorado, São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. 1995.

CORDEIRO, R. & LIMA-FILHO, E. C. A inadequação dos valores dos limites de tolerância biológica para a prevenção da intoxicação profissional pelo chumbo no Brasil. **Cad. Saude P.**, v. 11, p. 177 – 186, 1995.

DANADEVI, K.; ROZATI, R., BANU, B. S.; RAO, P. H.; GROVER, P. DNA damage in workers exposed to lead using comet assay. **Toxicology**, New York, v. 187, p. 183 – 193, 2003.

DAVIS, D. L. *et al.* The need to develop centers for environmental oncology. **Biomed. Pharm.**, Dallas, v. 61; 614 – 622, 2007.

DAVIS, A. C.; WU, P.; ZHANG, X.; HOU, X. Determination of Cadmium in Biological Samples. **Appl. Spectr. Rev.**, v. 41, p. 35–75, 2006.

DELLA ROSA, H. V.; SIQUEIRA, M. E. B.; COLACIOPPO, S. **Monitorização Ambiental e Biológica.** In. OGA, S. Fundamentos de Toxicologia. 2. ed. São Paulo: Atheneu, p. 148-161, 2003.

DIZDAROGLU, M. Facts About the Artifacts in the Measurement of Oxidative DNA Base Damage by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Free Rad. Res.**, London, v. 29, p. 551 – 563, 1998.

DOBSON, A.W., ERIKSON, K.M., ASCHNER, M. Manganese neurotoxicity: Redox-Active Metals in Neurological Disorders Annals of the New York Academy of Sciences. v. 1012, p. 115-128, 2004.

DONNE, I. D. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. **Clin. Chem.** v. 52 (4), p. 601 – 623, 2006.

EDMONDS M. A.; GRESSEL M. G.; O' BRIEN D. M.; CLARK N. J. Reducing exposures during the pouring operations of a brass foundry. **Am. Ind. Hyg. Assoc.** v. 54, n. 5, p. 260 - 266, 1993.

EPA [ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY]. **Lead.** Disponível em: <http://www.epa.gov/lead/>. Acesso em: 15/10/2009.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Rad. Biol. Med.**, New York, v. 11, p. 81 - 128, 1991.

FARIA, P. M. **Avaliação da exposição ocupacional aos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) em uma usina de asfalto.** São Paulo, 2003. 162 p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

[FUNDACENTRO] - Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho. **Bernadino Ramazini: As Doenças dos Trabalhadores.** Tradução de Raimundo Estrela. 2. ed. São Paulo: Fundacentro, 242 p., 1999.

[FUNDACENTRO] - Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho. **Relatório de fundições.** São Paulo, 24 p., 2002.

GARNER, B.; WITTING, P. K.; WALDECK, A. R.; CHRISTISON, J. K.; RAFTERY, M.; STOCKER, R. Oxidation of High Density Lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, Maryland, v. 273, n.11, p. 6088 - 6095, 1998.

GREENLEY, T. L.; DAVIES, M. J. Direct detection of radical generation in rat liver nuclei on treatment with tumour-promoting hydroperoxides and related compounds. *Biochim. Biophys. Acta*, Oklahoma, v. 1226, p. 56 - 64, 1994.

GROTTO, D; SANTA MARIA. L. D.; BOEIRA, S.; VALENTINI, J.; CHARÃO, M. F.; MORO, A. M.; NASCIMENTO, P. C.; POMBLUMC, V. J.; GARCIA, S. C. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography – visible detection. *J. Pharm. Biom. Anal.*, New York, v. 43, p. 619 – 624, 2007.

HARRIS, D. C. **Espectroscopia atômica.** In. HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa.* 5. ed. São Paulo: LTC Editora, p. 526 – 549, 2002.

HERMIDA, S.A.S.; POSSARI.; E.P.M.; SOUZA, D. B; CAMPOS,I.P.A.; GOMES, O. F.; DI MASCIO, P.; MEDEIROS, M.H.G.; LOUREIRO, A.P.M. 2'-Deoxyguanosine, 2'-Deoxycytidine, and 2'-Deoxyadenosine Adducts Resulting from the Reaction of Tetrahydrofuran with DNA Bases. *Chem. Res. Tox.* Nashville, v. 19, p. 99 1-04, 1994.

HIDALGO, F. J.; ZAMORA, R. Modification of bovine serum albumin structure following reaction with 4,5(E)-epoxy-2(E)-heptenal. *Chem. Res. Toxicol.*, Nashville, v. 13 , p. 501 - 508, 2000.

HU, C. W.; PAN, C. H.; HUANG, Y. L.; WU, M. T.; CHANG, L. W.; WANG, C. J.; CHAO, M. R. Effects of arsenic exposure among semiconductor workers: A cautionary note on urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxiguanosine. *Free Rad. Biol. Med.*, New York, v. 40, p. 1273 – 1278, 2006.

IARC [INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER]. List of monographs. Overall Evaluations of Carcinogenicity to Humans – **Cadmium**. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>. Acesso em: 15/10/2009.

IARC [INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER]. List of monographs. Overall Evaluations of Carcinogenicity to Humans – **Lead**. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>. Acesso em: 15/10/2009.

IARC [INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER]. List of monographs. Overall Evaluations of Carcinogenicity to Humans – **Niquel**. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>. Acesso em: 15/10/2009.

IARC [INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER]. List of monographs. Overall Evaluations of Carcinogenicity to Humans – **Manganese**. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>. Acesso em: 15/10/2009.

[ILO] – INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION. Code of practice on safety and health in the iron and steel industry. Geneva: International Labour Office, p. 117, 2005.

KIILUNEN, M. **Occupational exposure to chromium and nickel in Finland and its estimation by biological monitoring**. Helsinki: Institute of Occupational Health - Biomonitoring Laboratory. 215 p., 1994.

KITCHIN, K. T. Recent advances in arsenic carcinogenesis: modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, New York, v. 172, p. 249 -261, 2001.

KUMMROW, F.; SILVA, F. F.; KUNO, R.; SOUZA, A. L.; OLIVEIRA, P.V. Biomonitoring method for the simultaneous determination of cadmium and lead in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry for assessment of environmental exposure. *Talanta*, v. 75, p. 246 - 252, 2008.

LAUWERYS, R. R. **Occupational toxicology**. In: Klassen, C. D.; AMDUR, M.O.; DOULL, J., eds. Casarett & Doll's Toxicology: the basic science of poisons. 5. ed. New York: Mac-Graw Hill, cap. 33, p. 987 – 1010, 1996.

LIU, X.; LOVELL, M. A.; LYNN, B.C. Development of a method for quantification of acrolein-deoxiguanosine adducts in DNA using isotope dilution-capillary LC/MS/MS and its application to human brain tissue. ***Anal. Chem.***, New York, v. 77, p. 5982 – 5989, 2005.

LOPES, C. R. Fundições de ferro: ligas essenciais para o futuro. ***Rev. Fund. Mat. Pr.***, São Paulo, v. 4, p. 24 – 35, 2004.

LOUREIRO, A.P.M., MARQUES, S.A., GARCIA, C.C.M., DI MASCIO, P., MEDEIROS, M.H.G. Development of an on-line liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry assay to quantitatively determine 1,*N*²-etheno-2'-deoxyguanosine in DNA. ***Chem. Res. Toxicol.***, Columbus, v. 15, p. 1302-1308, 2002. (a)

LOUREIRO, A.P.M., DI MASCIO, P., MEDEIROS, M.H.G. Formação de adutos exocíclicos com bases de DNA: implicações em mutagênese e carcinogênese. ***Quim. Nova***, São Paulo, v. 25, n. 5, p. 777 - 793, 2002. (b)

LU, H.; SHI, X.; COSTA, M.; HUANG, C. Carcinogenic effect of nickel compounds. ***Mol. Cell. Biol.***, Washington, v. 279, p. 45 – 67, 2005.

MARTINS, I. **Manganês**. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. Metais: Gerenciamento da toxicidade. 1. ed. São Paulo: Atheneu, p. 67 - 97, 2003.

MARTINEZ, G.R., LOUREIRO, A.P.M., MARQUES, S.A., MIYAMOTO, S., YAMAGUCHI, L.F., ONUKI, J., GARCIA, C.C.M., BARBOSA, L.F., MEDEIROS, M.H.G., DI MASCIO, P. Oxidative and alkylating damage in DNA. ***Mutat. Res. Rev. in Mutat. Res.***, New York, v. 544, p. 115 - 127, 2003.

MIRER, F. E. **Fudiciones**. In: STELLMANN, L. Enciclopedia de Salud Y Seguridad en el Trabajo, 3. ed. v. II Madrid:Oficina Internacional del Trabajo – OIT, Ministério del Trabajo Y Assuntos Sociales, 1998, p. 8215 - 22.

MUTTI, A. Biological monitoring in occupational and environmental toxicology. ***Toxicol. Lett.***, Amsterdam, v. 108, p. 77 – 89, 1999.

MUTTI, A.; WATSON, W. P. Role of biomarkers in monitoring exposures to chemicals: present position, future prospects. ***Biomarkers***, Washington, v. 9, n. 3, p. 211 - 242. 2004.

[MYERS W.R.](#); [ZHUANG, Z.](#); [NELSON, T.](#) Field performance measurements of half-piece respirations in foundry operations. ***Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*** v. 57, n. 2, p. 166 - 74, 1996.

NIELSEN, F.; MIKKELSEN, B. B.; NIELSEN, J. B.; ANDERSEN, H. R.; GRANDJEAN, P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin. Chem.*, Washington, v. 43, n. 7, p. 1209 – 1214, 1997.

[NIOSH], National Institute for Occupational Safety and Health. **Health and Safety Guide for Foundries**. USA, 1976, p. 9 - 14.

[NIOSH] – National Institute for Occupational Safety and Health. Centers for Disease Control and Prevention. Material Safety Data Sheets. Disponível em: <http://www.cdc.gov/niosh/topics/chemical-safety/>. Acesso em: 15/02/2008.

[NMAM-NIOSH], **Manual of Analytical Methods – Elements by ICP**. 3. ed. Washington: National Institute for Occupational Safety and Health, 11 p., 2003. (Method 7300, v. 3, Data: 15 de março de 2003).

NORDBERG, G.F.; JINA, T.T.; HONGC, F.; ZHANGC, A.; BUCHET, J.P.; BERNARD, A. Biomarkers of cadmium and arsenic interactions. *Tox. Appl. Pharm.*, v. 206, p. 191– 197, 2005.

OBERDORSTER *et al.*, **Toxic responses of the respiratory tract**. In: KLASSEN, C. D.; AMDUR, M.O.; DOULL, J., eds. Casarett & Doll's Toxicology: the basic science of poisons. 7. ed. New York: Mac-Graw Hill, cap. 15, p. 609 – 617, 2008.

OECD. Organisation for Economic Co-Operation and Development. Guidelines for the Testing of Chemicals. Disponível em: http://www.oecd.org/topic/0,3373,en_2649_34377_1_1_1_1_37465,00.html Acesso em: 04/03/2008.

OLIVEIRA, J. P. **Niquel**. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. Metais: Gerenciamento da toxicidade. 1. ed. São Paulo: Atheneu, p. 127 - 142, 2003.

OLIVEIRA, J. P.; SIQUEIRA, M. E. P. B.; SILVA, C. S. Urinary nickel as bioindicator of worker's Ni exposure in a galvanizing plant in Brazil. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, v. 73, p. 65 – 68, 2000.

[OPAS] ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE. **Saúde do trabalhador**. 2004. Disponível em: <http://www.opas.org.br/saudedotrabalhador/Sala/Salas.cfm?HOBSSNUMCOD=17#Gestão%20de%20Substâncias%20Químicas>. Acesso em: 01/03/2007.

[OSHA] OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH ADMINISTRATION. International Chemical Safety Cards. Disponível em: <http://www.cdc.gov/niosh/topics/chemical-safety/>. Acesso em: 15/02/2008.

PAIVA, L.; MARTINEZ, V.; CREUS, A.; QUINTEROS, D.; MARCOS, R. Sister Chromatid Exchange Analysis in Smelting Plant Workers Exposed to Arsenic. *Environ. Mol. Mutagen.*, Wheinhem, v. 47, p. 230 – 235, 2006.

PAOLIELLO, M. M. B. et al. Valores de referência para plumbemia em uma população urbana do sul do Brasil. *Rev. Panam. Salud Publica.*, v.9, n.5, p. 315-319, 2001.

PAOLIELLO, M. M. B.; DE CAPITANI, E. M. **Chumbo**. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. Metais: Gerenciamento da toxicidade. 1. ed. São Paulo: Atheneu, p. 353 - 398, 2003.

PEDROSO, M. F. M. **Toxicovigilância (monitorização) da exposição de populações a agentes tóxicos**. In: As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia. 1. ed. São Paulo: Intertox, p. 167 – 219, 2003.

PEIXE, T.S.; NASCIMENTO, E. Análise de fenol em amostras do ar e de urina de trabalhadores de fundição de metais. *Rev.Bras. Tox.* v. 21, n. 2 p. 60 – 69, 2008.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. S.F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluídos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Quim. Nova*, São Paulo, v. 1, p. 68 - 76, 2001.

QUITÉRIO, S. L.; SOUSA, C. R.; ARBILLA, G.; ESCALEIRA, V. Evaluation of levels, sources and distribution of airborne trace metals in seven district of Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, Brazil. *Atm. Environ.*, New York, v. 39, p. 3503 – 3512, 2005.

RIBEIRO M. G., FILHO W. R. P. Risk assessment of chemicals in foundries: The International Chemical Toolkit pilot-project. *J. Haz. Mat.* v. 136, p. 432 – 437, 2006.

RODAHL K. Occupational Health Conditions in Extrem Environments. *Annals Occup. Hyg.*, v. 47, p. 241, 2003.

ROSENMAN K. D.; REILLY M. J.; RICE C.; HERTZBERG V.; TSENG C. Y.; ANDERSON H. A. Silicosis among foundry workers. Indication for the need to revise the OSHA standard. *Am. J. Epidem.*, v. 144, p. 890, 1996.

SALOMON, R. G.; KAUR, K.; PODREZ, E.; HOFF, H. F.; KRUSHINSKY, A. V.; SAYRE, L. M.; HNE-derived 2-pentylpyrroles are generated during oxidation of LDL, are more prevalent in blood plasma from patients with renal disease or atherosclerosis, and are present in atherosclerotic plaques. **Chem. Res. Toxicol.**, Nashville, v. 13 , p. 557 - 564, 2000.

SANTOS, C. R. **Avaliação dos Indicadores Biológicos de Exposição aos metais em trabalhadores de fundições**. São Paulo, 2004. 132 p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

SANTOS, C. R.; Rodrigues, R. S.; Silva, C. S.; Nascimento, E. S. Determination of lead in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry using Zeeman correction and sample stability. **J. Rad. Nucl. Chem.**, v. 269 (2), p. 481 – 485, 2006.

SAKUMA, A. M.; DE CAPITANI, E. M.; TIGLEA, P. **Arsênio**. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. Metais: Gerenciamento da toxicidade. 1. ed. São Paulo: Atheneu, p. 203 - 238, 2003.

SILVA R. J.; MORABITO R. Otimização da Programação de Cargas de Forno em uma Fábrica de Fundição em Aço-Inox. **Gestão & Produção**, v. 11, p. 135, 2004.

SLYSKOVA, J. *et al.* Relationship between the capacity to repair 8-oxoguanine, biomarkers of genotoxicity and individual susceptibility in styrene-exposed workers. **Mutat. Res.**, London, V. 634; 101 -111, 2007.

SNEE, R. D.; BAILEY, S. P .; FELLNER, W. H. & PFEIFER, C. G. Variation in the relationship between blood lead and air lead. **Atm. Environ.** v. 19, p. 1.017 - 1.020, 1985.

SOUZA, R. M.; MELIANDE, A. L. S.; SILVEIRA, C. L. P.; AUCELIO, R. Q. Determination of Mo, Zn, Cd, Ti, V, Fe, Mn, Cr and Cu in crude oil using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and sample introduction as detergentless microemulsions. **Microchem. J.**, New York, v. 82, p. 137 – 141., 2006.

SWENBERG, J. A. *et al.* Biomarkers in toxicology and risk assessment: informing critical dose-response relationships. **Chem. Res. Toxicol.**, Nashville, v. 21, p. 253 – 265, 2008.

THORME, P. S. **Occupational Toxicology**. In: CASARET, L. J. & DOULL'S, J. Essentials of Toxicology. New York: McGraw-Hill, p. 453 – 61, 2003.

TOPINKA, J. *et al.* Biomarkers of air pollution exposure - A study of policemen in Prague. **Mutat. Res.**, London, v. 624; 9-17, 2007.

ULENBELT, P.; LUMENS, M. E. G. L.; GÉRON, H. M. A.; HERBER, R. F. M.; BROERSEN, S. ; ZIELHUIS, R. L. Work hygienic behaviour as modifier of the lead air-lead blood relation. **Int. Arch. Occup. Env. Health**, v. 63, p. 89 – 95, 1990.

[U.S.EPA] UNITED STATES – ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Framework for Determining a Mutagenic Mode of Action for Carcinogenicity.**

Disponível em: <http://www.epa.gov/osa/mmoaframework/index.htm>. Washington: U.S. EPA, 166 p., 2005. EPA/630/P-03/001. Acesso em: 02/03/2009.

VAINIO, H. Use of biomarkers – new frontiers in occupational toxicology and epidemiology. **Toxicol. Lett.**, Amsterdam, v. 102 - 103, p. 581 – 589, 1998.

VAINIO, H. Use of biomarkers in risk assessment. **Int. J. Hyg. Environ. Health** v. 204, p. 91 – 102, 2001.

VALAVANIDIS, A.; VLAHOYIANNI, T.; FIOTKIS, K. Comparative study of the formation of oxidative damage marker 8-hydroxy-2'-deoguanosine (8-OHdG) adduct from the nucleoside 2'-deoxiguanosine by transition metals and suspensions of particulate matter in relation to metal content and redox reactivity. **Free Radic. Res.**, London, v. 39, p. 1071 – 1081, 2005.

VALKO, M. RHODES, C. J.; MONCOL, M. I.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemic. Biol. Interact.**, Whashington, v. 160, p. 1 – 40, 2006.

VIAU, C. Biological monitoring of exposure to mixtures. **Toxicol. Lett.**, Amsterdam, v. 134, p. 9 -16, 2002.

[WARD, L. S.] Entendendo o Processo Molecular da Tumorigênese. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v. 46, n. 4, 2002.

[WHO], World Health Organization. **Inorganic Lead.** Environmental Health Criteria 165. IPCS - International Programme on Chemical Safety. Geneva, 632 p., 1995.

[WHO], World Health Organization. **Cadmium.** Environmental Health Criteria 134. IPCS - International Programme on Chemical Safety. Geneva, 233 p., 1992.

[WHO], World Health Organization. **Manganese**. Environmental Health Criteria 17. IPCS - International Programme on Chemical Safety. Geneva, 117 p., 1981

[WHO], World Health Organization. **Nickel**. Environmental Health Criteria 108. IPCS - International Programme on Chemical Safety. Geneva, 123 p., 1991.

WILLAMS, P. L. *et al.* **Principles of toxicology: environmental and industrial applications**. 2. Ed. New York: John Wiley & Sons. 2000, p. 384 - 385.

WHATAB, S. A.; YAGHI, B. Total suspended dust and heavy metal level emitted from a workplace compared with nearby residential houses. **Atm. Environ.**, New York, v. 38, p. 745 – 750., 2004.

YANG, X. *et al.* Using Lymphocyte and Plasma Hsp70 as Biomarkers for Assessing Coke Oven Exposure among Steel Workers. **Environ. Health Perspect.**, New York, v. 115; 11: 1573 – 1577, 2007.

YOKOTA, K; JOHYAMA, Y.; KUNITAN, Y.; MICHITSUJI, I.; YAMADA, S. Urinary elimination of nickel and cobalt in relation to airborne nickel and cobalt exposures in a battery plant. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, Washington, v. 80, p. 527 – 531, 2007.

XIAO, C. *et al.* Association of HSP70 and genotoxic damage in lymphocytes of workers exposed to coke-oven emission. **Cell. Stress Chaperones**, Storrs, v. 7, 4: 396 – 402 2007.

ZANETTI M.C.; FIORE S. Foundry processes: the recovery of green moulding sands for core operations. **Resour. Conserv. Rec.**, v. 38, p. 243, 2002.

9. Publicações relacionadas ao trabalho

9.1 Apresentações orais

- a) Apresentação Oral no IV Workshop em Gestão Integrada: Riscos e Prevenção de Danos Ambientais e Ocupacionais, 2008. Trabalho “Proteção à Saúde do Trabalhador: um estudo comparativo entre regulamentações da Espanha, dos EUA e Brasil.”
- b) Apresentação Oral no I Congresso de Toxicologia Clínico-Laboratorial, 2008. (Congresso) – “Determinação de Pb, Al e Ni por ICP/OES no ar do ambiente de trabalho de uma fundição de ligas metálicas de bronze.”

9.2 Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

PEIXE, T, NASCIMENTO, E, PEDREIRA, W, SILVA, C. Avaliação da exposição a metais no ar do ambiente de trabalho: aplicação da ferramenta MOE (Margin Occupational Exposure) In: XIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2008, São Paulo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, 2008.

PEIXE, T. S., NASCIMENTO, Elisabeth, SILVA, Carlos Sérgio, Pedreira, W.R. Determinação de Pb, Al e Ni por ICP/OES no ar do ambiente de trabalho de uma fundição de ligas metálicas de bronze In: I Congresso de Toxicologia Clínico-Laboratorial, 2008, Porto Alegre. **Anais do I Congresso de Toxicologia Clínico-Laboratorial**. , 2008. v.1. p. 13 - 13

PEIXE, T, NASCIMENTO, E, PEDREIRA, W, SILVA, C. Determination of Pb, Al and Ni using ICP/OES in the workplace of a bronze alloy foundry In: 45 Congress of the European Societes of Toxicology, 2008, Rhodes. **Toxicology Letters**. 2008. v.S180. p.S148 - S148

PEIXE, T, SCHOFIELD, K. Trends in nanotoxicology exposure at the occupational exposure level In: 45 Congress of the European Society of Toxicology, 2008, Rhodes. **Toxicology Letters**. , 2008. v.180S. p.S225 - S225.

PEIXE, T, NASCIMENTO, E, SILVA, C. Determination of Pb, Al and Ni using ICP/OES in the workplace of a bronze alloy foundry In: 46 Congress of the European Societes of Toxicology, 2009, Dresden. **Toxicology Letters**. 2009. v.189 S. p.220 – 220.

PEIXE, T, LOUREIRO, A, SILVA, C Trends in nanotoxicology exposure at the occupational exposure level In: 46 Congress of the European Society of Toxicology, 2009, Dresden. **Toxicology Letters**. , 2009. v.189S. p.117 – 117.

PEIXE, T, NASCIMENTO, E, BUSSACOS, M SILVA, C. Biomonitoramento de Pb, Cd, Mn e Ni em fundições não ferrosas. In: XVI Brasileiro de Toxicologia, Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Toxicologia** 2009. v. I. PO 393.

9.3 Trabalhos completos em periódicos (submetidos).

- a) PEIXE, T. S.; NASCIMENTO, E. S.; SILVA, C.S.; PEDREIRA, W.; BUSSACOS, M. Occupational exposure profile of Pb, Mn and Cd by ICP-OES in non ferrous Brazilian alloy foundries. **J. Occup. Environ. Hyg.**, Chicago, 2009 (Sob revisão) – ANEXO IV.
- b) PEIXE, T. S., NASCIMENTO, E. Proteção à Saúde do Trabalhador: um estudo comparativo entre regulamentações da Espanha, dos EUA e Brasil. **Rev. Bras. Saúde Ocup.**, São Paulo, 2009. (Sob revisão) – ANEXO V.

9.4 Trabalhos completos em periódicos (em redação)

- a) PEIXE, T. S., NASCIMENTO, E.; LOUREIRO, A. P. M. Oxidative stress biomarkers MDA and 8-oxodG correlation with Pb, Cd and Ni exposure in no ferrous metals foundries. **Chem. Res. Toxicol.**, Columbus, 2009.

ANEXO I

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Secretaria de Pós-Graduação

**Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de
Mestrado/Doutorado**

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.

3. A sessão de defesa será aberta ao público.

4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.

4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 18 de março de 2005.
Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco
Presidente da CPG/FCF/USP

ANEXO II**QUESTIONÁRIO****Amostra nº:** _____**1. Identificação**

1. Nome: _____
2. Nascimento: ____/____/____ Peso: ____ Kg
Altura: ____
3. Endereço: _____
4. Até que série estudou? _____
5. Área de trabalho: _____

2. Sobre seu trabalho

1. Quantas horas trabalha por dia? _____
2. Quantas vezes por semana você trabalha neste setor?
() 1 () 2 () 3 () 4 () Todos os dias
3. Há quanto tempo tem este emprego? _____
4. Tem algum outro emprego ou bico? () sim () não
Se sim, o que faz? _____
5. Qual a profissão anterior? _____

3. Hábitos pessoais

1. **Fuma?** () sim () não () Parei de fumar Há quantos anos? ____
Quantos cigarros por dia? ____ Há quantos anos? _____

2. Bebidas**Alcoólicas** () sim () não

Qual bebida? _____ Quanto por dia? _____ doses

Refrigerante () sim () não

Suco de fruta () sim () não

Qual(is) fruta(s)? _____

3. Alimentação

Manteiga ou margarina ? () sim () não

Qual a quantidade ? - ex. 15g. uma colher de sopa. _____

4. Medicamentos () sim () não Qual (is)? _____

Quantas vezes por semana? _____

Complexos vitamínicos () sim () não Qual (is)? _____

Quantas vezes por semana? _____

5. Alguma doença crônica? () sim () não Qual(is)? _____

ANEXO III

AMOSTRA____

Universidade de São Paulo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU LEGAL RESPONSÁVEL**1. Nome do Sujeito da Pesquisa:**

.....

Documento de Identidade Nº :.....Sexo: ()M ()F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:.....Nº:.....Apto:.....

Bairro:.....Cidade:.....

CEP:.....Telefone:.....

2. Responsável

Legal:.....

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.):.....

Documento de Identidade Nº:.....Sexo: ()M ()F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:.....Nº:.....Apto:.....

Bairro:.....Cidade:.....CEP:.....Tel:.....

II – DADOS SOBRE A PESQUISA

1. Título do Protocolo de Pesquisa: “AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AOS METAIS Pb, Cd, Mn, Ni e As EM FUNDIÇÕES DE METAIS SANITÁRIOS E SUA CORRELAÇÃO COM MARCADORES DE DANO OXIDATIVO EM LEUCÓCITOS DOS TRABALHADORES EXPOSTOS”

2. Pesquisador: Tiago Severo Peixe, Msc.

Cargo/Função: Doutorando

Departamento da FCF/USP: Departamento de Toxicologia e Análises Toxicológicas – Programa de Pós Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas.

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA

Sem Risco () **Risco Mínimo (X)** Risco Médio ()
 Risco Baixo () Risco Maior ()

4. Duração da Pesquisa: 2 anos

III – REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU

REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

Meu nome é Tiago Severo Peixe, sou aluno do Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP/SP e estou desenvolvendo uma pesquisa com funcionários de empresas de fundições para verificar o efeito da exposição a metais presentes em peças sanitárias e alterações no seu organismo (estresse oxidativo). Este estudo tem como objetivo determinar a quantidade de metais, tais como o chumbo, cádmio, manganês, níquel e arsênio no sangue total e na urina, e avaliar o efeito desses metais no funcionamento do organismo (metabolismo). Também será avaliado o seu DNA (bagagem genética do indivíduo) com a finalidade de verificar se esses metais estão causando eventuais lesões, o que será avaliado por meio de testes especiais (dosagem de 8-OXOdGUO e a $1,n^2$ -εDGUO). O risco dessa pesquisa é mínimo.

A coleta será realizada no ambulatório da empresa em que você trabalha e será feita uma única coleta (15 mL) por profissional habilitado, utilizando seringa e agulha descartáveis, bem como será solicitada a coleta de uma amostra de urina em frasco apropriado. A coleta de sangue poderá formar uma mancha roxa (hematoma) no local da picada da agulha. A sua amostra de sangue e de DNA será armazenada no Laboratório de Análises Toxicológicas no Bloco 13B, do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP – tel. 3091-2194, sob responsabilidade da Prof^a. Elizabeth de Souza Nascimento e poderá ser utilizada em pesquisas futuras sobre o efeito desses metais no organismo, com o seu consentimento prévio e expresso.

Você não receberá qualquer pagamento pela sua participação, você pode desistir de participar da pesquisa em qualquer momento do estudo, sem que isso traga prejuízo a você. Caso você desista, poderá ser solicitada a retirada do material (sangue e DNA) no Laboratório de Análises Toxicológicas no Bloco 13B, do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Os resultados das análises serão mantidos em sigilo, somente o senhor terá acesso. Não sendo disponibilizados esses

dados ao seu patrão. Sua identidade será mantida em segredo, quando os resultados desse estudo forem publicados em artigos ou revistas científicas.

Caso você tenha alguma dúvida em relação a esta pesquisa, poderá entrar em contato com o pesquisador Tiago Severo Peixe, Tel: 30912192/37638230/83519678, com a Profa. Elizabeth Nascimento, Tel.: 30912192 ou com o Comitê de Ética da FCF/USP, telefone 3091-3588 a qualquer hora do dia.

Eu, _____ declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, aceito voluntariamente em participar da pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de 2008.

Assinatura do sujeito de pesquisa
Responsável legal

Assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

ANEXO IV

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 47/2007

São Paulo, 08 de maio de 2007.

Ilmo(a). Sr(a).
Tiago Severo Peixe
Orientador Profa. Elizabeth de Souza Nascimento
FBC

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 07 de maio de 2007, **APROVOU** o projeto "Avaliação da exposição aos metais Pb, Cd, Mn, Ni e As em fundições de louças sanitárias e sua correlação com marcadores de dano oxidativo em leucócitos dos trabalhadores expostos" (Protocolo CEP nº 390) apresentado por Vossa Senhoria.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Prof. Dra. Valentina Porta
Coordenadora do Comitê de Ética Pesquisa
FCF/USP

ANEXO V

Ficha do aluno – Sistema Fenixweb (www.fenix.usp.br)

ANEXO VI

PEIXE, T. S.; NASCIMENTO, E. S.; SILVA, C.S.; PEDREIRA, W.; BUSSACOS, M. Occupational exposure profile of Pb, Mn and Ni by ICP-OES in non ferrous Brazilian alloy foundries. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, Chicago, 2009 (Sob revisão).

Occupational exposure profile of Pb, Mn and Cd by ICP-OES in air samples collected from non ferrous Brazilian alloy foundries

Authors:

TIAGO S. PEIXE ^{*1}, ELIZABETH DE S. NASCIMENTO ², CARLOS S. SILVA ³,
WALTER DOS R. PEDREIRA ⁴, MARCOS A. BUSSACOS ⁵

Affiliation:

^{1,2} Graduate Program in Toxicology and Analytical Toxicology, Department of Clinical and Toxicology Analysis, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil, ^{3,4} Hygiene Division, Ministry of Labor, Fundacentro, São Paulo, Brazil, ⁵ Statistics Division, Ministry of Labor, Fundacentro, Brazil.

Corresponding Author

* Tiago Severo Peixe

Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bl 13B. ZIP: 05508900 – São Paulo - Tel.: + 55 (11) 3091-2192. E-mail: tpeixe@usp.br.

ABSTRACT

There are many foundries that use non ferrous metals. The brass alloy is one of the most common employed in sanitary metals, in which basically Cu and Zn are the primary metals in their composition. Pb, Mn and Cd are added to grant specific characteristic such as hardness and resistance to heat. This project aimed determines Pb, Mn and Cd in the collected air filter sampling by ICP/OES, and compared between types of sampling, worker functions and different companies. Environmental evaluation of Pb, Mn and Cd content was carried out in four foundries, in which the air sampling cellulose filters were adequately placed. The method validation applied the standard addition technique of a combined solution of Pb and Mn and Cd containing 30 mg L^{-1} , 30 mg L^{-1} and 10 mg L^{-1} , respectively. The obtained L.Q.M. (L.O.Q. $10\text{SD}_b/m$, $n= 10$) were: Pb: 2,09, Mn: 2,13 and Cd: 3,12 $\mu\text{g m}^{-3}$. Parametric statistics ANOVA T-test are showed. The range values profiles found in stationary sampling were: Pb $38.05 \pm 68.55 \mu\text{g/m}^3$, Mn $2.33 \pm 2.19 \mu\text{g/m}^3$ and Cd $28.47 \pm 35.70 \mu\text{g/m}^3$. Personal sampling showed Pb $26.69 \pm 27.71 \mu\text{g/m}^3$, Mn $1.21 \pm 1.57 \mu\text{g/m}^3$ and Cd $2.14 \pm 3.96 \mu\text{g/m}^3$. Considering the worker functions the mean values range from 10.99 ± 1.25 to $54.32 \pm 87.03 \mu\text{g/m}^3$ Pb, 0.70 to $3.31 \pm 2.45 \mu\text{g/m}^3$ Mn and 0.47 ± 0.23 to $28.47 \pm 35.70 \mu\text{g/m}^3$ Cd. Regarding the evaluated companies, the obtained range from 17.09 ± 10.41 to $58.01 \pm 87.67 \mu\text{g/m}^3$ Pb, 0.88 ± 0.47 to $2.92 \pm 2.69 \mu\text{g/m}^3$ Mn and 1.00 ± 0.62 to $19.46 \pm 21.17 \mu\text{g/m}^3$ Cd. Thus, peak exposure to fumes may occur and the potential risk of these exposures requires special attention, and can be controlled by using PPE, engineering controls measures and continual educational policy. This approach could serve as a useful strategy tool to minimize workers exposure to common metals fumes pollutants in non ferrous alloy companies.

Keywords: Lead, Manganese, Nickel, ICP-OES, Foundry, Sanitary Metals.

INTRODUCTION

Heavy metals are found in the air of non ferrous alloy foundries, as they can be released from the alloy manufacture process. In general, a non ferrous alloy is formed by 68 to 98 % of copper (Cu) and 2 to 32 % of zinc (Zn) in case of pure alloy composition ^(2,7,9,16,18,20,23). Within the primary alloy constitution, there is a possibility to find some elements as impurity or added intentionally to obtain specific characteristics as hardness and resistance to heat ^(9,16,18). These elements must be considered as atmospheric particulate matter generated from melting and pouring of brass in industrial foundries, and is a matter of concern when it comes to the workers occupational health ^(2,3,7,8,12,23,25,28,33). In these environments the particulate matter is usually formed by condensation of metallic vapors, followed by oxidation reactions ^(7,9,11,14,18). Because the smaller particles remain suspended in the workplace atmosphere, inhalation is the major path of contamination. Particulate matter in foundries has variable compositions, but lead (Pb), manganese and Cadmium (Cd) are elements of concern because they are minor components of most processed brasses ^(2,3,8,11,20,32-33).

Mn is an essential trace element, having important role in many body functions. These elements are required in small amounts, while they are toxic in large amounts ^(3,4-6,12). Pb and Cd are recognized to be highly toxic and a hazardous element to human health ^(3,4,7, 24,29,33). Additionally, those metals have severe toxic and cumulative effects that have been extensively described in the literature ^(3-5,12,14,19,22-25,29-33).

Determination of metallic species in atmospheric particulate matter and aerosols (particle sizes ranging from 0.001 to 100 μm) is usually carried through atomic spectrometric methods involving techniques such as FAAS (Flame Atomic Absorption Spectrometry), ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission

Spectroscopy), ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) and ETA-AS (Electro Thermal Atomic Absorption Spectrometry) ^(13,14,21,26,32-33).

The Brazilian Ministry of Work and Employment, Brazilian Law Ministry, together with the Faculty of Pharmaceutical Sciences of the University of São Paulo developed a project at manufacturing facilities of sanitary brass devices in the municipalities of São Paulo, São Paulo State, Brazil, aiming the evaluation of the workplace quality. This paper presents the indoor concentrations of Pb, Mn and Cd in particulate matter (particle size > 0.8 μm) collected in these industries. The employed method is currently recommended by NIOSH (National Institute of Organization Safety Health) and is based on ICP-OES technique ^(13,21).

The concentration, in $\mu\text{g}/\text{m}^3$, of Pb, Mn and Cd were determinate by ICP-OES, a technique with many advantages when it comes to multi-elemental analysis capability; large dynamic linear range; low detection limits; high productivity ^(13,26,33). The Pb, Mn and Cd concentrations in workplaces were compared regarding sampling monitoring, assembly line work functions and the evaluated companies allowing an overview of the environmental occupational exposure at the foundry brass setting ⁽¹⁾.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted between Nov 2007 and May 2009. This period study was considered in function of production, workers cooperation, management permission/involvement for improving the working condition. The evaluated facilities were small and middle size companies manufacturing stopcocks, faucet and brass devices parts in the municipality of São Paulo, São Paulo State, Brazil. Figure 1 shows the market share of those industries and the percentage of participation in the total amount of the product commercialization in Brazil.

The working process consisted of two main steps: melting followed by casting. The melt process started with loading of the oven with a scrap and pure metal alloy: one person delivers the scrap with a forklift, while his fellow partners manipulate the scrap into the oven. The oven average temperature during this process is approximately 900 °C. In the next step, the content of the melt alloy was poured into the casting oven (open gutter). Figure 2 illustrates a schematic representation of the casting process in these non ferrous foundries. The exposure assessment was performed on three consecutive days; the atmosphere air was collected for six hours, corresponding to 70 % of the working day ⁽²¹⁾.

Sampling

The locations where all the samples were collected are specified in the Table I. “Stationary” refers to fixed-point on selected places in the cast-setting, while “Personal” indicates samples taken in the worker breathing zone. Figure 3 presents the two performed sampling procedures: (A) – indicates stationary and (B) – indicates personal.

Pumps and Filters

Pre-calibrated constant flow SKC[®] air pumps (1.5 – 2 L m⁻¹), type 224-PCXR4, were used for this purpose. Using silicone tubes, the pumps were connected to plastic filter holders (Millipore[®], USA) containing mixed cellulose ester filters with diameter of 37 mm and pore size of 0.8 µm. Then, the metallic particles were retained by filtration.

Analytical Instrumentation

ICP-OES metals determination were performed with a CIRUS^{CCD}, axial view (Spectro Analytical Instruments, Germany), with Cross-flow type and a Ryton Scott condensation chamber ⁽¹³⁾. The operating conditions and wavelengths of the emission lines used are summarized in Table I. The analytical lines of the analytes were selected

on the basis of their net and background intensities and their freedom from spectral interferences overlaps.

Sample Digestion

For analysis, the cartridges were open, and the cellulose ester filters were transferred to 120 mL Teflon[®] flasks together with 2,0 mL concentrate HNO₃ (Carlo Erba, Italy), 1,0 mL H₂O₂ (Merck, Germany) and 4,0 mL of deionized distilled water. A MDS 2000 (CEM Corporation, USA) microwave furnace was used for sample digestion. The procedure was carried out for 30 minutes heating at 1200 W with pressure incrementing from 80 to 120 psi. Sample digested were filtered (Whatman[®] n. 40) to remove any solid residues and diluted to 25,0 mL volume with deionized distilled water.

Reference Solutions

All reference solutions were prepared in deionized distilled water from a Milli-Q-Plus system (Millipore[®], USA). Commercial standard containing Pb, Mn and Ni 1000 mg L⁻¹ (Merck, Germany) were diluted to the appropriate concentrations that resulted in a linear relationship (calibration curve). The calibration values for Pb and Mn were 30 mg L⁻¹ and Cd 10 mg L⁻¹. The calibration curves were found to have correlation coefficients higher than 0.99.

Furthermore, for quality assurance results, quantification of Pb, Mn and Cd were made by the standard addition method using a combined standard solution containing 1,2 mg L⁻¹ (Pb, Mn) and 0,3 mg L⁻¹ (Cd). The metals concentrations in samples solutions were corrected for the impurities from reagents and filters, which were determined in paralleled experiments using the same procedure.

Detection and quantification limits for ICP-OES were computed, respectively, with the expressions: LDM = 3 Sb/m and LQM = 10 Sb/m, where, *Sb* is the standard

deviation of the blank and m is the slope of the calibration curve^(10,21). L.O.D. (Limit of Detection) and L.O.Q. (Limit of Quantification) in samples were computed from L.D.M (Method Limit Detection) and L.Q.M. (Method Limit Quantification), based on the sampled volume of $0,672 \text{ m}^3 \text{ day}^{-1}$, which correspond to 70 % (336 min) of a 8h (480 min) working day using the sampling flow rate of 2.0 L min^{-1} . This procedure was performed regarding the production cycle in the assembly line.

To assess the reliability of the obtained results, an evaluation of recovery percentages of the examined elements from filters certified reference materials were provided in two levels II d e III d – 2676 (National Institute of Standards and Technology - NIST /USA).

Statistical Analysis

SAS 9.1.3 software (X EMPRESA X, USA) was used for principal statistics analysis scaling all data to unit variance. After the descriptive statistics, such as ANOVA and Student's t-tests, Scheffe test was applied to identify possible mean differences. The significance level was fixed in 5 % ($p \leq 0,05$). The results were plotted in "box-plot" graphs.

RESULTS AND DISCUSSION

Sampling

Table II shows the mean metals concentration $\pm$ S.D. and the numbers of collected samples. These three elements were sampled for 3 consecutive days. The Figure 4 shows the tree evaluated metals considering the sampling, individual or static.

The concentration variability in the collected ways were statistically significant for Lead ($p < 0,0001$). However, performing the S-Student with "Satterthwaite" method, no statistic difference was observed between the two means ($p = 0,5361$). The significant statistic difference ($p < 0,05$) between the sampling for the Pb element can be

observed in function of the type of pump disposition ^(11,24-27,30-35). Regarding the Manganese, the metal showed equal statistic concentration ($p > 0,2963$). The Cadmium parametric statistic demonstrated that the mean concentrations are not different considering the Anova Test.

This study investigated the occupational exposure of personnel in non ferrous foundries by means of the combined evaluation of internal air concentration (workplace measurements), the difference between setting disposal, sampling procedures and companies. The Brazilian legislation limit of exposure for lead (*Pb*) in a workplace is $100,0 \mu\text{g}/\text{m}^3/40 \text{ h/week}$ and when this legislation fail to produce an occupational limit for a given element or compound, it advices to follow the ACGIH[®] (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) ⁽¹⁹⁾.

In the present case, the air in the analyzed foundries did not exceed the TLV-TWA (Threshold Limit Value-Time weighted Average) requirements defined by ACGIH[®] for *Mn* and *Cd* elements. On the other hand, the *Pb* concentrations mean level surpassed the limit defined by the American Conference but, in some cases, did not exceed the Brazilian occupational limit of $100,0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ of *Pb* air concentration in the workplace ^(1,19).

It's important to emphasize that peak exposures in fumes are formed by casting processes, depending on the raw material composition, and the metal alloy used on the dynamic manufacturing processes and procedures ^(3,4,7,8,19,25,32). Comparison with ACGIH limits helps to minimize metals occupational exposure in the workplace, associated with engineering control measures and educational policy ⁽¹⁾.

Usually, in the “fixed point” or static sampling, the concentration rate are higher than in the “breathing zone”, thus the site collection was chosen taking into account the worst possible scenario. However, the obtained values suggest that the workers are

being exposed to *Pb* concentration that can result in an unhealthy environment and could increase the risk of chronic intoxication ^(3,15,20,30,34). This requires corrective actions, as improving the exhaustion system efficiency in the facilities in order to minimize the presence of particulate matter in the environment of the foundry plants.

Associated with this, the lower concentration values obtained in the personal sampling can be justified by the worker dynamic journey and the assembly line arrangement, and the plant layout ^(7,9,16,18). Although, the employees are not exposed to concentrations lower than the one established by ACGIH, in this present sampling. Figure 4 summarize a comparative profile between the mean concentration values obtained for each sampling.

The influence of the metals concentrations, the assembly line layout and the dynamic of the exposure can be observed in the Figure 5, which illustrates that the furnace, manual melting and scrap operation process are responsible by increased metals concentrations in the workplace environment. Each process have their characteristics, but metal fumes particulate are formed in the entire situation. It's important to emphasize that the filters employed in this work are able to collect total fumes, without differentiation between respirable, thoracic and inhalable particulate matter ^(14,22,24,29,34).

On the other hand, the personal sampling results suggest that the workers exposure is not significant in function of the dynamic process in the assembly line, under exhaustion and ventilation condition ^(4,7,9,18,28). The manganese air concentration was observed in the evaluated sampling. It's important to consider that Mn is intentionally added to the alloy to increase hardness and resistant characteristics ^(9,16,18). The element Cadmium also appeared in the evaluated workplaces, this metal is added to offer malleability to the brass alloy ^(9,18).

Assembly line work functions

Table III provides an overview of the results of the exposure assessment. Total inhalable fume exposure were maximum mean $\pm$ DP value for each element, considering the each performed work function in the assembly line. The Figure 5 shows the metals exposure profile. According to the graph, note that in the metal Pb, the mean found values is greater at the point of collection of furnace (4), followed by manual melting (5) and scrap (1). This profile of exposure is expected on the basis of practical work and the frequency of movements arising from the process of generating the metal part. The automatic melting (3) or the simultaneous operator scrap/melting (2) has lower average exposure to the operators who perform only the functions of individual numbers 1 and 5. It's possible to observe that the means of Pb air concentration doesn't surpass the limit value adopted by the ACGIH committee ¹, and by Brazilian legislation ¹⁹.

According to the chart, note that in the metal Cd, the average of values found is greater at the point of collection of manual melting (5), followed by scrap (1) and automatic melting (3). The automatic melting (3) reduces the exposure to the metal when compared with the operation scrap/melting (2) and manual scrap (5), where the momentum to unite the functions and/or semi-automation can minimize exposure to the metal. Regarding the limits of the ACGIH and NR-15, mean values are within the concentration limit of 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ for the Cd in the air of workplace. However, peak exposure can be observed in the manual melting operator's with magnitudes above the level of action and legal limits allowed ^{1,19}.

Regarding the metals Mn and Cd, these showed no significant variance depending on the concentrations obtained in different functions and statistics in the comments.

Companies

Table 4 shows the mean metals concentrations observed in the different companies analyzed. Figure 6 illustrates the four companies evaluated, in which, in a general view, it is possible to observe metal concentrations in a decrease order: *Company 1* > *Company 2* > *Company 3* > *Company 4*. It suggests that the plant layout, the raw material, the exhaustion system and the setting in each company enables to differentiate the metal grade rates in the environment air.

Several metals have proven to cause acute and chronic respiratory health problems^(3,4-7,12,14,17-19,28-32). Metal fume fever occurs after acute exposure to metal oxide fumes, and is self-limiting^(3,6-8,12,19,28). Although no such cases have been described in non ferrous foundries, the illness might be of concern taking into account the existence of peak exposures (with high concentration of metal oxides) and a maximum total inhalable fume concentration of 145.68 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ for Lead. Occupational exposure to metal fumes may cause asthma by specific allergic mechanisms (occupational asthma) or contribute to exacerbations in those with pre-existing disease (work-aggravated asthma)^(3,11,19,28).

Through statistical analysis of ANOVA found that there was a difference in the average concentrations of Pb ($p = 0.0024$) and the test of Scheffe identified that the Companies 1 and 2 are similar and are found in different concentrations Enterprise 3 and 4.

Note that the Company 1 has increased average concentration of the metal under the evaluated conditions. Can infer that the variance is high, compared to other companies of all concerned. It is possible that these magnitudes are due to the fact that Pb is added intentionally as an additive to provide features such as flexibility, hardness and electrical conductivity of the bronze piece made in accordance with the range of

concentration provided by the company of between 4 and 6 % by weight of alloy produced ^(2,7,9,16).

The analysis in ANOVA found that there was a difference in the average concentrations of Cd ($p < 0.0001$) and Scheffe test identified that the Company 1 is different from other companies. This Company presents higher average concentration of the metal under the evaluated conditions. Can infer that the variance is high, compared to other companies of all concerned. Note the presence of Cd in the case of samples area of melting, casting and furnace contributes to the dispersion found, confirmed that these values are above the limits set by ACGIH and NR-15 ^(1,19).

The ANOVA performed to Mn was on the threshold of significance, p-value found equal to 0.0476 and, consequently, the Scheffe test cannot identify differences between companies. Companies 3 and 4 present the exposure scenario similar conditions evaluated. Company 2 shows that the concentration in $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (mean $\pm$ S.D.) is superior to the other determinations. However, the values of concentrations are below the limits set by ACGIH and NR-15 ^(1,19).

Chemical analysis - confidence parameters

The confidence parameters were based on the L.D.M. and L.Q.M. values obtained in solution by the ICP-OES from the calibration curves, as well as on the flow rate of the sampling time are showed in Table V. The others figures of merit as recovery and precision intra and inter-assay are also showed. The accuracy of the ICP-OES is also observed by the evaluation of the validation procedure ¹⁰. The metal concentrations in the particulate matter shows the adequacy of the technique in determining Pb, Mn and Cd in ester filter media, for further comparison to workplace regulation limits ¹ assessment of non ferrous foundries.

CONCLUSION

This study indicates but does not provide definitive proof that measurements of common air pollutants obtained from non ferrous foundries are likely to yield underestimates of exposure in different sampling, workload and companies. However, the Statistic models based on the collected data show that measurements obtained from evaluated conditions captured most of the variation in their exposure profiles. The semi-automated process may presumably reach lower levels in the setting. Peak exposure to fumes may occur and the potential risk of these exposures requires special attention, and can be controlled by using PPE (Personal Protect Equipment), engineering controls measures and continual educational policy. This approach could serve as a useful strategy tool to minimize workers exposure to common metals fumes pollutants in non ferrous alloy companies.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are grateful to Brazilian agencies CAPES by the fellowship and FAPESP by the financial support n. 06/59210-0 and FUNDACENTRO by the support for sampling, assessing the foundries and the ICP-OES determinations.

REFERENCES

1. **American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH): TLVs®** [Standard], Cincinnati, ACGIH, 2008.
2. Associação Brasileira de Fundição (ABIFA). Índices de Mercado - Produção de Fundidos.[Online]. Available at http://www.abifa.org.br/mercado/mercado_prod_fun.asp (Accessed January 05, 2008).
3. **Apostoli P.** Elements in environmental and occupational medicine. *J. Chromatogr B.* 778: 63 – 97 (2002).
4. Agency for Toxic Substances and Registry (ATSDR). Toxicological profile for lead. [Online] Available at <http://www.atsdr.cdc.gov/> (Accessed May 05, 2008).
5. Agency for Toxic Substances and Registry (ATSDR). Toxicological profile for manganese. [Online] Available at <http://www.atsdr.cdc.gov/> (Accessed May 05, 2008).

6. Agency for Toxic Substances and Registry (ATSDR). Toxicological profile for cadmium. [Online] Available at <http://www.atsdr.cdc.gov/> (Accessed May 05, 2008).
7. **Baumgärtel I.** Dangerous Working Substances in Foundries - Mold Materials. In *International Section for the Prevention of Occupational Accidents and Diseases in the Iron and Metal Manufacturing Industry of the International Social Security Association*. pp. 43 – 50. Vienna: Social Security Association, 1984.
8. **Carneiro M.R.G.** Fatores de risco ambientais para o câncer gástrico: a visão do toxicologista. *Cad. Saúde Publ.* 13: 27 – 38 (1997).
9. Cooper Development Association (CDA). Composição das ligas de cobre-latão. Cooper & Cooper Alloy Microstructures: Brasses. [Online] Available at <http://www.cooper.org/resources/properties/microstructure.html> (Accessed May, 2006).
10. **Chasin A.A.M., Nascimento, E. S., Neto, L.M.R. et al.** Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. *Rev. Bras. Tox.* 11: 1-6 (1999).
11. **Della Rosa H.V., Siqueira M.E.B., Colacioppo S.** Monitorização Ambiental e Biológica. In. *Fundamentos de Toxicologia*, Oga, S. (ed), pp. 148-161., 3rd ed. São Paulo: Atheneu, 2008.
12. **Dobson A.W., Erikson K.M., Aschner M.** Manganese neurotoxicity: Redox-Active Metals in Neurological Disorders. In *Annals of the New York Academy of Sciences*, pp. 115-128, v. 112, New York: New York Academy of Sciences, 2004.
13. **Harris D.C.** Espectroscopia atômica. In *Análise Química Quantitativa*, Harris D.C (ed), pp. 526 – 549, 5nd ed., São Paulo: LTC Editora, 2002.
14. **Kiilunen M.** Occupational exposure to chromium and nickel in Finland and its estimation by biological monitoring. In - *Biomonitoring Laboratory*, pp. 215 – 257, Helsinki: Institute of Occupational Health, 1994.
15. **Lauwerys R.R.** Occupational toxicology. In *Casarett & Doll's Toxicology: the basic science of poisons*, Klassen C.D., Amdur M.O., Doull J., (ed), pp. 987 – 1010, 5nd ed., New York: Mac-Graw Hill, 2008.
16. **Lopes C.R.** Fundições de ferro: ligas essenciais para o futuro. *Rev. Fund. Mat. Pr.*; 4: 24 – 35 (2004).
17. **Martins I.** Manganês. In *Metais: Gerenciamento da toxicidade*. Azevedo F.A., Chasin A.A.M. (ed), pp. 67 – 97, 1th ed., São Paulo: Atheneu, 2004.
18. **Mirer F.E.** Fudiciones. In *Enciclopedia de Salud Y Seguridad en el Trabajo*. Stellmann L. (ed), pp. 8215 – 8222, v. 8, 3nd. ed., Madrid: Oficina Internacional del Trabajo – OIT, Ministério del Trabajo Y Assuntos Sociales, 2002.
19. Ministério do Trabalho e Emprego (MTE). Norma Regulamentadora Nº 15. Brasil: Ministério do Trabalho e Emprego 1978. [Online] Available at <http://www.mte.gov.br/empregador/segsau/legislacao/normas/conteudo/nr15/default.asp>. (Accessed September 07, 2008).

20. **Mutti A. Watson W.P.** Role of biomarkers in monitoring exposures to chemicals: present position, future prospects. *Biomarkers*. 9: 211 – 242 (2004).
21. **National Institute for Occupational Safety (NIOSH):** Health and Safety Guide for Foundries. [Standard], NIOSH: USA, p. 9 - 14, 1976.
22. **National Institute for Occupational Safety - Manual of Analytical Methods (NMAM-NIOSH):** Elements by ICP Method 7300. [Standard] NIOSH: Washington, 3. ed., v. 3, 2003.
23. **Oliveira J.P.** Niquel. In *Metais: Gerenciamento da toxicidade*, Azevedo F.A., Chasin A.A.M. (ed), pp. 127 – 142, 1th ed., São Paulo: Atheneu, 2008.
24. Occupational Safety and Health Administration (OSHA). International Chemical Safety Cards. [Online] Available at <http://www.cdc.gov/niosh/topics/chemical-safety/>. (Accessed February 15, 2008).
25. **Paliollelo M.M.B., De Capitani E.M.** Chumbo. *Metais: Gerenciamento da toxicidade*, Azevedo F.A., Chasin A.A.M. (ed), pp. 353 – 398, 1th ed., São Paulo: Atheneu, 2008.
26. **Pedroso M.F.M.** Toxicovigilância (monitorização) da exposição de populações a agentes tóxicos. In *As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia*, pp. 167 – 219, 1th ed., São Paulo: Intertox, 2003.
27. **Quitério S.L., Sousa C.R., Arbilla G., Escalera V.** Evaluation of levels, sources and distribution of airborne trace metals in seven district of Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, Brazil. *Atm. Environ.* 39: 3503 – 3512 (2005).
28. **Ribeiro M.G., Filho W.R.P.** Risk assessment of chemicals in foundries: The International Chemical Toolkit pilot-project. *J. Haz. Mat.* 136: 432 – 437 (2006).
29. **Souza R.M., Meliande A.L.S., Silveira C.L.P., Aucelio R.Q.** Determination of Mo, Zn, Cd, Ti, V, Fe, Mn, Cr and Cu in crude oil using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and sample introduction as detergentless microemulsions. *Microchem. J.* 82: 137 – 141 (2006).
30. **Thorne P. S.** Occupational Toxicology. In *Casarett & Doll's Toxicology: the basic science of poisons*, Klassen C.D., Amdur M.O., Doull J., (ed), pp. 453 – 461, 5nd ed., New York: Mac-Graw Hill, 2008.
31. **World Health Organization - International Program on Chemical Safety (WHO/IPCS):** Inorganic Lead Environmental Health Criteria 165. [Standard] Geneva: IPCS, pp. 32 – 78, 1995.
32. **World Health Organization - International Program on Chemical Safety (WHO/IPCS):** Manganese Environmental Health Criteria 17. [Standard] Geneva: IPCS, pp. 17 – 45, 1991.
33. **World Health Organization - International Program on Chemical Safety (WHO/IPCS):** Cadmium Environmental Health Criteria 134. [Standard] Geneva: IPCS, 1992.

34. **Willams P.L.** Environmental and industrial applications. In *Principles of toxicology*, pp. 384 – 385, 2nd ed., New York: John Wiley & Sons, 2000.
35. **Whatab S.A.A., Yaghi B.** Total suspended dust and heavy metal level emitted from a workplace compared with nearby residential houses. *Atm. Environ.* 38: 745 – 750 (2004).

List of Tables

TABLE I. Apparatus and working conditions for ICP-OES.

Equipment	Conditions
Spectrometer	CIROS VISION ^{CCD} , axial view (Spectro Analytical Instruments, Kleeve, Germany)
RF generator	Frequency, 27,1 MHz (free running); power output, 1,45 KW
Induction coil	Four tours, o.d., 32 mm; height, 20 mm
Nebulizer	Cross-flow type, with Ryton Scott condensation chamber
Argon flows (L min ⁻¹)	Plasma, 12; auxiliary, 1.0, aerosol, 0,95
Optical System	Polycromator equipped with an Echelle grating (ruling density, 79 lines nm ⁻¹)
Spectral lines (nm)	Pb (220,35), Mn (257,61), Cd (214,44)

TABLE II. Measurement of metals in different sampling.

Sampling	Lead	Manganese	Cadmium
Static	38.05 ± 68.55 (n=15)	2.33 ± 2.19 (n=5)	28.47 ± 35.70 (n=2)
Individual	26.69 ± 27.71 (n=82)	1.21 ± 1.57 (n=17)	2.14 ± 3.96 (n=48)

Notes – concentration µg/m³ (mean ± S.D.). n = number of collected samples.

TABLE III. Measurement of metals in different work arrangements.

Function	Lead	Manganese	Cadmium
Scrap	27.49 ± 17.22 (n=8)	< L.O.Q.	1.38 ± 0.44 (n=8)
Scrap/melting	23.25 ± 11.24 (n=15)	1.17 ± 1.06(n=8)	0.47 ± 0.23(n=10)
Automatic melting	15.27 ± 11.40(n=8)	0.70 (n=1)	0.96 ± 0.61 (n=7)
Furnace	42.95 ± 30.08(n=9)	6.46(n=1)	1.46 ± 0.61 (n=5)
Manual melting	54.32 ± 87.03 (n=9)	3.31 ± 2.45 (n=3)	28.47 ± 35.70 (n=2)
Cast operator	15.91 ± 21.62(n=3)	< L.O.Q.	< L.O.Q.
Tune	10.99 ± 1.25 (n=3)	< L.O.Q.	< L.O.Q.

* Notes – concentration µg/m³ (mean ± S.D.). n = number of collected samples. < L.O.Q. – below the Limit of quantification.

TABLE IV. Results of metals concentration by company.

Metals	Company 1	Company 2	Company 3	Company 4
Pb	58.01 ± 87.67 (n=12)	36.14 ± 17.59 (n=24)	23.76 ± 19.03 (n=23)	17.09 ± 10.41 (n=38)
Cd	19.46 ± 21.17 (n=5)	2.25 ± 1.29 (n=8)	1.00 ± 0.62 (n=9)	1.25 ± 1.46 (n=28)
Mn	< L.O.Q.	2.92 ± 2.69 (n=6)	0.88 ± 0.47 (n=2)	0.92 ± 0.86 (n=14)

* Notes – concentration $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (mean $\pm$ S.D.). n = number of collected samples. < L.O.Q. – below the Limit of quantification.

TABLE V. Figures of merit in $\mu\text{g}/\text{m}^3$ for the comparison purpose, the concentration limit recommended by ACGIH[®] is also shown.

Metal ^Ω	L.O.D.	L.O.Q.	Recovery % ^{*,**}	Precision		Accuracy ^Δ		ACGIH [†]
				Intra-assay ^{**}	Inter-assay ^{**}	Level II d ^{**}	Level III d ^{**}	
Pb	1,34	2,09	103,3	2,0 ± 0,03	1,8 ± 0,02	8,7	7,9	50,0
Cd	1,25	2,08	105,0	2,8 ± 0,08	3,0 ± 0,11	13,4	7,0	10,0
Mn	1,01	2,13	97,5	2,2 ± 0,02	3,1 ± 0,03	7,0	1,0	200,0

Notes - Mean value in triplicate. ^Ω **Pb, Mn and Cd** – total inhalable fraction. [†] **TLV-TWA** (*Threshold Limit Value - Time Weighted Average – Limit for 8h hours work day, 40h hours week*). * Spiked sample of 1,2 mg L⁻¹ for Pb and Mn; Ni 0,3 mg L⁻¹. ** C.V. – Coefficient of Variation below 15,0 % $\pm$ S.D. (Standard deviation). ^Δ Reference material 2676 d, NIST/USA.

List of Figures

FIGURE 1. Market share percentage of nonferrous metals versus company size in Brazil.

FIGURE 2. Schematic representation of the casting process in non ferrous foundries.

FIGURE 3. Air sampling – Stationary (A), Personal (B).

FIGURE 4. Pb, Mn and Cd mean concentration $\mu\text{g}/\text{m}^3$ in different sampling.

FIGURE 5. Pb and Cd mean concentration in different workplace arrangements.

Notes – No observable variance to Mn in the Box-plot graph. 1 – scrap; 2 – scrap/melting; 3 – automatic melting; 4 – furnace; 5 – manual melting; 7 – cast operator; 8 – tune.

Proteção à Saúde do Trabalhador: um estudo comparativo entre regulamentações da Espanha, EUA e Brasil.

Tiago Severo Peixe ^{*a}, Elizabeth de Souza Nascimento^b, Fabriciano Pinheiro^c

^{a, b} Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF), Universidade de São Paulo (USP). ^c Intertox, São Paulo/SP.

^{*a} Tiago Severo Peixe

Farmacêutico-bioquímico pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Especialista em Saúde e Segurança do Trabalho pela OIT/ONU.

Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela FCF/USP.

Doutorando em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela FCF/USP.

^b Elizabeth de Souza Nascimento

Farmacêutica-bioquímica pela USP.

Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela FCF/USP.

Doutora em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela FCF/USP.

Fabriciano Pinheiro

Biomédico pela Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela FCF/USP.

Coordenador de Segurança Química da empresa da Intertox/SP.

Resumo

As discussões a respeito da necessidade de uniformidade em legislações de proteção e segurança à saúde de trabalhadores vêm ganhando espaço no cenário atual, devido à globalização econômica, os tratados internacionais e a preocupação com a qualidade do local onde se desenvolvem as atividades laborais. Neste contexto, são apresentadas três regulamentações com o intuito de criar a perspectiva de debates e a pauta de atualização da legislação brasileira à cerca de Limites Ambientais e Biológicos no ambiente de trabalho.

Palavras chave: trabalhador, ambiente de trabalho, limites de exposição, legislações.

Correspondência

^{*}Tiago Severo Peixe

Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bl 13B.

CEP: 05508-900 – São Paulo – Brasil - E-mail: tpeixe@usp.br – Tel.: (11) 3091-2192.

Proteção à Saúde do Trabalhador: um estudo comparativo entre regulamentações da Espanha, EUA e Brasil.

Resumo

As discussões a respeito da necessidade de uniformidade nas legislações referentes à segurança e proteção da saúde de trabalhadores vêm ganhando espaço no cenário atual em função da globalização econômica, os tratados internacionais e a preocupação com a qualidade do local onde se desenvolvem as atividades laborais. Este trabalho descreve divergências apresentadas entre elementos de três regulamentações mundiais visando fomentar um ambiente para debates e enfatizar a necessidade de atualização da legislação brasileira à cerca de Limites Ambientais e Biológicos no ambiente de trabalho.

Palavras chave: trabalhador, ambiente de trabalho, limites de exposição, legislações.

Abstract

The discussions regarding the need of legislation uniformity related with chemical safety and work protection takes attention in the actual world scenario, in function of economic globalization, international agreements and the workplace quality to develop labor activities. This paper describes the differences presented between elements of in order to promote an environment for discussion and emphasize the need to update of the Brazilian rules dealing with Environment and Biological Limit's in the occupational setting.

Key words: worker, workplace, exposure limits, legislation.

Introdução

A gestão segura de produtos químicos faz-se imprescindível com o aumento da produção e o uso de produtos químicos advindo do intenso processo de industrialização e do crescimento populacional, aliado ao surgimento de inúmeras doenças e acidentes relacionados a estes produtos no ambiente de trabalho.

Neste contexto, a Convenção nº 170, de 25/06/1990 (ILO, 1990) da Organização Internacional do Trabalho (OIT), foi um marco por levantar mundialmente a discussão sobre a Segurança na Utilização de Produtos Químicos no Trabalho. O Brasil ratificou a Convenção nº 170 por meio da publicação do Decreto nº 2.657, de 03/07/1998 (Brasil, 1998).

Atualmente, inúmeras legislações abordam o tema referente a exposição segura a compostos químicos, no ambiente de trabalho, por meio de limites de exposição gerados a partir de estudos realizados pela comunidade científica.

Exposição Ocupacional a um agente químico

Define-se exposição como: “... a situação decorrente de uma atividade profissional em que o trabalhador tem contato com um agente químico de tal forma que há possibilidade de produção de efeitos locais e sistêmicos em curto, médio ou longo prazo” (DELLA ROSA, 2003).

A detecção precoce de uma exposição perigosa pode diminuir significativamente a ocorrência de efeitos adversos à saúde. As informações provenientes da monitorização da exposição ambiental ou ocupacional possibilitam a implantação de medidas de prevenção e controle apropriadas, sendo necessários: a definição dos níveis permissíveis de exposição, que, de acordo com os conhecimentos atuais, são estabelecidos para não causar efeitos adversos decorrentes da exposição química; e a avaliação regular dos possíveis riscos à saúde associados à exposição por comparação com estes limites permitidos (DELLA ROSA, 2003).

Monitorização da exposição é um procedimento que consiste em uma rotina de avaliação e interpretação de parâmetros biológicos e/ou ambientais, com a finalidade de detectar os possíveis riscos à saúde. A exposição pode ser avaliada por medida da concentração do agente químico em amostras ambientais, como o ar (monitorização ambiental), ou através da medida de parâmetros biológicos (monitorização biológica), denominados indicadores biológicos ou biomarcadores (AMORIN, 2003; DELLA ROSA, 2003).

Monitorização Ambiental

Monitorar significa medir e comparar, assim, a monitorização ambiental preocupa-se em determinar concentrações de elementos químicos no ambiente de trabalho comparando-os a valores considerados limites seguros à saúde do indivíduo na atividade laboral. Para tal, existem critérios necessários à representatividade do conjunto de dados a serem analisados. Isto é possível graças à amostragem – escolha de um dado representativo da avaliação realizada.

Segundo Della Rosa, *et al.* (2003) há fatores que devem ser considerados quando da avaliação ambiental ou monitorização ambiental, dentre eles:

- Atividades, tarefas ou funções exercidas pelos trabalhadores;
- A área ou local de trabalho;
- O número de trabalhadores presentes e possivelmente expostos;
- Movimentação dos trabalhadores pelo local ou locais de trabalho;
- Movimentação dos materiais (fontes de gases, vapores, poeiras, etc.);
- Condições de ventilação ou movimentação do ar, temperatura e pressão atmosférica;
- Ritmo de produção, e
- Outros agentes químicos ou físicos que possam interferir nas avaliações ou na exposição.

Outro ponto relevante refere-se à estratégia de amostragem, definindo-se:

- Equipamentos a serem utilizados na coleta e na análise da substância;
- Pessoal de coleta e acompanhamento com treinamento adequado;
- Usar critérios estatísticos de representatividade do grupo amostral;
- Número de amostras a serem coletadas em cada trabalhador (zona respiratória) ou ponto estático (coletivo) e tempo de coleta de cada uma.

Monitorização biológica

A Monitorização Biológica da exposição aos agentes químicos relaciona-se à medida da substância ou seus metabólitos em vários meios biológicos, como sangue, urina, ar exalado e outros (por exemplo, mercúrio na urina). Algumas vezes, o conceito de Monitorização Biológica é estendido para incluir também a detecção precoce de efeitos reversíveis, como a monitorização biológica de efeito, onde, por exemplo, se analisa a presença do ácido delta aminolevulínico δ -ALA-D na urina, como um indicador adequado para a vigilância de saúde de trabalhadores expostos a chumbo (DELLA ROSA, 2003).

A detecção de um efeito adverso, como por exemplo, proteinúria aumentada, indica que a exposição é excessiva, e, tal medida é apropriada para ser incluída num programa de detecção precoce de prejuízo à saúde (vigilância à saúde), devido à exposição a uma determinada substância química. A Avaliação Biológica da exposição às substâncias químicas só é possível quando estiverem disponíveis informações toxicológicas suficientes referentes ao mecanismo de ação e/ou à toxicocinética dos agentes químicos aos quais os indivíduos estão expostos.

Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais dependem de como a substância é absorvida pelas diferentes vias; posteriormente, de como é distribuída para os diferentes compartimentos do organismo; de como é biotransformada; e, finalmente, de como é eliminada. É também necessário saber se a substância se acumula ou não no organismo. Assim, é de fundamental importância o conhecimento da toxicocinética dos diversos agentes químicos (MUTTI, 1999; THORME, 2003).

Da mesma forma, se a Monitorização Biológica estiver baseada na medida de uma alteração biológica do organismo, causada pelo agente químico, é necessário conhecer o processo da toxicodinâmica, ou seja, é preciso conhecer o mecanismo de ação da substância química para identificar quais são os efeitos não adversos decorrentes daquela ação (MUTTI, 1999). Isso se faz necessário porque só a identificação e a medida de um efeito precoce, não adverso, podem ser usadas para fins de prevenção (AMORIN, 2003; DELLA ROSA, 2003).

Objetivo

O presente trabalho visa a apresentar e discutir as divergências existentes entre exemplos de parâmetros de exposição ocupacional relacionados a órgãos governamentais ou entidades de alguns países. Foram selecionados indicadores de monitorização ambiental e biológica estabelecidos pelo INSHT (Instituto Nacional de Segurança e Higiene do Trabalho) da Espanha, pela ACGIH (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists*) dos Estados Unidos da América e pelo MTE (Ministério do Trabalho e Emprego) do Brasil.

A legislação espanhola

A União Européia visa a manter uma harmonização com relação às legislações de proteção à saúde do trabalhador, sendo assim, quando um país adota determinadas restrições estas tendem a ser seguidas pelos países-membros do bloco econômico. A Diretiva nº 98/24/EC, de 07/04/1998, sobre a proteção à saúde e segurança de trabalhadores no que tange a riscos relacionados a agentes químicos no ambiente de trabalho e, posteriormente, a Diretiva nº 2000/39/EC, de 08/06/2000, estabeleceram-se as primeiras indicativas de limites de exposição ocupacionais com a implementação da

matéria pregressa. Os conteúdos destas regulamentações foram transcritos na Legislação Espanhola por meio do Decreto nº 374, de 606/04/2001 (ESPANHA, 2001).

Deste modo, a Espanha promulgou uma lei pelo INSHT (Instituto Nacional de Segurança e Higiene do Trabalho) estabelecendo os Limites de Exposição a compostos químicos no ambiente ocupacional. Tal lei está em consonância com a Diretiva Européia de nº 98/24/EC em que países-membros da Comunidade Européia ratificaram a uniformidade de seus limites de exposição ocupacional (COMISSÃO EUROPÉIA, 1998; INSHT, 2007).

Esta normativa, como mostrado na **Tabela 1**, apresenta dados relativos à numeração dos compostos químicos utilizada pela da comunidade européia, o número CAS (*Chemical Abstract System*), a substância, os limites de exposição adotados para exposição diária (8h) e de curta duração (15 min), notas esclarecedoras e as frases R (frases de informação de perigo) na classificação da substância em questão.

Tabela 1 – Exemplo de substâncias químicas em ambiente laboral e seus Limites de Exposição (LEO's).

Exposição (ELC 5%):								
EINECS	CAS	Substância	Limites				Notas	Frases R
			8 h		15 min			
			PPM*	mg/m³**	PPM*	mg/m³**		
203-453-4	107-02-8	Acroleína	0,1	0,23	0,3	0,69	Pele	11-24/25-26-34-50
231-100-4	7439-92-1	Chumbo e compostos inorgânicos		0,15			VLB, TR1	61-20/22-33-50-53-62

Fonte: Adaptado de INSHT, 2007.

* valores em mg/m³ (miligramas por metro cúbico de ar); ** valores em PPM (partes por milhão).

¹**Acroleína** - **Pele**: sensibilizante; **Frases R – 11**: Facilmente inflamável, **24**: tóxico em contato com a pele, **25**: tóxico por ingestão, **26**: muito tóxico por inalação, **34**: provoca queimaduras, **50**: tóxico para organismos aquáticos. **Chumbo** – **VLB**: Indicador biológico, **TR1**: substância que interfere na reprodução e fertilidade. **Frases R - 20**: nocivo por inalação, **22**: nocivo por ingestão, **33**: perigo de efeitos acumulativos, **50**: muito tóxico a organismos aquáticos, **53**: pode causar cronicamente efeitos adversos em organismos aquáticos, **61**: pode causar toxicidade fetal, **62**: pode causar efeito sobre a fertilidade.

Associada à Diretiva nº 98/24/EC pode-se citar a normativa referente aos Indicadores Biológicos de Exposição, tal como se observa na **Tabela 2**. São destacados os dados relativos à numeração da comunidade européia, o número CAS, a substância, os indicadores biológicos de exposição, os valores de referência, os momentos de coletas de amostras, notas esclarecedoras e as frases R de classificação para a substância em questão (COMISSÃO EUROPÉIA, 1998; INSHT, 2007).

Tabela 2 – Exemplo de substâncias químicas em ambiente laboral e seus Limites de Exposição (LEO's).

EINECS	CAS	Substância	Indicador Biológico	Valor	Momento de coleta	Notas	Frases R
200-753-7	71-43-2	Benzeno	Ácido S-Fenilmercaptúrico urinário	120 µg/g creatinina	Final jornada	F	45-46-11-36/38-48/23/24/25-65
			Ácido t,t-Mucônico urinário	4.5 mg/g creatinina	Final jornada		
231-152-8	7440-43-9	Cádmio e compostos inorgânicos	Cádmio urinário	5 µg/g creatinina	Não crítico	-	22-49/23/25
			Cádmio em sangue total	5 µg/L	Não crítico		

Fonte: Adaptado de INSHT, 2007.

* *Benzeno* - **F**: reage com agentes nitrogenados formando compostos nitrogenados; **Frases R – 11**: Facilmente inflamável, **23**: tóxico por inalação, **24**: tóxico em contato com a pele, **25**: tóxico por ingestão, **36**: irritante para os olhos, **45**: pode causar câncer, **46**: pode causar alterações genéticas hereditárias, **48**: pode causar câncer por inalação, **68**: possibilidade de efeitos irreversíveis. *Cádmio* – **Frases R - 22**: nocivo por ingestão, **23**: tóxico por inalação, **25**: tóxico por ingestão, **49**: muito tóxico a organismos aquáticos.

De acordo com as **Tabelas** de números 1 e 2 pode-se observar a disposição dos dados relacionado à classificação europeia, no momento em que se formula ou se analisa a composição de uma FISPQ (Ficha de Segurança de Produto Químico) permitindo-se inferir importantes informações ao usuário, trabalhador ou médico ocupacional.

A americana, o exemplo da ACGIH

A ACGIH (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists*) é uma organização não-governamental que congrega especialistas em Higiene e Toxicologia Ocupacional nos Estados Unidos da América. Esta associação não possui força de Lei, sendo a OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*), a agência dos EUA ligada ao Ministério do Trabalho americano, incumbida da regulamentação dos valores limites no ambiente laboral. Entretanto, é possível observar a existência de um consenso entre os valores estabelecidos pela ACGIH e OSHA.

A ACGIH publica anualmente um manual contendo valores atualizados de limites de exposição ocupacionais e limites biológicos para indicadores de exposição para substâncias químicas. No que tange a monitorização ambiental, a ACGIH apresenta os TLV's (*Threshold Limit Values*^{*, #, c}) que se referem as concentrações de substâncias químicas dispersas no ar e representam condições sobre as quais se supõe que quase todos os trabalhadores podem estar expostos dia após dia sem efeitos adversos à saúde (ACGIH, 2007).

A **Tabela 3** apresenta exemplos de substâncias químicas e seus TLV's de modo a empregar valores de limites de exposição a substâncias químicas no ambiente de trabalho e compará-los aos dados de monitorizações ambientais realizadas.

Tabela 3 – Exemplo de substâncias químicas em ambiente laboral e seus Limites de Exposição pela ACGIH

CAS	Substância	TLV-TWA*	TLV-STEL [#]	Notação
107-02-8	Acroleína	-	0,10*	C [¢] , A 4, Skin
7439-92-1	Chumbo e compostos inorgânicos	0,05*	-	A 3

Fonte: Adaptado de ACGIH, 2007.

* valores em mg/m³ (miligramas por metro cúbico de ar. **A4** – não classificável como carcinogênico (IARC, 2003); **Skin**- perigo de absorção cutânea. **A 3**- carcinogênico em estudos com animais (IARC, 2003).

* TLV-TWA (*Threshold Limit Value - Time Weighted Average / Média Ponderada pelo Tempo*) - Limite de exposição para um dia normal de trabalho (8 horas) ou semana (40 horas).

[#] TLV-STEL (*Threshold Limit Value – Short Term Exposure Limit / Limite de exposição de curto período*) - Limite de exposição que pode ser atingido 15 min, 4 vezes ao dia, com intervalos de 60 minutos.

[¢] TLV-C (*Threshold Limit Value – Ceiling / Teto*) – Limite de exposição não pode ser ultrapassado em momento algum da jornada de trabalho.

Além dos parâmetros ambientais, a ACGIH publica também informações sobre Limites Biológicos de Exposição e seus BEI'S (*Biological Exposures Indices*), tais como os exemplificados na **Tabela 4**.

Tabela 4 – Exemplo de substâncias químicas em ambiente laboral e seus Limites de Exposição pela ACGIH

CAS	Substância	BEI	Valor	Notação [*]
71-43-2	Benzeno	Ácido t,t-Mucônico urinário	500 µg/g creatinina	B
		Ácido S-Fenilmercaptúrico urinário	25 µg/g creatinina	B
7440-43-9	Cádmio e compostos inorgânicos	Cádmio urinário	2 µg/g creatinina	B

Fonte: Adaptado de ACGIH, 2007. * (B) Valor basal.

O manual da ACGIH é utilizado na avaliação da exposição a compostos químicos no ambiente de trabalho e, seus limites, propostos por especialistas na área de Higiene Industrial dos EUA, são baseados em estudos epidemiológicos e recomendados para interpretação clínica-laboratorial, além de serem atualizados anualmente (ACGIH, 2007).

Normas Regulamentadoras Brasileiras

O Brasil em meados de 1978 conforme as Portarias Ministeriais de nº 3.214, do Ministério do Trabalho e Emprego apresenta sua regulamentação quanto à proteção da exposição laboral a xenobióticos estabelecida, pelas Normas Regulamentadoras de números 7 e 15 que atendem, respectivamente, aos Limites Biológicos de Exposição e Limites de Exposição Ocupacional (BRASIL, 1978; BRASIL, 1994).

Os LEO's (Limites de Exposição Ocupacional) brasileiros são estabelecidos no País como *Limites de Tolerância (LT)*, que constam da Portaria Ministerial 3.214 e que em sua Norma Regulamentadora nº 15, anexo 11, fixa as substâncias cuja insalubridade é caracterizada por Limites de Tolerância, fornecendo uma tabela de valores, que se ultrapassados caracteriza a insalubridade, adicional no salário do trabalhador exposto que pode corresponder a 10, 20 ou 40 % do salário mínimo (BRASIL, 1978).

A **Tabela 5** apresenta exemplos de valores de LT para substâncias químicas.

Tabela 5 – Limites de Tolerância para algumas substâncias químicas no Brasil.

Substância	LT		Notação
	PPM*	mg/m ³ **	
Acroleína	-	-	-
Chumbo e compostos inorgânicos	-	0,10	Máximo [†]

Fonte: Adaptado de Brasil, 1978.

* valores em mg/m³ (miligramas por metro cúbico de ar); ** valores em PPM (partes por milhão).

[†] **Máximo** – insalubridade grau máximo.

Referente aos Limites Biológicos, o Brasil possui a NR 7 que constam da Portaria Ministerial nº 24, de dezembro/1994. Esta Norma Regulamentadora estabelece a obrigatoriedade da elaboração e implementação, por parte de todos os empregadores e instituições que admitam trabalhadores, do PCMSO (Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional) cujo objetivo é a promoção e preservação da saúde do conjunto dos seus trabalhadores por meio do monitoramento dos Indicadores Biológicos de Exposição (IBE's). A Tabela 6 ilustra exemplos de valores de Indicadores Biológicos de Exposição para substâncias químicas (BRASIL, 1994).

A **Tabela 6** apresenta alguns valores de xenobióticos e seus respectivos Indicadores Biológicos de Exposição.

Tabela 6 - Indicadores Biológicos de Exposição para alguns xenobióticos no Brasil.

Substância	IBE	Valor		Notação
		VR*	IBMP**	
Benzeno	Ácido t,t-Mucônico urinário	500 µg/g creatinina	P	B
	Ácido S-Fenilmercaptúrico urinário	25 µg/g creatinina	P	B
Cádmio e compostos inorgânicos	Cádmio na urina	2 µg/g creatinina	5 µg/g creatinina	EAA, NC, T-6, SC

Fonte: Adaptado de Brasil, 1994; Brasil, 2001.

* **VR** – Valor de referência; ** **IBMP** – Índice Biológico Máximo Permitido. **(P)** Portaria n. 34, 2001.

- **(B)** Valor basal; **EAA** – Espectrometria de Absorção Atômica; **NC**: momento de amostragem "não crítico": pode ser feita em qualquer dia e horário, desde que o trabalhador esteja em trabalho contínuo nas últimas 4 (quatro) semanas sem afastamento maior que 4 (quatro) dias; **T-6**: recomenda-se iniciar a monitorização após 6 (seis) meses de exposição; **SC**: Além de mostrar uma exposição excessiva, o indicador biológico tem também significado clínico ou toxicológico próprio, ou seja, pode indicar doença, estar associado a um efeito ou uma disfunção do sistema biológico avaliado.

Discussão

Conforme apresentado, foi possível observar divergências entre parâmetros de monitorização ambiental e biológica apresentados pelas entidades governamentais e não governamentais dos três países selecionados neste estudo. A exemplo, o Limite de Exposição Ocupacional da Acroleína é 0,69 mg/m³ na Espanha (exposição de 15 minutos), nos EUA é de 0,10 mg/m³ (exposição de 15 minutos) e no Brasil não há menção a tal composto. Tomando-se os valores é nítida a diferença entre os índices de exposição. Tal fato é possível pelas dinâmicas de trabalho, processos industriais distintos e situações de exposição diversificadas. Porém, observa-se que há semelhanças nas notações de risco relativas ao contato dérmico indicando especial atenção à proteção individual adequada (BRASIL, 1978; INHST, 2007; ACGIH, 2007).

Enquanto que para o benzeno, do ponto de vista dos indicadores biológicos de exposição, estabelece-se na Espanha, nos EUA e no Brasil os indicadores Ácido t,t-Mucônico urinário e Ácido S-Fenilmercaptúrico urinário com diferentes abordagens. No Brasil há o conceito de Valor de Referência Tecnológico (VRT), que foi aplicado pela primeira vez para o benzeno e está relacionado ao limite de concentração estabelecido para substâncias cancerígenas. Segundo a Norma Regulamentadora 15, o Valor de Referência Tecnológico se refere à concentração de benzeno no ar considerada exequível do ponto de vista técnico, definido em processo de negociação tripartite” (BRASIL, 1978; SSST, 1994).

O VRT deve ser considerado como referência para os programas de melhoria contínua das condições dos ambientes de trabalho. O cumprimento do VRT é obrigatório e não exclui risco à saúde. O princípio da melhoria contínua parte do reconhecimento de que o benzeno é uma substância comprovadamente carcinogênica, para a qual não existe limite seguro de exposição. Todos os esforços devem ser despendidos continuamente no sentido de buscar a tecnologia mais adequada para evitar a exposição do trabalhador ao benzeno (SSST, 1995).

Além do fato de que na Legislação espanhola, as informações de classificação e comunicação de perigo, indispensáveis ao reconhecimento e avaliação de risco, estão em consonância com o sistema de classificação de perigo estabelecido pelas Diretivas Europeias n° 67/548/ECC e n° 1999/45/EC (ECB, 2008) e mais recentemente pelo Regulamento n° 1272/2008 que adotou o sistema GHS - Sistema Globalmente Harmonizado de Rotulagem de Produtos Químicos sugerido pela Organização das Nações Unidas (REACH, 2008; ONU, 2009). Este novo sistema de classificação implementado pela União Européia faz parte da recente política de gestão segura de substâncias químicas no continente europeu estabelecida pela implementação do REACH (Registro, Avaliação, Autorização/Restrição de Substâncias Químicas), por meio do Regulamento 1907/2006 (REACH, 2006).

Mediante os apontamentos descritos sobre as Legislações ou recomendações feitas pelas entidades analisadas, é notório a observação que estas apresentam divergências de nos valores dos limites e diferentes formas de expor os dados referentes a Limites de Exposição ocupacionais e Limites Biológicos de Exposição. As divergências que destoam a Legislação brasileira das outras duas analisadas se devem principalmente pela desatualização de seus valores e a abordagem de informação de perigos.

Deste modo, se faz mister a discussão sobre a necessidade do Brasil adequar suas normas às resoluções internacionais em função da saúde e segurança do trabalho, por razões econômicas, e ainda, a participação do País nas Convenções internacionais em que afirmam ratificar os tratados de proteção à saúde dos trabalhadores.