

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA**  
**Subárea de concentração : TOXICOLOGIA**

**“AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR HCH E DDT, DOS  
LEITES DE VACA E HUMANO, PROVENIENTES DA  
CIDADE DOS MENINOS, DUQUE DE CAXIAS – RJ.”**

*Jaíza Lucena de Mello*

Rio de Janeiro  
1999

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA**  
**Subárea de concentração: TOXICOLOGIA**

**“AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR HCH E DDT, DOS  
LEITES DE VACA E HUMANO, PROVENIENTES DA  
CIDADE DOS MENINOS, DUQUE DE CAXIAS – RJ.”**

Dissertação apresentada à Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz, para a obtenção do grau de Mestre em Saúde Pública, sob a orientação da Dra. Silvana do Couto Jacob.

*Jaíza Lucena de Mello*

Rio de Janeiro

1999

## FICHA CATALOGRÁFICA

### *Mello, Jaíza Lucena de*

Avaliação da contaminação por HCH e DDT, dos leites de vaca e humano, provenientes da Cidade dos Meninos, Duque de Caxias – RJ/ Jaíza Lucena de Mello.- Rio de Janeiro: ENSP/ Fiocruz, 1998.

xviii, 127 p. il.

Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública.

1. Praguicidas. 2. Inseticidas organoclorados. 3. Leite.  
4. Contaminação de alimentos. I. Escola Nacional de Saúde Pública, Brasil. II. Título

*Ao meu pai José Barroso,  
minha madrinha Lúcia e minha tia “Dida”,  
que não estão mais presentes,  
pela dedicação e por me ensinarem a  
não desistir dos meus sonhos.*

*Ao meu marido Antonio Claudio ,  
aos meus filhos  
Gabriel, Julia e Otávio,  
pelo tempo que não ficamos juntos  
e por me fazerem feliz,  
com todo o meu amor.*

## AGRADECIMENTOS

---

Para a conclusão deste trabalho, a valiosa ajuda de várias pessoas, de diversas formas, foi fundamental e eu não poderia deixar de registrar os meus sinceros agradecimentos.

- a Deus , por guiar os meus caminhos.
- à minha mãe, pelo seu carinho e suas preces, que sempre me ajudam a vencer os desafios.
- à minha irmã Jeanne, pelo carinho e estímulo constante.
- aos meus sogros Syldea e Wilson, pelo apoio e dedicação, sempre presentes.
- à Odila, por me ajudar a cuidar de meus filhos e por sua paciência.
- à Silvana do Couto Jacob, por sua dedicação, incentivo e colaboração inestimável.
- ao Orlando Marino Gadas de Moraes, por seu apoio incondicional, amizade e toda a ajuda nas avaliações estatísticas.
- ao Josino Moreira, por sua colaboração e “dicas”.
- à Kátia Menezes, Chefe do Departamento de Química e Shirley Abrantes, Chefe do Setor de Alimentos e Contaminantes do INCQS, pela liberação para a conclusão deste trabalho.

- à Mariete, pelo empenho em viabilizar a minha liberação.
- aos amigos do INCQS, que me incentivaram e deram força para que eu prosseguisse, especialmente Sonia, Sinéa, Virgínia e Sonia Simas, cujo carinho e amizade foram muito importantes.
- à Bernadete, pela ajuda na utilização da “ SPE”.
- às amigas Nícia e Cátia Maria, que sempre torceram pela conclusão deste trabalho e pela dedicação na elaboração das referências bibliográficas.
- à Sonia Vellozo, pela execução das análises do teor de gordura nas amostras de leite.
- à Rosália e Lúcia Helena, pela amizade e ajuda constante.
- ao Francisco Concha e Léa que, incondicionalmente, me ajudaram a conhecer e utilizar o software da “ChemStation” e cujo empenho em solucionar os “problemas cromatográficos”, foi fundamental para a execução deste trabalho.
- a todos que colaboraram com a coleta das amostras, especialmente, Célia Regina, Maria da Conceição, Rosália, Mariinha, Josilene, Felipe, Maria do Carmo e Maulori.
- às mães e aos produtores, que gentilmente cederam leite para as análises.
- aos administradores da Cidade dos Meninos, Sr. Ronaldo e Sr. Gomes, pela colaboração.

- à Iracema Ribeiro de Moura Monteiro, Dr. Paulo Barragat e Geraldo Lenzer que, pacientemente, relataram fatos que ajudaram na elucidação da história da Cidade dos Meninos.
- à Janete Duarte, pela preciosa ajuda na pesquisa bibliográfica.
- ao Thomas e Anibal, do CESTEJ, pela ajuda na confirmação dos pesticidas.
- ao Jó e Julio César, pela contribuição indispensável, que possibilitou as impressões deste trabalho.
- a todos aqueles, que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma para a execução deste trabalho.



## SUMÁRIO

	<b>página</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xiii
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	xv
<b>RESUMO</b>	xvii
<b>ABSTRACT</b>	xviii
<b>1 – INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<i>1.1 – A CIDADE DOS MENINOS</i>	5
<i>1.2 – PESTICIDAS E O MEIO AMBIENTE</i>	11
<i>1.3 - OBJETIVO</i>	16
<b>2 – CARACTERÍSTICAS DO HCH E DO DDT</b>	<b>17</b>
<i>2.1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS</i>	17
2.1.1 – HCH (Hexaclorociclohexano)	17
2.1.2 – DDT ( Tricloro bis (clorofenil) etano)	18
<i>2.2 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS</i>	19
2.2.1 – HCH (Hexaclorociclohexano)	19
2.2.2 – DDT ( Tricloro bis (clorofenil) etano)	22
<i>2.3 – CARACTERÍSTICAS TOXICOLÓGICAS</i>	23
2.3.1 – Efeitos Tóxicos	25
2.3.2 – Toxicocinética	32
<i>2.4 – CONSIDERAÇÕES SOBRE A EXPOSIÇÃO DE CRIANÇAS A         CONTAMINANTES</i>	35

	<b>página</b>
<b>3 – LEITE</b>	39
3.1 – <i>CONTAMINAÇÃO DO LEITE POR PESTICIDAS ORGANOCLORADOS</i>	39
<b>4 – LEGISLAÇÃO</b>	49
<b>5 – MATERIAIS E MÉTODOS</b>	52
5.1 – <i>AMOSTRAGEM</i>	52
5.1.1 – Leite de vaca	52
5.1.2 – Leite materno	53
5.1.3 – Cuidados com a coleta e armazenamento das amostras	55
5.2 – <i>REAGENTES E SOLUÇÕES</i>	55
5.3 – <i>VIDRARIA</i>	57
5.4 – <i>EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES OPERACIONAIS</i>	57
5.5 – <i>LAVAGEM DO MATERIAL</i>	60
5.6 – <i>METODOLOGIA ANALÍTICA</i>	61
5.7 – <i>VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA</i>	64
5.7.1 – Parâmetros de performance analítica	64
5.8 – <i>ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE LEITE</i>	70

	<b>página</b>
<b>6 – RESULTADOS R DISCUSSÃO</b>	72
<i>6.1 – VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA</i>	72
6.1.1 – Especificidade	72
6.1.2 – Linearidade de resposta do detetor	78
6.1.3 – Exatidão	80
6.1.4 – Precisão	83
<i>6.2 – AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS</i>	87
6.2.1 – Teor de organoclorados em leite de vaca	87
6.2.2 – Teor de organoclorados em leite materno	93
6.2.3 – Avaliação da ingestão diária estimada (IDE)	102
<b>7 - CONCLUSÕES</b>	108
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	110

## LISTA DE TABELAS

	<b>página</b>
<b>Tabela 1 -</b> Toxicidade aguda	24
<b>Tabela 2 -</b> Ingestão diária aceitável (IDA)	25
<b>Tabela 3 -</b> Relação de pesticidas organoclorados em leite de vaca em diversos países	46
<b>Tabela 4 -</b> Relação de pesticidas organoclorados em leite materno em diversos países	47
<b>Tabela 5 -</b> Valores de ingestão diária estimada (IDE) em alguns países	45
<b>Tabela 6 -</b> Limites Máximos de Resíduos	51
<b>Tabela 7 -</b> Produção estimada de leite da Cidade dos Meninos	52
<b>Tabela 8 -</b> Localidades de produtores de leite afastados da Cidade dos Meninos	53
<b>Tabela 9 -</b> Local de residência das doadoras de leite materno	54
<b>Tabela 10 -</b> Teor de gordura das amostras de leite de vaca	70
<b>Tabela 11 -</b> Retenções relativas para as substâncias de interesse	73
<b>Tabela 12 -</b> Avaliação da repetibilidade dos tempos de retenção	76

	<b>página</b>
<b>Tabela 13 -</b> Linearidade de resposta do detetor de captura de elétrons	78
<b>Tabela 14 -</b> Recuperações do método	82
<b>Tabela 15 -</b> Comparação entre os CV%	84
<b>Tabela 16 -</b> Parâmetros de performance do método	85
<b>Tabela 17 -</b> Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de leite de vaca(mg.kg <sup>-1</sup> de leite)	91
<b>Tabela 18 -</b> Concentrações de pesticidas organoclorados em leite de vaca (mg.kg <sup>-1</sup> de gordura)	92
<b>Tabela 19 -</b> Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de leite materno(mg.kg <sup>-1</sup> de leite)	99
<b>Tabela 20 -</b> Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de leite materno(mg.kg <sup>-1</sup> de gordura)	100
<b>Tabela 21 -</b> Valores de IDE para amostras de leite de vaca	103
<b>Tabela 22 -</b> Valores de IDE para amostras de leite materno	107

## LISTA DE FIGURAS

	<b>página</b>
<b>Figura 1 -</b> Acumulação de DDT no ecossistema	13
<b>Figura 2 -</b> Configuração espacial dos isômeros do HCH	20
<b>Figura 3 -</b> Formas espaciais dos isômeros do HCH	21
<b>Figura 4 -</b> Estrutura química do p,p' DDT e produtos de decomposição	22
<b>Figura 5 -</b> Comportamento de pesticidas no solo, pasto e sistema do animal	41
<b>Figura 6 -</b> Rota de transferência dos resíduos de pesticidas	44
<b>Figura 7 -</b> Esquema do procedimento analítico	62
<b>Figura 8 -</b> Cromatograma de padrões – Coluna Quadrex	74
<b>Figura 9 -</b> Cromatograma de padrões – Coluna BP10/SGE	75
<b>Figura 10 -</b> Cromatograma do branco de reagentes	77
<b>Figura 11 -</b> Curvas de linearidade de resposta do detetor de captura de elétrons	79
<b>Figura 12 -</b> Linha de regressão “concentração adicionada <i>versus</i> concentração encontrada” para $\alpha$ HCH	81

	<b>Página</b>
<b>Figura 13 -</b> Recuperações obtidas para diferentes substâncias	82
<b>Figura 14 -</b> Cromatograma de matriz de leite sem e com fortificação	83
<b>Figura 15 -</b> Cromatograma de amostra de leite de vaca	86
<b>Figura 16 -</b> Cromatograma de amostra de leite materno	86

## RESUMO

---

Os resíduos de pesticidas organoclorados são contaminantes persistentes e penetram em todos os compartimentos do ecossistema global. A investigação e controle desses resíduos é de interesse sanitário, ecológico, econômico e social, tendo em vista que são considerados biocidas e não são facilmente eliminados do meio ambiente. Na localidade da Cidade dos Meninos, em Duque de Caxias, Estado do Rio de Janeiro, foi desativada uma fábrica de hexaclorociclohexano (HCH, comumente conhecido como BHC), organoclorado, amplamente utilizado no combate de vetores da malária e doença de Chagas. No mesmo local também se produzia pastas de DDT(tricloro bis(clorofenil)etano). O processo de desativação dessa fábrica ocorreu sem controle, deixando cerca de 300 toneladas de produtos tóxicos no local, contaminando o meio ambiente e toda a população local. A principal rota de exposição humana a pesticidas organoclorados é através dos alimentos, sendo o leite a fonte mais importante de contaminação. O leite acumula resíduos de organoclorados na sua fração gordurosa e é considerado como um indicador adequado para subsidiar uma avaliação da exposição a estes compostos. Considerou-se, portanto, importante investigar a contaminação por HCH e DDT, dos leites de vaca e materno, provenientes da Cidade dos Meninos, para que os dados obtidos possam contribuir para uma melhor avaliação da contaminação ambiental dessa área, constituindo esta investigação, o objetivo principal desta dissertação. As amostras de leite de vaca apresentaram contaminações significantes de  $\beta$  HCH, que é o isômero do HCH mais estável e com maior acúmulo em organismos vivos. Os resultados encontrados confirmaram a exposição anterior ao DDT e a persistência do p,p' DDE, uma vez que foi o único metabólito encontrado nas amostras de leite de vaca. A contaminação das amostras de leite materno foi altamente significativa para o  $\beta$  HCH atingindo valores de ingestão diária estimada de até 20 vezes o valor da ingestão diária aceitável (IDA). O DDT não ultrapassou o valor da IDA. A maior contaminação das amostras de leite materno, em relação às amostras de leite de vaca, pode ser atribuída ao processo de biomagnificação na cadeia trófica.



## ABSTRACT

---

The organochlorine pesticide residues are persistent contaminants and contaminate all global ecosystem compartments. The investigation and control of these residues are of sanitary, ecological, economical and social interest, since they are biocides and are not easily eliminated from the environment. At a place called Cidade dos Meninos, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, it has been deactivated a hexachlorocyclohexane factory (HCH, normally known as BHC), that is an organochlorine insecticide, largely used in control of malaria and Chagas disease. In this factory it was also formulated DDT(trichloro bis(chlorophenyl) ethane. The factory's uncontrolled deactivation process left around 300 tons of waste in open air, exposing the local population and contaminating the environment. The main route of human exposure to organochlorine pesticides is through food, whereby milk is the most important source. The milk accumulates these residues in its fat portion and is considered a good indicator to support an exposure assessment to these compounds. So, it has been considered important to investigate the bovine and human milks HCH and DDT contamination, from Cidade dos Meninos, as a contribution to a better assessment of the environmental contamination of this area and it was the major concern of this dissertation. The bovine milk has presented significant contamination of  $\beta$  HCH, which is the most stable HCH isomer and the one that presents higher accumulation capacity in living organisms. The found results confirm the previous exposure to DDT and the p,p'DDE persistence since it was the only metabolite found in bovine milk samples. The human milk samples contamination were highly significant for  $\beta$  HCH, that reached estimated daily intake values as high as 20 times the acceptable daily intake (IDA). DDT has not exceeded the IDA value. The higher contamination values in the human milk samples, compared to the bovine milk samples, can be attributed to the trofic chain biomagnification process.

## 1 - INTRODUÇÃO

---

Agrotóxicos, defensivos agrícolas, praguicidas, pesticidas e biocidas, são denominações dadas a substâncias químicas que são utilizadas para prevenir, destruir ou controlar alguma peste, incluindo vetores de doenças humanas ou de animais; espécies não desejadas de plantas ou animais que causam danos ou interferem com a produção, estocagem, transporte ou comercialização de alimentos. Estão incluídos também neste conceito os reguladores de crescimento de plantas, desfoliantes, dessecantes ou agentes para prevenção da queda prematura dos frutos ou ainda, substâncias utilizadas antes e após a colheita, para prevenir a deterioração durante a estocagem ou transporte ( Codex Alimentarius, 1984, *apud* WHO, 1990; FAO, 1986; Brasil, 1989).

O DDT (tricloro bis (clorofenil) etano) foi o primeiro inseticida sintético clorado orgânico, tendo sido sintetizado por Othmar Zeidler em 1874, no entanto, só em 1939 Paul Müller descobriu suas propriedades inseticidas (Zambrone, 1986), nos laboratórios da Companhia Suiça J.R.Geigy,S.A, tendo sido patenteado em março de 1940. As dificuldades de comunicação à época, quando as tropas alemãs e italianas cercaram a única democracia que restava na Europa, dificultaram a propagação de informes ao mundo livre, tardando em mais de um ano o conhecimento detalhado da descoberta suíça. G.A.Campbell foi o responsável pela introdução do DDT na Inglaterra, no final de 1942. Os benefícios do DDT foram, então comparados aos da penicilina e do radar, sendo considerado a maior descoberta científica das últimas décadas (West & Campbell, 1952).

A descoberta do alto poder inseticida do DDT pode ser vista como catalisador da escalada à procura de novos inseticidas (Benn

& Mc Auliffe, 1981). Durante a Segunda Guerra Mundial , o DDT foi utilizado com sucesso na proteção de zonas militares, no controle da epidemia de tifo em Nápoles, Itália ( Hassall, 1990). Para evitar a repetição do desastre ocorrido durante a Primeira Guerra Mundial, onde mais de 5 milhões de pessoas morreram devido à epidemia de tifo, todos os civis e ocupantes das tropas aliadas foram pulverizados com DDT, bloqueando, assim, a epidemia de tifo iminente e portanto, a introdução do DDT, tornou-se um dos atos humanitários mais importantes, salvando milhões de vidas, desta epidemia. Em 1948, Paul Müller recebeu o Prêmio Nobel de Medicina, em reconhecimento às muitas vidas salvas após a guerra ( Parke, 1981; Baird, 1995).

A necessidade crítica de proteger culturas, de pestes, de insetos e também tropas que serviam em áreas tropicais, da malária e outras doenças transmitidas por insetos, estimularam uma procura por pesticidas orgânicos sintéticos, que culminou com a descoberta das propriedades inseticidas do hexaclorociclohexano (HCH) (Brooks, 1974). O HCH (hexaclorociclohexano) foi sintetizado por Michael Faraday em 1825, e a existência de quatro isômeros demonstrada por Van der Linden em 1912. A descoberta das suas propriedades inseticidas por Dupire e Rancourt, na França, e por Slade et al., na Inglaterra, ocorreu por volta de 1942 (Metcalf, 1955).

A descoberta da atividade inseticida do Lindano (isômero  $\gamma$  do hexaclorociclohexano), seguida pelo sucesso do DDT em controlar doenças transmitidas por vetores, reforçaram esforços para sintetizar e comercializar novos inseticidas (Plimmer, 1996).

Apesar da pesquisa científica voltada para a utilização das substâncias químico-orgânicas, como defensivos agrícolas, ter sido iniciada na década de 1920, somente após a Segunda Guerra Mundial, tais produtos passaram a desempenhar papel de crescente

relevância na agricultura e o cenário mundial foi transformado pela introdução de muitos outros pesticidas, incluindo outros hidrocarbonetos clorados (Naidin, 1986; Parke, 1981).

Nos primeiros anos de expansão do uso de pesticidas, a eficiência destes compostos químicos era tão espetacular, que eles tiveram largo uso, relativamente indiscriminado nos países desenvolvidos. O DDT parecia ser o inseticida ideal, altamente tóxico para os insetos, porém com baixa toxicidade para humanos. O fato de ser persistente representava uma grande vantagem (Baird, 1995; Martijn *et al.* 1993).

Havia pouca preocupação com relação aos possíveis danos a humanos e ao meio ambiente, até o final da década de 1950 e início da década de 1960, quando atenção foi dada a este assunto através das publicações de Carson, 1962 e Rudd, 1964 *apud* (Edwards, 1994), que incluem a toxicidade crônica dos pesticidas para humanos, animais domésticos e vida selvagem; sua fitotoxicidade para plantas, o desenvolvimento de novas espécies de pestes, devido ao uso de pesticidas; o desenvolvimento de pestes resistentes a estes produtos químicos; a persistência dos pesticidas no solo e água e, seu potencial para o transporte global de contaminações ambientais. Em 1962, o DDT foi chamado de *elixir da morte* pela escritora Rachel Carson, em seu livro “*Silent Spring*”, devido à redução da população de certas aves (Carson, 1962 *apud* Baird, 1995).

O reconhecimento do potencial de danos ao meio ambiente por pesticidas ocasionou o desenvolvimento de complexos sistemas de registro, organização de monitoramentos e a exigência de dados a serem fornecidos antes da liberação dos pesticidas para uso geral. Entretanto, os pesticidas são ainda utilizados nos países em desenvolvimento sem exigências adequadas para registro ou

precauções convenientes, acarretando problemas potenciais de meio ambiente (Edwards, 1994).

O estabelecimento de normas internacionais para evitar a contaminação excessiva dos alimentos constitui a finalidade principal do Programa Comum FAO/OMS de Normas Alimentares e da Comissão do Códex Alimentarius (Códex 1984 *apud* WHO, 1990).

Os pesticidas ocupam lugar de destaque nas campanhas de combate a vetores de várias doenças transmissíveis que ainda prevalecem nos países tropicais em desenvolvimento. Doenças como a de Chagas, malária, febre amarela, tifo, dengue, dentre outras, impõem a diversos países do mundo a utilização destes agentes de forma por vezes indiscriminada. A utilização destes compostos na agricultura, foi banida em muitos países, incluindo o Brasil que, apesar de ter proibido o uso dos mesmos para a agricultura desde 1985, continua permitindo o uso de DDT e HCH para o controle de vetores transmissores de doenças (Minelli & Ribeiro, 1996; Brasil, 1985).

No Brasil, durante a década de 40, iniciou-se a utilização de inseticidas organoclorados em campanhas de saúde pública, na tentativa de erradicação e/ou controle de vários vetores de doenças transmissíveis, endêmicas em algumas regiões.

### **1.1 – A CIDADE DOS MENINOS**

Com a necessidade de controlar os triatomíneos que transmitem a doença de Chagas, o Ministério da Saúde implantou uma fábrica, destinada à produção de hexaclorociclohexano (HCH), situada em uma localidade conhecida como Cidade dos Meninos, no Município de Duque de Caxias, Estado do Rio de Janeiro

(Oliveira,1994). O HCH (comumente conhecido como BHC), é um inseticida fitossanitário, organoclorado persistente , amplamente utilizado no combate de vetores da malária e da doença de Chagas (SNVS, 1985).

Em 1934 , uma área com 19,4 milhões de metros quadrados , localizada no Km 12 da antiga Estrada Rio-Petrópolis, foi cedida à então Primeira-dama Dona Darcy Vargas, que implementou um projeto de albergue para meninas pobres, nas chamadas "casas-lares", com aprendizado profissional e atividades produtivas.

Em 1947 o albergue foi entregue à Fundação Cristo Redentor, para a instalação da Cidade dos Meninos. Foram construídos 40 pavilhões com uma distância média de 500 metros entre cada um deles.

Em 1949, o Dr. Mário Pinotti, então Diretor do antigo Serviço Nacional de Malária, solicitou oito dos quarenta pavilhões existentes, para a instalação do Instituto de Malariologia, sendo um dos pavilhões destinado ao "Laboratório de Inseticidas", responsável pelas pesquisas referentes ao controle químico de vetores.

A disseminação da doença de Chagas no país , necessitando que medidas urgentes fossem tomadas, e a insuficiência de HCH para o controle de pragas na agricultura, justificaram a fabricação de HCH no país. A opção pela tecnologia holandesa, trazida ao Brasil pelo químico holandês Henk Kemp, deveu-se ao custo reduzido de implantação da fábrica para a produção de HCH, por catálise química a baixa temperatura. Em 15 de agosto de 1950, a fábrica foi inaugurada (Oliveira, 1994; Braga,1996).

Além da produção de HCH, desenvolveu-se pesquisas na fábrica com outros pesticidas como o arsenito de cobre ( aceto-

meta-arsenito de cobre), também conhecido como Verde Paris e o tricloro bis(clorofenil)etano (DDT), cuja formulação final feita na fábrica se destinava ao controle do Anopheles, gênero de mosquitos transmissores da malária.

Durante cinco anos o HCH foi produzido, utilizando como matérias primas o benzeno, fornecido pela Companhia Siderúrgica Nacional (Volta Redonda - RJ), e o cloro fornecido pela Companhia Eletroquímica Fluminense (São Gonçalo - RJ).

Com o término da produção de cloro pela Companhia Eletroquímica Fluminense, a produção de HCH começou a ficar comprometida, devido ao alto custo e risco de transporte do gás fornecido pelas empresas Matarazzo (São Paulo). Com as dificuldades operacionais e o aumento da oferta de Lindano ( $\gamma$ -HCH) a baixo custo nos mercados nacional e internacional, pelas empresas Matarazzo (100% nacional) e Elclor (multinacional), tornou-se antieconômico o funcionamento da fábrica, sendo desativada em 1955 (Oliveira, 1994; relatos de antigos funcionários).

Em 1956, foi criado, pelo então Exmo. Ministro da Saúde, Prof. Maurício de Medeiros, o Departamento Nacional de Endemias Rurais (D.N.E.Ru), dirigido pelo Dr. Mário Pinotti e o Serviço de Produtos Profiláticos, dirigido pelo Brigadeiro Dr. Gerardo Majella Bijos (Bijos, 1961).

A direção do Serviço de Produtos Profiláticos estruturou-se no prédio federal, situado à Rua Melo e Souza, São Cristóvão, no antigo Gabinete do Serviço Nacional de Malária. No pátio desse prédio, estava localizada a fábrica de pasta de DDT, com instalações precaríssimas, funcionando desde 1954 (relatos de antigos funcionários).

Em 1956, na gestão do primeiro diretor do Serviço de Produtos Profiláticos, do Departamento Nacional de Endemias Rurais, Brigadeiro Dr. Gerardo Majella Bijos, foi encontrada a Fábrica de BHC, com instalações pioneiras ainda existentes, mas sem funcionamento. Face à criação do Serviço de Produtos Profiláticos, a antiga instalação da Fábrica, foi denominada de Fábrica de Produtos Profiláticos, que viria a ser amplamente modificada e ampliada, pois ali seriam produzidos diversos produtos destinados ao Combate às Endemias e, com as instalações existentes, procurou-se continuar a fabricação do “BHC”, até o momento em que foi verificado o seu alto custo industrial (Bijos,1961).

As instalações da Fábrica foram conservadas apenas como fator pioneiro, tendo sido transferido para estas instalações, a fábrica de DDT, que funcionava anteriormente à Rua Melo e Souza, São Cristóvão, Rio de Janeiro. O princípio ativo para esta formulação, era importado dos Estados Unidos, até o momento da instalação no Brasil da Fábrica Suzano.

Por ordem do então Ministro da Saúde, Dr. Mário Pinotti, foi instalada em 1957, na Cidade dos Meninos, uma Escola Primária, denominada Escola Sara Kubitscheck, em homenagem a Primeira-dama do País.

Nesse período, foram construídas doze casas, destinadas aos funcionários, que constituíram a Vila Ministro Mário Pinotti (Bijos, 1961).

Em maio de 1958, foi inaugurado o Laboratório de Produção de Medicamentos, nas instalações do Serviço de Produtos Profiláticos.



De abril de 1956 a agosto de 1960, a Fábrica de Produtos Profiláticos produzia os seguintes formulações:

- pasta de DDT
- pasta de “BHC” : isômero alfa enriquecido com gama HCH
- emulsionáveis : DDT
- larvicidas: “BHC”
- mosquicidas : DDT + Lindano ( $\gamma$  HCH)
- rodenticidas: Composto “1080” (mono-fluoroacetato de sódio) e cianeto de cálcio
- vários outros produtos para o Combate às Endemias.

Segundo o Relatório final da gestão do Brigadeiro Dr. Gerardo Majella Bijos, em 31 de janeiro de 1961, restaram produtos profiláticos em estoque, à época, alguns deles citados a seguir:

- Iscas rodenticidas: 340 760 iscas
- Pó anti-Culex (isômero  $\alpha$  enriquecido com isômero  $\gamma$ , citado no mesmo artigo como mistura de isômero  $\alpha$  + isômero  $\beta$ ): para a feitura do pó anti-Culex: restou um **grande estoque** de resíduos de produção (antiga produção de “BHC”).
- DDT: nada restou em estoque (DDT técnico)
- Triton X-151: 112 407 litros
- Xilol: 109 tambores (Bijos, 1961).

Em 1960, por pressões do Ministério da Saúde, parte da produção dos produtos profiláticos foi transferida para um prédio de Manguinhos, na rua Leopoldo Bulhões, onde, sob a direção do Dr. Paulo Barragat, continuou sendo produzido o produto “1080” e a pasta de DDT, até 1963, sendo também continuada a produção de alguns medicamentos (Relatos de antigos funcionários).

O processo de desativação da fábrica da Cidade dos Meninos não foi controlado e todo acervo foi abandonado no local, incluindo móveis, maquinaria, estoques de HCH, matérias-primas e subprodutos. A má administração desse processo de desativação deixou que, cerca de 300 toneladas de produtos tóxicos, fossem largamente disseminados de forma heterogênea por toda a área (FEEMA, 1991).

Em julho de 1989, a Defesa Civil do Estado do Rio de Janeiro retirou do local 40 toneladas de HCH, grau técnico, que foram armazenadas em bombonas na Refinaria de Duque de Caxias (Pó, 1989; FEEMA, 1989; Caxias, 1989).

O solo contaminado foi utilizado para aterrar a estrada principal, com 4 quilômetros de extensão, que atravessa a Cidade dos Meninos. A contaminação se espalhou e é encontrada nos terrenos das casas vizinhas. O gado pasta na área contaminada produzindo, provavelmente, leite contaminado, uma vez que o HCH é bioacumulativo (Oliveira, 1994; Braga, 1996).

Dentro de um raio de 100 metros das ruínas da fábrica, foram encontradas concentrações residuais de HCH em amostras de solo e também em amostras de grama, que serve de alimento para cerca de 2000 cabeças de gado que pastam livremente na região (Oliveira, 1994).

A análise de amostras de soro de sete famílias e de 184 crianças residentes à época na Cidade dos Meninos, revelou níveis de HCH(isômeros  $\alpha$  e  $\beta$ ) superiores nas pessoas que moravam perto das ruínas da fábrica. Altas concentrações de  $\beta$  HCH foram detectados em 31 indivíduos. O  $\beta$  HCH é o isômero do HCH mais persistente em organismos vivos. A eliminação do  $\alpha$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -HCH, ocorre de 1 a 4 semanas após a exposição ao HCH, enquanto o  $\beta$ -

HCH acumula-se no tecido adiposo (Braga, 1996; IARC, 1974 *apud* Braga et al., 1997).

Em 1995, uma empresa contratada pelo Ministério da Saúde, iniciou um processo de regeneração da área por adição de CaO(óxido de cálcio), revolvendo a terra da área contaminada. Após esse procedimento, a Empresa emitiu laudo alegando que a área estava descontaminada. Entretanto, esta ação foi insuficiente, pois avaliações após a emissão do relatório, mostraram que o solo continuava altamente contaminado, não só com HCH e DDT, mas também com os metabólitos do DDT (Bastos et al., 1997).

Em setembro de 1997, o então Ministro da Previdência Social, Reinhold Stephanes, e o Secretário Estadual de Habitação, Ayrton Xerez, reuniram-se para definir detalhes para a cessão da Cidade dos Meninos, uma área de quase vinte milhões de metros quadrados, prevendo a construção de cinquenta mil unidades residenciais (Cidade,1997).

## **1.2 – PESTICIDAS E O MEIO AMBIENTE**

A utilização de pesticidas no controle de vetores transmissores de doenças e no desenvolvimento da agricultura, acarretou sérios problemas de contaminação ambiental tornando-se, conseqüentemente, um risco potencial à saúde humana(Lara,1986; Garrido et.al.,1994).

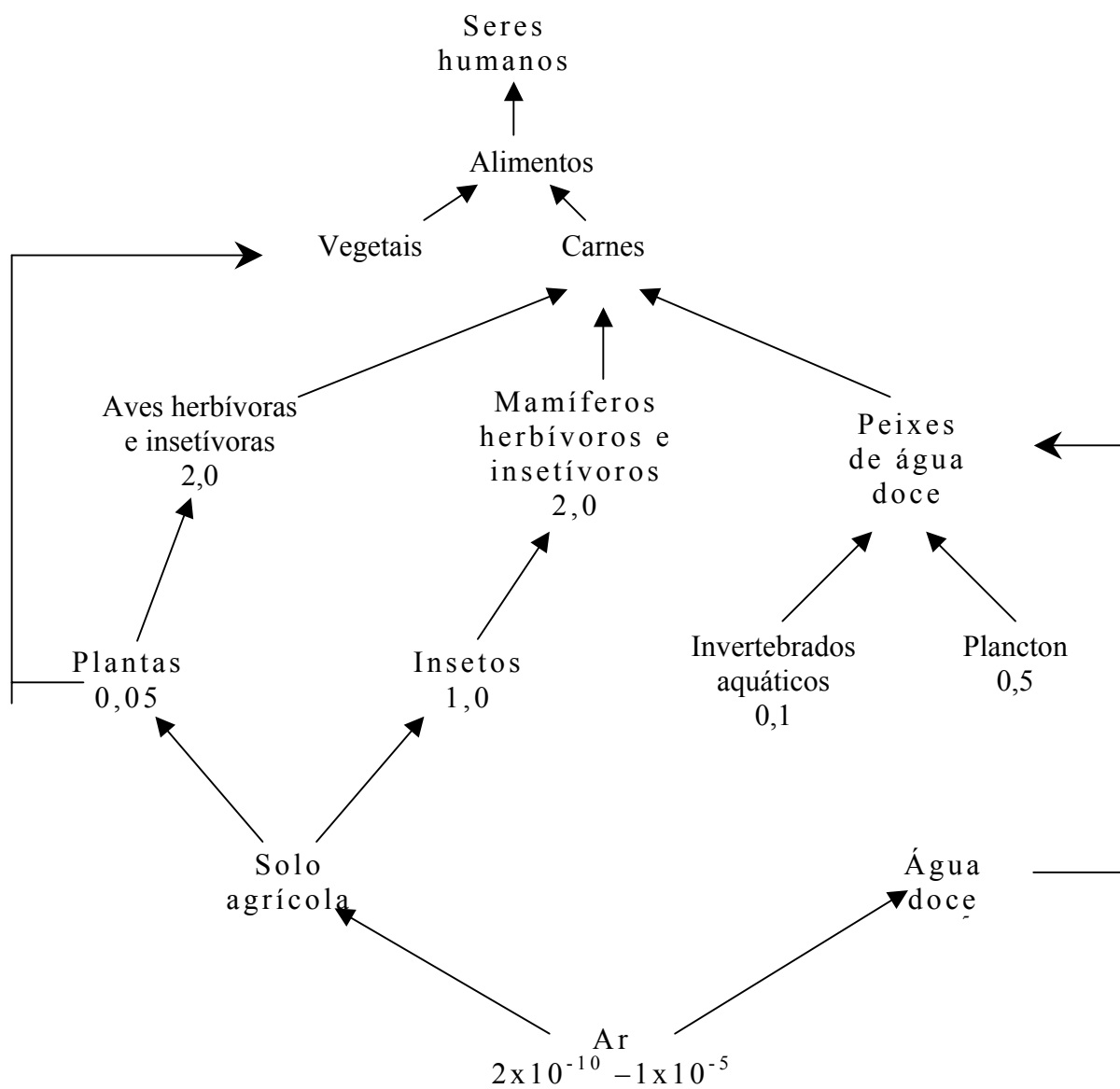
Os pesticidas organoclorados, por serem substâncias persistentes, são consideradas as que exercem maiores danos ao meio ambiente. Relevantes poluições ambientais por estes pesticidas têm sido notificadas, particularmente nas últimas quatro décadas, quando constatou-se a presença de resíduos no solo, na água e na maior parte da biota, que podem modificar o meio

ambiente e até eliminar muitas espécies (Edwards, 1994; Garrido et al., 1994).

Os sistemas biológicos tendem a concentrar os produtos tóxicos de difícil degradação. Tais produtos entram nas cadeias alimentares, acumulam-se nos tecidos, concentram-se em cada nível trófico e atingem seus maiores índices, quando chegam aos vertebrados predadores. É a chamada "biomagnificação": em cada nível trófico, as concentrações destas substâncias, são superiores às verificadas no nível anterior. Animais de níveis superiores da pirâmide trófica, acumulam estes compostos em maiores concentrações em seus tecidos. Estando o homem localizado no topo da cadeia alimentar, recebe e acumula resíduos de pesticidas que os animais ou vegetais tenham estocado em vários períodos de desenvolvimento (Sant'Ana et al., 1989; Czaja, 1997a).

Os compostos organoclorados são contaminantes persistentes no meio ambiente, que penetram em todos os compartimentos do ecossistema global. Eles possuem um alto coeficiente de partição gordura/água, que os torna altamente lipossolúveis e facilita sua magnificação na cadeia trófica (Franchi & Focardi, 1991).

Durante as últimas décadas, um dos mais importantes tópicos em ecotoxicologia, tem sido a transferência de poluentes ao longo da cadeia trófica. No início da década de 60, um estudo mostrou que as concentrações de DDT nos organismos aumenta dramaticamente ao longo da cadeia trófica. Esta "biomagnificação" foi também confirmada para outros organoclorados (Picó et al., 1995). e é exemplificada para o DDT, na **Figura 1**.



**Figura 1:** Acumulação de DDT em diferentes compartimentos de um ecossistema. Valores em partes por milhão (Edwards, 1975 *apud* Melo & Vallejo, 1990).

Em geral, organismos de níveis tróficos superiores contêm mais tipos de compostos de DDT, do que os organismos dos níveis tróficos mais baixos. Estes compostos podem ser transportados para o mundo em corpos de animais migrantes e nas correntes de oceanos e ar (WHO, 1989).

Um exemplo de biomagnificação é o alto teor de organoclorados encontrado no leite de ursos polares, pois sendo carnívoros, alimentam-se quase que exclusivamente de mamíferos marinhos e estão no topo da cadeia alimentar marinha do Ártico (Polischuk et al., 1995).

Os problemas de contaminação ambiental por pesticidas organoclorados persistentes, invocam maior preocupação com a presença de seus resíduos no meio ambiente e tecidos humanos, pois são considerados biocidas e não são facilmente eliminados (Mukherjee & Gopal, 1993; Garrido et al., 1994).

A distribuição global de compostos organoclorados, foi investigada em amostras de cascas de árvores de noventa lugares diferentes no mundo. Encontrou-se altas concentrações de organoclorados, tanto nos países em desenvolvimento, como em países industrializados, mesmo quando o uso foi restringido ou cancelado. Algumas pesquisas relatam que alguns poluentes orgânicos movem-se através da atmosfera, de regiões relativamente mornas, condensando-se em regiões mais frias e latitudes elevadas, sobre a vegetação, solo e água. Este processo é conhecido como destilação global e pode ser a causa das altas concentrações destes compostos, encontradas nas regiões árticas da terra (Simonich & Hites, 1995).

O uso de pesticidas na agricultura nas últimas décadas, proporcionou um grande benefício para a produção de alimentos,

tanto com relação à eficiência agrícola, quanto à qualidade dos alimentos produzidos. Entretanto, em paralelo a esses benefícios, surgiu o efeito potencial de resíduos de pesticidas remanescentes nos alimentos (Schattenberg & HSU, 1992).

A principal rota de exposição humana a pesticidas organoclorados, é através dos alimentos. Os resíduos desses pesticidas nos alimentos e rações animais são de grande interesse, pois entram no sistema humano, através da ingestão de produtos como leite, carnes e outros, obtidos de animais que se alimentam de rações ou forragens contaminadas (Santos et al., 1988; Mukherjee & Gopal, 1993; MC Lachlan, 1993; Singhal & Mudgal, 1990).

Os mamíferos armazenam os pesticidas organoclorados na reserva de gordura do organismo e, devido ao equilíbrio existente entre esta gordura e os lipídios do sangue, os pesticidas circulam pelo corpo do animal e são parcialmente eliminados no leite, dando origem aos resíduos não intencionais (Almeida & Barreto, 1971; Mendez, A et al., 1979; Martinez, 1997).

### **1.3 – OBJETIVO**

Tendo em vista as razões expostas anteriormente, considerou-se importante, avaliar a contaminação por HCH e DDT, do leite de vaca produzido na Cidade dos Meninos e do leite materno de mães residentes no mesmo local, para que os dados obtidos possam vir a contribuir para uma melhor avaliação da contaminação ambiental da área, considerando-se que este tipo de alimento acumula os resíduos de organoclorados e é considerado como um indicador adequado para subsidiar uma avaliação da exposição a esses compostos.



## **2-CARACTERÍSTICAS DO HCH(HEXAFLUOROCICLOHEXANO) E DO DDT (TRICLORO BIS (CLOROFENIL ) ETANO).**

---

### **2.1 - CARACTERÍSTICAS GERAIS**

#### **2.1.1- HCH (Hexafluorociclohexano)**

O HCH é um pesticida da classe dos organoclorados, com elevada persistência no ambiente e bioacumulação em seres vivos.

O HCH de grau técnico consiste de uma mistura de pelo menos cinco estereoisômeros principalmente  $\alpha$  HCH,  $\beta$  HCH,  $\gamma$  HCH,  $\delta$  HCH e  $\epsilon$  HCH, com a seguinte constituição: 60 a 65% de  $\alpha$  HCH; 5 a 14% de  $\beta$  HCH; 12 a 15% de  $\gamma$  HCH; 6 a 8% de  $\delta$  HCH e 3 a 4% de  $\epsilon$  HCH (Ong, 1956). O percentual de cada isômero pode variar de acordo com o processo de fabricação (Vetorazzi, 1981).

Dos isômeros citados, o isômero  $\gamma$  é extremamente mais tóxico para os insetos do que os isômeros  $\alpha$  e  $\delta$ . Os isômeros  $\beta$  e  $\epsilon$  são geralmente quase inertes. O isômero  $\gamma$  é geralmente conhecido como Lindano (Hassall, 1990).

O isômero  $\beta$  é o mais simétrico e estável, sendo portanto o mais persistente na natureza e é geralmente encontrado em concentrações maiores no tecido adiposo e leite (Kinyamu, 1998).

Em um estudo com grama tratada com isômeros de HCH ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), após 35 dias, os resíduos de  $\alpha$  HCH e  $\gamma$  HCH quase não foram detectados, enquanto  $\beta$  HCH e  $\delta$  HCH permaneceram presentes em quantidades significantes. As perdas rápidas de  $\alpha$

HCH e  $\gamma$  HCH, são atribuídos a suas altas pressões de vapor, o que indica maior persistência dos isômeros  $\beta$  HCH e  $\delta$  HCH (Singh et al., 1993). É importante ressaltar que, apesar da comprovação da persistência do isômero  $\delta$  HCH, os seus resíduos não são encontrados com muita frequência, pois as quantidades deste isômero nas formulações são muito reduzidas e a transformação dos outros isômeros para este não ocorre.

A substituição do uso de HCH de grau técnico por Lindano, contendo 99% de pureza, foi recomendada pela Organização Mundial da Saúde (Vettorazzi, 1981), pois os outros isômeros que não possuem ação sobre os insetos, condicionam à intoxicação crônica. Entretanto, ainda persiste a contaminação ambiental devido aos rejeitos dos isômeros produzidos durante o processo de produção do Lindano e ao uso continuado do HCH de grau técnico pelos países em desenvolvimento (Braga, 1996).

### **2.1.2 - DDT (Tricloro bis (clorofenil) etano)**

O DDT é um pesticida da classe dos organoclorados, persistente no ambiente e acumula-se nos organismos vivos.

O termo DDT é geralmente entendido no mundo e se refere ao p,p' DDT ou produtos comerciais, consistindo, predominantemente de p,p' DDT (WHO, 1989).

O DDT é o mais persistente e durável de todos os inseticidas de contato, devido a sua insolubilidade na água, baixa pressão de vapor e resistência à decomposição por luz e oxidação (Metcalf, [19--]).

As moléculas do DDT e seus produtos de transformação estáveis, como DDD (dicloro bis (clorofenil) etano) e DDE (dicloro bis (clorofenil) eteno), mostraram ser persistentes. (Kenaga, 1974).

A remoção de um átomo de cloro do grupo triclorometil do p,p'-DDT e sua substituição por um átomo de hidrogênio, fornece a estrutura do p,p'-DDD (tetracloro difenil etano), conhecido como TDE. Em certas circunstâncias o DDD é um produto metabólico do DDT . O DDD e o DDE são os produtos de decomposição do DDT mais comuns, encontrados no tecido adiposo do homem.

Um exemplo típico de DDT técnico, tem a seguinte composição: 77,1% de p,p'-DDT; 14,9% de o,p'-DDT; 0,3% de p,p'DDD; 0,1% de o,p'DDD; 4,0% de p,p'DDE; 0,1% de o,p' DDE .

O DDD é geralmente inferior ao DDT como inseticida, mas é útil para controlar larvas de mosquitos ( OPAS, 1982; WHO, 1989; Hassall, 1990)

## **2.2 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS**

### **2.2.1 -HCH (Hexaclorociclohexano)**

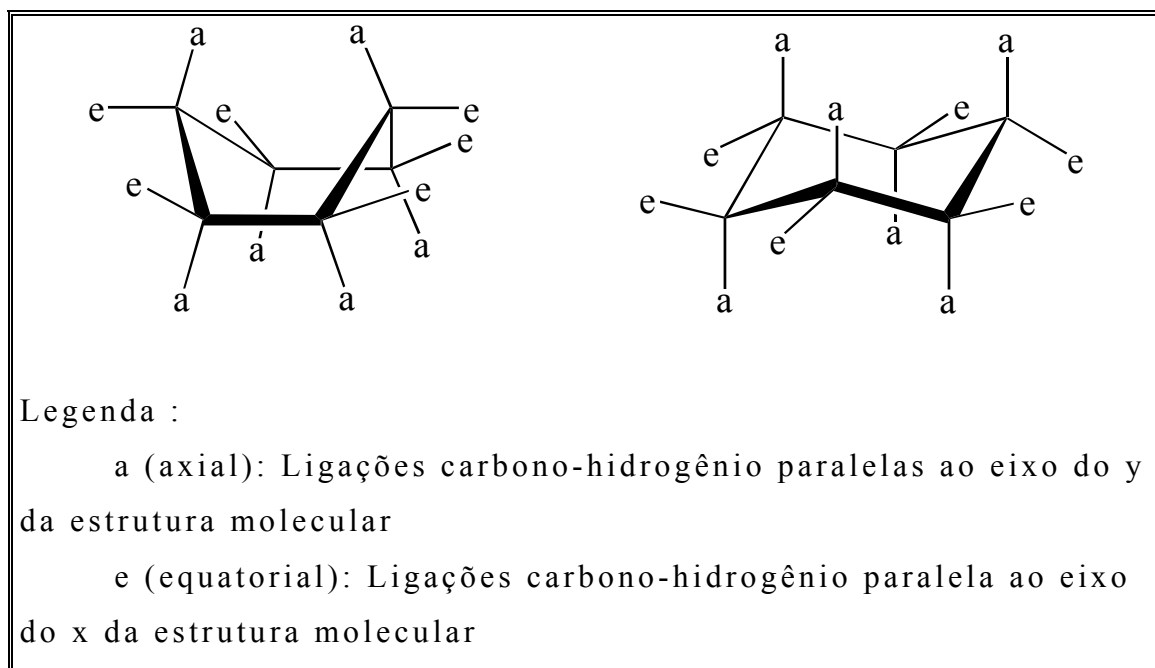
Nome químico do HCH : 1,2,3,4,5,6-Hexaclorociclohexano.

Fórmula empírica: C<sub>6</sub> H<sub>6</sub> Cl<sub>6</sub>

Peso molecular: 290,80

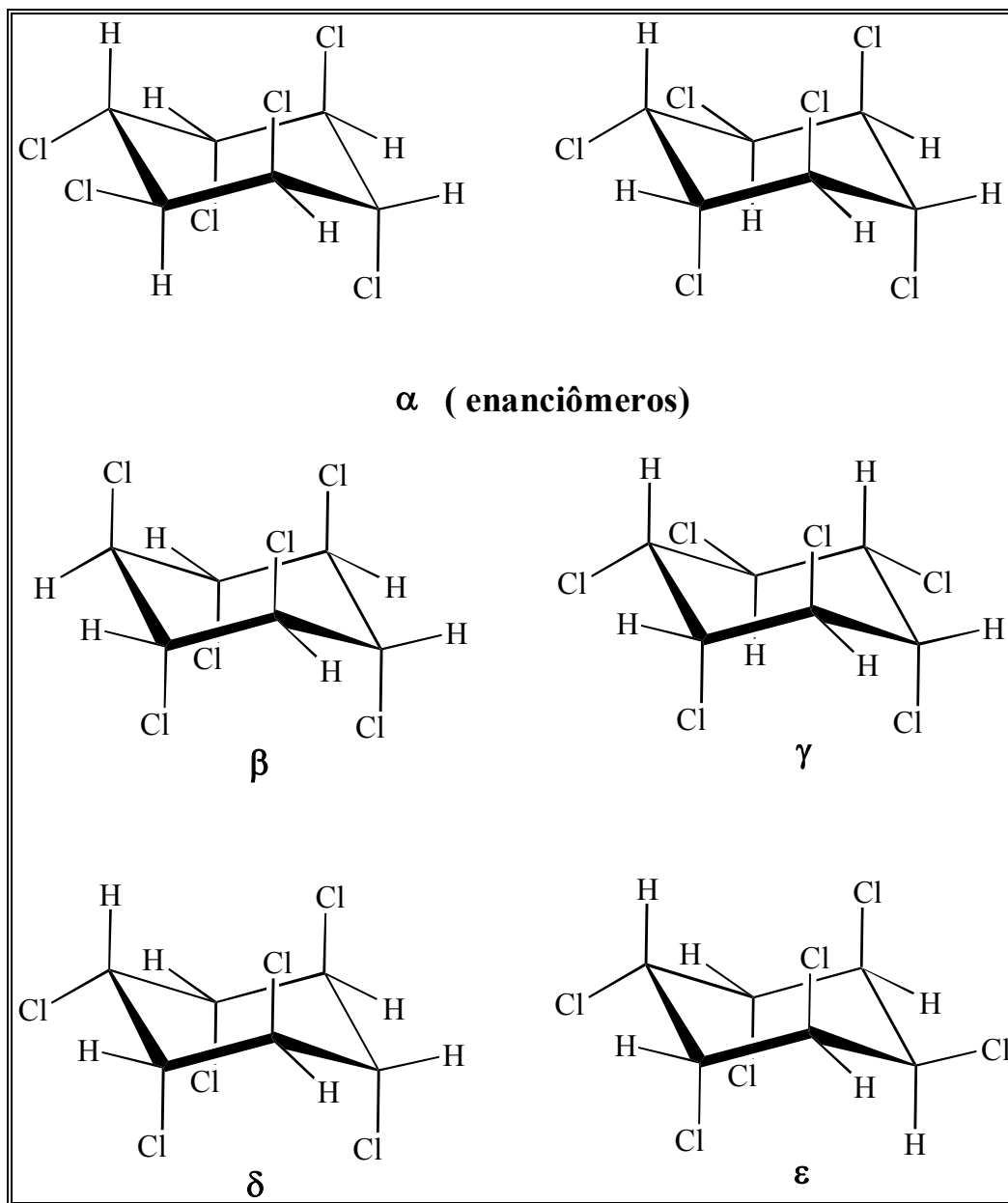
O produto de grau técnico é um sólido amorfo, de cor cinza ou parda, com cheiro característico, e apresenta , quando puro, uma temperatura de fusão de 225-227 ° C.

Sua estrutura química admite a possibilidade de dois tipos de isomeria: isomeria de anel e isomeria de substituição. Com relação à isomeria de anel, este pode adotar duas conformações, uma sob a forma de "barco" e a outra sob a forma de "cadeira", sendo a última mais estável (Brooks, 1974; Larini, 1993). (**Figura 2**)



**Figura 2:** Configuração espacial dos isômeros do hexaclorociclohexano na conformação “barco” e “cadeira”. (Brooks, 1974).

Na isomeria de substituição, cada átomo de cloro pode estar ligado ao anel hexagonal na posição equatorial ou axial, o que resultará, para o hexaclorociclohexano, uma série de isômeros, sendo os principais o  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , e épsilon, (**Figura 3**). Esta diferença, proporciona aos isômeros propriedades físicas diferentes e também diferenças no metabolismo e mecanismo de ação de cada um deles (Metcalf, 1955; Larini, 1993).



**Figura 3:** Formas espaciais dos isômeros do hexaclorociclohexano (Metcalf, 1955)

### 2.2.2 - DDT (Tricloro bis(clorofenil) etano)

Nome químico do DDT: 2,2,bis(p-clorofenil) 1,1,1-tricloroetano

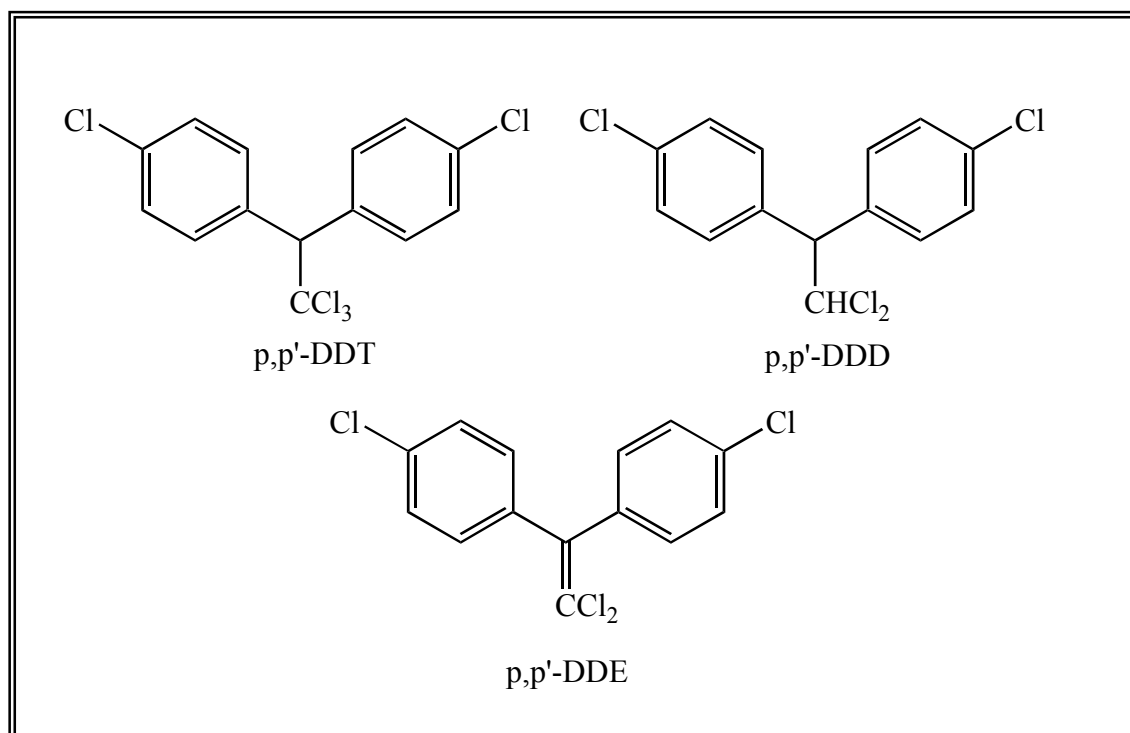
Fórmula empírica: C<sub>14</sub> H<sub>9</sub> Cl<sub>5</sub>

Peso molecular: 354,5

Pressão de vapor: 253x 10<sup>-5</sup> Pa (1,9 x 10<sup>-7</sup> mm de Hg) a 20° C.

Todos os isômeros do DDT são sólidos brancos, cristalinos, insípidos, quase inodoros e se fundem entre 108,5°C e 109°C.

O DDT é insolúvel na água; solúvel na maioria dos solventes orgânicos e muito solúvel em gorduras animais (OPAS,1982; WHO, 1989; Larini, 1993) e sua estrutura química, e de seus produtos de decomposição estão representadas na **Figura 4**.



**Figura 4:** Estrutura química do p,p'-DDT e seus produtos de decomposição (Thompson, 1984).

### **2.3 - CARACTERÍSTICAS TOXICOLÓGICAS**

Os inseticidas organoclorados são quimicamente estáveis, lipossolúveis, possuem baixa velocidade de biotransformação e degradação, o que os torna inseticidas eficientes, porém condenados por sua persistência no meio ambiente e bioconcentração. A sua característica fortemente lipofílica, favorece a acumulação em biolipídios (Hassall, 1990; Nerin *et al.*, 1995).

Hidrocarbonetos com cloros substituintes, que bloqueiam a oxidação do anel, são resistentes à biodegradação, acumulam-se no meio ambiente e persistem por longos períodos em animais que os tenha absorvido (Williams, 1981; Quinsey *et al.*, 1995).

Os pesticidas organoclorados são altamente lipofílicos, característica que permite rápida penetração nas membranas celulares e nos tecidos, distribuindo-se e concentrando-se na gordura corpórea e fluidos de humanos e animais (Klaassen & Rozman, 1991). Quando eles estão estocados no tecido adiposo, são geralmente inativos; quando há desnutrição, ou nutrição precária, os depósitos de gordura são mobilizados e os pesticidas são liberados desses sítios para a corrente sanguínea, com a possibilidade de intoxicação aguda, caso a concentração atinja níveis suficientemente elevados (Mendez *et al.*, 1979; OMS, 1992; Quinsey, *et al.*, 1995).

De acordo com a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, desde 1985 os pesticidas são classificados em quatro classes toxicológicas:

- Classe I: Extremamente tóxico
- Classe II: Altamente tóxico
- Classe III: Medianamente tóxico
- Classe IV: Pouco tóxico

Classificação Toxicológica: (SNVS,1985)

BHC: Classe I  
 Lindano: Classe II  
 DDT: Classe II

As toxicidades agudas para esses pesticidas encontram-se listadas na **Tabela 1**.

**Tabela 1:** Toxicidade aguda para ratos machos por via oral, DL<sub>50</sub> em mg.kg<sup>-1</sup> (Larini, 1993):

<b>Pesticida</b>	<b>DL<sub>50</sub>, mg.kg<sup>-1</sup></b>
DDT :	217
pp'DDT :	113
DDE :	880
Lindano :	88
Hexaclorociclohexano :	1000

É importante ressaltar que, quando se trata de pesticidas de baixa toxicidade, mas com forte tendência a se acumularem no corpo, o risco principal é vinculado à exposição prolongada, mesmo quando as doses são relativamente pequenas (OMS,1992).



Níveis de ingestão diária aceitáveis de pesticidas (IDA), são estabelecidos baseados em exames completos de informações disponíveis, incluindo dados sobre as propriedades bioquímicas, metabólicas, farmacológicas e toxicológicas dos pesticidas, obtidos através de estudos em animais de experimentação e as observações em seres humanos (SIMUVIMA, 1997). Os valores de IDA, estão relacionados na **Tabela 2**.

**Tabela 2:** Ingestão diária aceitável (IDA) em mg/kg/peso corpóreo/dia, para pesticidas organoclorados (International Programme on Chemical Safety, 1993; FAO/WHO, 1990 (Codex Alimentarius Commission, 1996):

<b>Pesticida</b>	<b>IDA</b> <b>mg/kg/peso corpóreo/dia</b>
HCH	não estabelecida
LINDANO	0,008
DDT	0,02

### **2.3.1 – Efeitos tóxicos**

#### **2.3.1.1 - Efeitos bioquímicos: Indução enzimática**

A indução de enzimas microsômicas (oxidases de função mista) no fígado é um fenômeno conhecido nos animais de experimentação e nas pessoas expostas a pesticidas organoclorados. Concentrações elevadas de organoclorados (notadamente o DDT e DDE), induzem as enzimas hepáticas e tendem a acelerar a excreção dos pesticidas, mas também, estimular a biotransformação

de substâncias naturais críticas, tais como hormônios esteróis (Cheremisinoff & King, 1994).

#### 2.3.1.2 - Efeitos cutâneos (OMS, 1992)

O DDT e o Lindano, causam sensibilidade cutânea, reação alérgica e exantema e o HCH, causa reações fotoalérgicas (OMS, 1992).

#### 2.3.1.3 - Efeitos carcinogênicos

Muitos experimentos de laboratório com roedores têm demonstrado que a carcinogenicidade do DDT, do HCH e do Lindano em camundongos e ratos tem o fígado como principal órgão alvo (Williams, 1981).

O Centro Internacional de Investigações sobre Câncer (CIIC), avaliou o potencial carcinogênico de alguns pesticidas. Quatorze pesticidas foram classificados como "possivelmente carcinogênicos para o ser humano". O DDT e os hexaclorociclohexanos foram incluídos neste grupo (OMS, 1992):

- DDT: Estudos em animais → provas suficientes  
Estudos em seres humanos → provas insuficientes
  
- HCH: Estudos em animais → provas limitadas (isômeros  $\beta$  e  $\gamma$ )  
provas suficientes (produto técnico e isômero  $\alpha$ )  
Estudos em seres humanos → provas insuficientes

### Classificação quanto à carcinogenicidade (Hollinger, 1995):

- DDT
  - carcinogênico para animais, porém não provado como carcinogênico para humanos.(1)
  - reconhecido como carcinogênico (2)
  - correntemente regulado pela OSHA, por outras razões (3)
  
- Lindano e outros isômeros do hexacloro ciclohexano
  - pode razoavelmente, ser antecipado como um carcinógeno (4)
  - correntemente regulado pela OSHA, por outras razões (3)

---

(1) IARC – International Agency for Research on Cancer

(2) NIOSH – National Institute of Occupational Safety and Health

(3) OSHA – Occupational Safety and Health Administration

(4) NTP – National Toxicology Program

Alguns pesquisadores têm feito a ligação entre exposição a organoclorados e o aumento de câncer em humanos. Uma hipótese, baseada em aspectos bioquímicos e epidemiológicos, sugere que pesticidas organoclorados podem desencadear o câncer de mama, por efeito adverso no metabolismo de estrogênio ( Wong & Lee, 1997).

Um estudo prospectivo foi realizado nos Estados Unidos no período de 1989 a 1990, com 240 mulheres, nas quais foram medidos os níveis de DDE no plasma sanguíneo (a meia vida de DDE no plasma é de aproximadamente 10 anos) e que apresentaram diagnóstico de câncer de mama antes de 1992. Estes níveis foram comparados com mulheres controle, que não desenvolveram câncer. Os dados referentes às concentrações de DDE foram disponíveis em 236 pares: 200 mulheres apresentaram câncer invasivo; 39 apresentaram carcinoma “in situ”; 1 apresentou câncer com aspecto

histológico incerto. Os dados obtidos com este estudo não confirmaram a hipótese de que a exposição ao DDT aumenta o risco de câncer de mama . Não se pode excluir, entretanto a possibilidade de que a exposição no útero, ou durante a infância, poderia aumentar o risco de câncer de mama, décadas após, uma vez que o DDT foi introduzido largamente no meio ambiente a partir de 1940 e a exposição no início da vida, não foi considerada na maioria dos casos de aumento na incidência de câncer de mama nas últimas décadas, que tem sido maior em mulheres no período pós-menopausa, que já eram adultas quando estes compostos eram mais usados (Estados Unidos) (Hunter et al., 1997).

Safe, 1997, baseado em estudos de outros autores como o de Hunter et al., 1997, considera que compostos organoclorados, fracamente estrogênicos, tais como PCBs, DDT e DDE, não são a causa de câncer de mama. Esta afirmação é fortemente contestada por Montague,1997, que considera que este tema não deve ser visto como encerrado uma vez que, em outros trabalhos, a ligação entre câncer de mama e estes compostos foi confirmada.

Os níveis de estrogênios têm sido implicados na etiologia do início de tumores neoplásicos de útero e mama. O aumento de risco para estes cânceres hormonalmente sensíveis vêm sendo associado com obesidade, infertilidade anovulatória, menopausa tardia, síndrome de ovário policístico, e tumores de ovário excretores de esteróides; o aumento do risco de carcinoma endométrico também vem sendo associado com o uso de estrogênio como terapia repositora de hormônios pós menopausa. Acredita-se que a base de cada um desses riscos se deve a um aumento de níveis de estrogênio na circulação. No caso de obesidade, acredita-se que, os níveis maiores de estrogênio que contribuem para o aumento do risco, derivem da conversão de androgênios para estrogênios nas células de gordura. O  $\beta$  HCH está associado com a incidência de câncer responsivo a estrogênio, pois a sua liberação da gordura,

por perda de peso, pode ser um mecanismo importante envolvendo este efeito. Estudos epidemiológicos sobre a ligação entre a exposição a organoclorados e o desenvolvimento de tumores responsivos a estrogênio, têm apresentado resultados controversos (Bigsby et al., 1997).

Uma associação positiva entre níveis elevados de organoclorados em tecidos (p,p' DDT, p,p'DDE ) e câncer de mama, tem sido relatada em alguns estudos de caso-controle e estudos de coorte ocupacional. Entretanto, em um recente estudo com residentes do norte do Vietnã, onde inseticidas como p,p' DDT foram largamente usados, não foi observado um aumento significativo do risco relativo de câncer invasivo de mama, com o aumento de concentrações sanguíneas desses compostos (Schechter et al., 1997).

Dich et al., 1997, revisaram a relação entre pesticidas e diversos tipos de cânceres. Eles encontraram relação com o sarcoma de partes moles, o linfoma não-Hodgkin's, a leucemia e menos consistentemente, com o câncer de pulmão e mama.

O DDT e seus metabólitos, têm sido chamados de ruptores endócrinos, devido à evidência sugerida de que podem atuar rompendo o sistema endócrino e contribuir para o câncer de mama. Alguns autores relacionam a influência do DDT no câncer de mama, com o aumento da produção e circulação de certos tipos de estrogênios. Neste contexto, o DDT deve atuar como promotor de câncer de mama induzido por outros carcinógenos. O risco de câncer de mama devido à exposição ao DDE, foi demonstrado por incidência de câncer hormônio responsivo (López-Carrillo et al., 1997 *apud* Olaya-Contreras et al.,1998). Os resultados encontrados em um estudo de avaliação de risco de câncer e exposição a organoclorados, em mulheres colombianas, constataram que os níveis séricos de DDE estão positivamente associados com o risco

de câncer de mama e poderiam apoiar a hipótese desta associação (Olaya-Contreras et al., 1998).

Talbott et al., 1997, apontaram como falha nos estudos epidemiológicos de meio ambiente, a investigação de populações não expostas. A ausência de um gradiente de exposição pode subestimar o efeito. A evidência epidemiológica, baseada nestes estudos, não são suficientes para excluir a possibilidade de que o DDE pode mostrar um risco real de câncer de mama para níveis elevados de exposição. Em populações expostas, o risco pode ser diferente. Qualquer conclusão com relação a agentes carcinógenos no meio ambiente, deve ser analisada com cuidado, porque se um risco pequeno existe, então, potencialmente, todos de uma população base poderiam ser expostos, e um grande número de casos de câncer poderia ser esperado (Mendonça, 1998).

As provas de carcinogenicidade dos pesticidas organoclorados não são muito sólidas. Sem dúvida, a persistência destes agentes no meio ambiente, o emprego contínuo nos países em desenvolvimento e, como os dados obtidos em animais sugerem carcinogenicidade, há necessidade de prosseguir os estudos sobre esta questão (OMS, 1992; Toews & Mc Ewen, 1994).

#### 2.3.1.3.1 - Promotores de carcinogênese

Há indícios que os pesticidas organoclorados atuam como promotores ativos de câncer, *i. e.* não induzem o evento genético que participa do estágio de iniciação do câncer, mas, potencializam ou "promovem", a expansão clonal das células iniciadas (Paumgartten, 1997; Dich et al., 1997).

Os promotores agem nas membranas celulares. A promoção parece ser um estágio reversível de desenvolvimento de tumor, e depende da continuidade de exposição do agente promotor.

O DDT mostrou ser um promotor de câncer de fígado (Williams, 1981; Sitarska et al., 1991; OMS, 1992)

#### 2.3.1.4 - Efeitos neurológicos

Os pesticidas organoclorados são substâncias neurotóxicas, atuando no sistema nervoso central, onde interferem com fluxos de cátions, através das membranas celulares nervosas (Cheremisinoff & King, 1994). Apesar de algumas diferenças entre os diferentes organoclorados, o efeito geral destes no organismo é desestabilizar a atividade neural, que é manifestada através de hiperexcitabilidade de nervos e músculos (Hassall, 1990).

Rogan et al., 1986, relataram um aumento significativo no número de crianças mostrando hiporreflexia, associado com o aumento da concentração de DDE no leite materno. Esses efeitos tornaram-se aparentes para concentrações de DDE superiores a 4 mg/kg de gordura no leite.

#### 2.3.1.5 – Efeitos sobre a fertilidade

Compostos organoclorados, têm sido considerados como possíveis determinantes, no aumento da incidência de anormalidades da reprodução masculina da vida selvagem e de um suposto decréscimo em contagem de espermatozoides humanos. O DDE, o derivado mais persistente e mais importante do DDT, tem mostrado

fortes propriedades androgênicas em estudos experimentais, em ratos machos, dando suporte à ligação entre contaminação de derivados do DDT no meio ambiente e a fertilidade entre machos humanos (Cocco, 1997).

Existem poucas evidências diretas para indicar que, exposições por níveis de contaminações ambientais de xenobióticos estrogênicos, estão afetando a saúde reprodutiva. Há necessidade da realização de mais estudos para caracterizar as tendências ao decréscimo na capacidade reprodutiva em humanos e a incidência de anormalidades em populações da vida selvagem e ainda, testar a hipótese a cerca da exposição a contaminantes ambientais e os efeitos tóxicos, antes de serem feitas conclusões com relação a possíveis causas desses efeitos adversos (Daston et al., 1997).

### **2.3.2 -Toxicocinética**

A população em geral , pode estar exposta aos pesticidas de várias maneiras. As principais vias de exposição são, por ordem de importância, as seguintes:

- Ingestão (através dos alimentos e da água)
- Inalação (através do ar e da poeira)
- Absorção cutânea (através da roupa ou por contato direto) (OMS, 1992).

Após a absorção dos organoclorados pelo organismo, sua biotransformação procede a uma velocidade excepcionalmente lenta, em parte, devido à complexidade da estrutura química e à extensão da cloração, sendo que esses substituintes são extremamente difíceis de serem removidos pelo processo enzimático disponível no tecido corpóreo (Ecobichon, 1991).



A maioria dos organoclorados são desclorados, oxidados e então conjugados. A principal rota de excreção é biliar. Muitos dos pesticidas não metabolizados, são eficientemente reabsorvidos pelo intestino (circulação enterohepática), retardando substancialmente a excreção fecal. As disposições metabólicas do DDT, DDE e  $\beta$  HCH tendem a ser lentas; são depositados na gordura corpórea e excretados no leite materno (Cheremisinoff & King, 1994). Os organoclorados são distribuídos principalmente no compartimento do tecido gorduroso e sua eliminação do corpo segue a cinética de primeira ordem (Ayotte et al., 1995).

A biotransformação do hexaclorociclohexano no homem, ocorre principalmente no fígado. Apesar dos isômeros  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  e  $\epsilon$  serem biotransformados a velocidades diferentes "in vivo" por desidrocloração, conjugação glutatiônica e hidroxilação, para produzir uma variedade de produtos fenólicos excretáveis, o isômero beta é metabolizado muito mais lentamente e é encontrado como resíduo predominante nos tecidos (Ecobichon, 1991). Os níveis mais baixos dos isômeros  $\alpha$  e  $\gamma$  em organismos e no ecossistema, devem-se à transformação em isômero  $\beta$ , que é também o mais persistente dos isômeros (Çok, 1998).

As propriedades físico-químicas do DDT e seus metabólitos permitem que esses compostos sejam rapidamente absorvidos pelos organismos. A taxa de acumulação varia com as espécies, com a duração e concentração da exposição e com as condições ambientais (WHO, 1989).

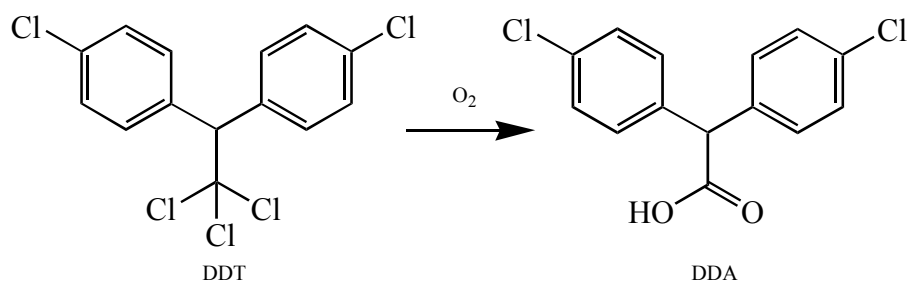
A biotransformação do DDT é lenta em mamíferos, onde o DDE (dicloro bis(clorofenil)eteno) é o principal metabólito, sendo formado tanto não enzimaticamente, como por descloração enzimática. Outros produtos de degradação são o DDD (dicloro bis(clorofenil)etano) e o DDA (ácido 4-cloro,  $\alpha$  (4 clorofenil)

benzenoacético), formados por uma série de reações de descloração redutiva e oxidação (Ecobichon, 1991). O DDA é um importante metabólito do DDT em mamíferos, incluindo o ser humano e é eliminado pela urina em pequenas quantidades e em maiores quantidades pelas fezes (Fukuto & SIMS, [19--]).

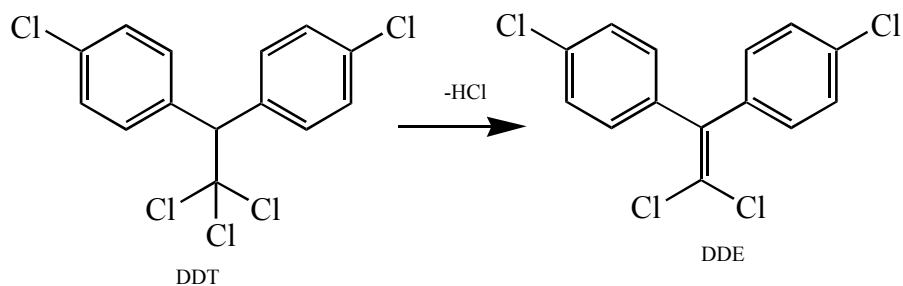
O DDE é o derivado do DDT mais persistente, portanto, representa melhor contaminações anteriores, enquanto o DDT total e DDT(p,p' DDT), representam melhor contaminações recentes ao uso desse pesticida (IARC,1991 *apud* Cocco, 1997).

Organismos diferentes, metabolizam o DDT por caminhos diferentes. Apesar do DDE ser o metabólito mais persistente, nem todos os organismos produzem DDE a partir do DDT. A rota alternativa, via TDE (DDD), permite uma eliminação mais rápida. A maior parte do DDT e seus metabólitos são estocados em tecidos ricos em lipídios ( WHO, 1989). O DDE encontrado nos seres humanos pode ser devido à ingestão de alimentos que contenham DDE, ou por biotransformação do DDT (OPAS, 1982).

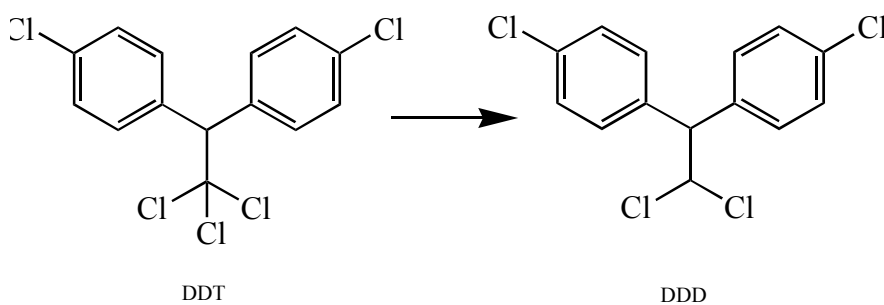
Dehalogenação oxidativa - resulta na adição de oxigênio em substituição ao halogênio, convertendo o DDT em DDA:



Dehalogenação oxidativa : DDT  $\rightarrow$  DDE:



Dehalogenação redutiva: DDT  $\rightarrow$  DDD



#### **2.4 – CONSIDERAÇÕES SOBRE A EXPOSIÇÃO DE CRIANÇAS A CONTAMINANTES**

Assim como em adultos, o potencial para exposição a substâncias químicas para crianças é através da ingestão, inalação e absorção percutânea. As exposições podem ocorrer tanto voluntariamente quanto inadvertidamente, mas sua natureza e extensão são modificadas por características fisiológicas, comportamentais, e outras, peculiares desta faixa etária. A exposição e os efeitos das substâncias químicas, podem ser

modificados por fatores que são características existentes no início da vida, incluindo o modo de nutrição, condições sociais, culturais e econômicas e ainda doenças (WHO, 1986).

A criança recém nascida pode já ter tido contato com agentes tóxicos no útero, pela rota placentária. Além disso, crianças pequenas são obrigatoriamente alimentadas com leite, portanto compostos químicos que atravessam as glândulas mamárias durante a lactação, como os pesticidas organoclorados, são potencialmente importantes em qualquer tipo de leite (WHO, 1986).

A exposição maternal a carcinógenos, pode conduzir à exposição do feto através da placenta, e a exposição da criança através do leite materno. A transferência das substâncias químicas para o feto, depende da massa molecular relativa e solubilidade da substância. Substâncias lipossolúveis passam para o feto mais rapidamente e podem ficar retidas em seus tecidos, tendo sido também encontrados em tecidos de recém-nascidos (Curley et al., 1969).

Muitos dos contaminantes ambientais, incluindo os organoclorados, mais do que iniciadores, são promotores de carcinogênese, e são persistentes, acumulando-se no organismo e sendo liberados pelo leite (WHO, 1986).

Um problema intrínseco em estudar exposição a carcinógenos no período pré-natal e pós-natal, é a capacidade para ativação metabólica nos tecidos dos organismos do feto ou recém nascido, comparada com esta capacidade para os adultos. Com relação a este fato, têm sido mostradas as variações pronunciadas entre espécies de roedores e primatas, incluindo o homem. O desenvolvimento perinatal de diferentes sistemas de órgãos, varia consideravelmente entre espécies. Todas estas variáveis, tornam a extrapolação de animais para o homem, extremamente difícil (WHO, 1986).

A exposição a substâncias químicas, durante o período pós-natal inicial, pode causar não apenas efeitos imediatos na saúde, mas também manifestações resultantes de distúrbios de maturação de sistemas de órgãos e sua resposta alterada para outras influências ambientais (WHO, 1986).

A estrutura e características funcionais das crianças, podem torná-los mais ou menos vulneráveis do que outras crianças ou adultos, quando expostos a substâncias químicas em doses similares em unidade por peso corpóreo.

As respostas de crianças a substâncias podem diferir das respostas dos adultos, em virtude de suas características biológicas. A característica destas respostas, é que o próprio processo de desenvolvimento, pode ser modificado por exposição a substâncias químicas (WHO, 1986).

As crianças não são como adultos: existem profundas diferenças entre eles. Os bebês e as crianças estão em fase de desenvolvimento e crescimento; sua taxa metabólica é mais rápida do que em adultos. Há diferenças em sua habilidade em ativar, detoxicar e excretar compostos xenobióticos. Todas estas diferenças, podem afetar a toxicidade dos pesticidas em bebês e crianças, e portanto, a toxicidade dos pesticidas é frequentemente diferente em crianças e adultos.

As crianças podem ser mais ou menos sensíveis do que os adultos, dependendo do pesticida ao qual foram expostas. Por estas razões, não é simples prever a cinética e sensibilidade a compostos químicos em bebês e crianças, a partir de dados derivados inteiramente de humanos adultos ou de testes de toxicidade em animais adultos ou adolescentes (National Research Council, 1993).

O efeito da exposição química e sua relação com a dose, pode variar com a idade, dependendo da substância, da cinética de sua absorção, da biotransformação e eliminação e, ainda, do grau de maturação dos órgãos alvo e tecidos.

Várias doenças, em adição a desordens nutricionais, podem modificar a exposição e resposta de crianças a substâncias químicas. A saúde precária, associada com a diminuição de atividade ou mobilidade da criança, poderá alterar o balanço entre exposições “indoor” em oposição às do ambiente externo. Condições que requerem a administração de agentes terapêuticos, ou dietas modificadas, alterarão, inevitavelmente, o meio intestinal, e portanto, a absorção de substâncias ingeridas.

Crianças com doenças renais crônicas ou disfunções hepáticas, terão menor habilidade em excretar, metabolizar, e, em alguns casos, acumular substâncias que tenham absorvido, que irão ficar acumuladas no corpo.

Algumas crianças têm determinadas variações genéticas, em sua habilidade em metabolizar ou responder a certas substâncias (WHO, 1986).

A expressão de efeitos químicos, pode não ser imediata, mas pode demorar até uma idade mais avançada. A saúde dos adultos, pode então ser comprometida por exposições no início da vida (WHO, 1986).

### **3 – LEITE**

---

O leite é uma mistura de moléculas biológicas complexas. As substâncias químicas presentes no leite, são dispersas de várias maneiras, o que aumenta a complexidade do leite. Fisicamente, o leite é uma solução verdadeira, uma dispersão coloidal e uma emulsão diluída. A solução verdadeira contém açúcares, vitaminas solúveis e muitos sais minerais. As proteínas e alguns fosfatos de cálcio são dispersos coloidalmente. Os glóbulos de gordura são emulsificados e suspensos na fase aquosa do leite. O leite tem um teor de gordura relativamente elevado (cerca de 3 a 4 %) e os lipídios apolares estão envolvidos por uma camada de fosfolipídios e proteínas (Picó et al., 1994).

#### **3.1 – CONTAMINAÇÃO DO LEITE POR PESTICIDAS ORGANOCLORADOS**

O leite é uma das fontes mais importantes de contaminação, pois os pesticidas organoclorados acumulam-se nos tecidos adiposos e são excretados em associação com a fração gordurosa do leite (Santos et al., 1988; Garrido et al., 1994; Cullen & Connell, 1994).

Através de estudos realizados com vacas alimentadas com quantidades conhecidas desses compostos, determinou-se a depuração e a distribuição dos mesmos. Muitos desses compostos apresentam comportamento cinético similar, em vacas leiteiras, em períodos de lactação.

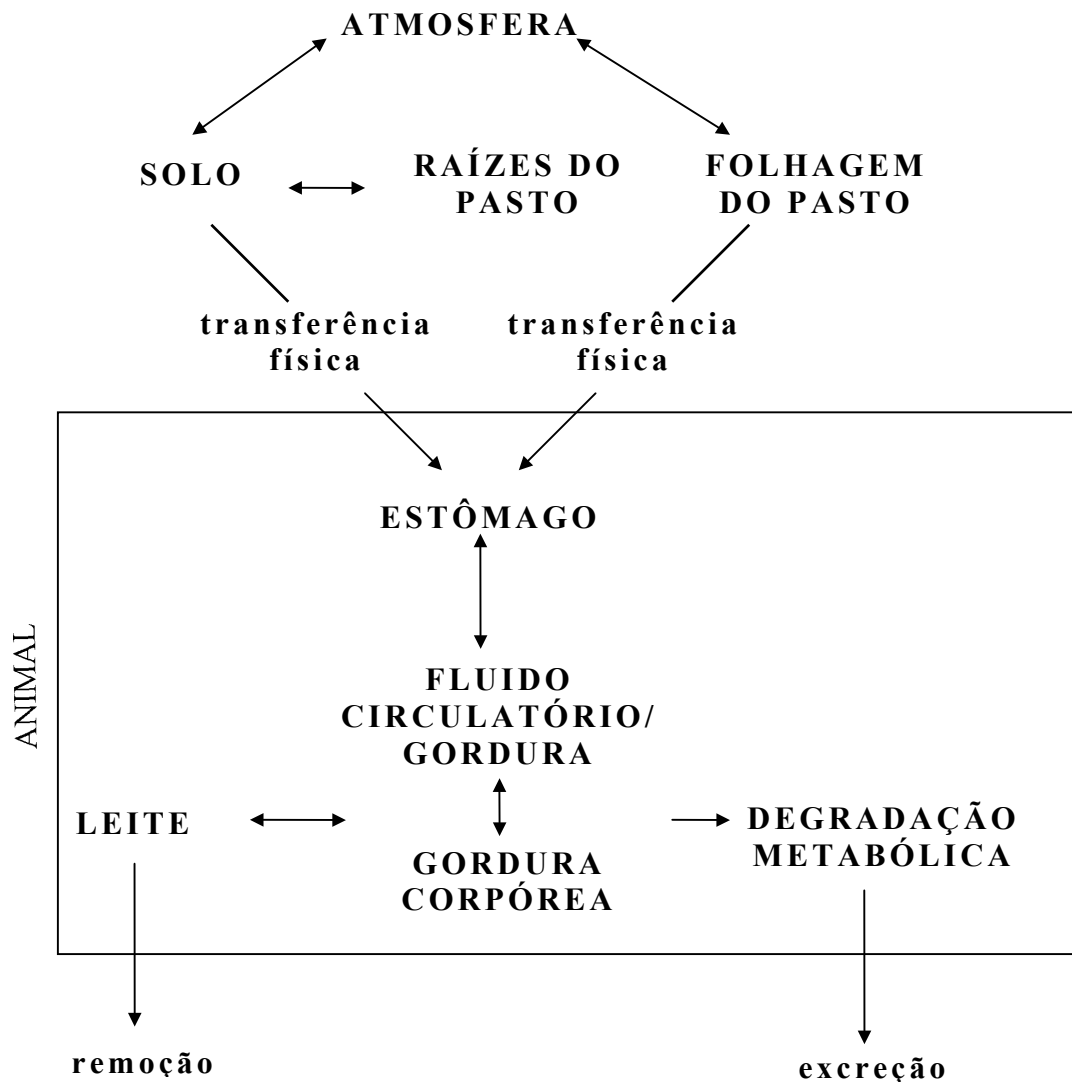
Após a detecção de resíduos de pesticidas organoclorados em tecidos de gado alimentado por pastagens, foram realizados estudos

para melhor compreensão da cinética dos compostos organoclorados do solo para as plantas e finalmente para o leite e tecido adiposo de gado de pasto. Um estudo realizado, demonstrou claramente que a contaminação do solo com DDT, foi a fonte de contaminação do leite produzido por vacas que pastaram nesse solo contaminado (Willett et al., 1993).

A **Figura 5** ilustra o modelo básico do comportamento de pesticidas organoclorados no solo - pasto - sistema de animal de pasto. No solo e pasto contaminados com esses pesticidas, ocorre uma partição entre o solo, raízes do pasto, folhagem e atmosfera.

Os pesticidas contidos no solo e folhagem do pasto são fisicamente transferidos para o animal durante a alimentação. No estômago, ocorre a partição para o fluido circulatório e então para a gordura corpórea. Os resíduos são então depositados na gordura, sendo que, uma parcela é metabolizada e excretada e outra eliminada através do leite (Cullen & Connell, 1994).





**Figura 5:** Comportamento de pesticidas no solo, pasto e sistema do animal, Cullen & Connell, 1994.

Os resíduos não intencionais no leite são especialmente preocupantes, devido à importância nutricional desse produto. O leite é consumido em quantidades relativamente grandes por populações vulneráveis, como crianças e gestantes sendo, portanto, essencial o monitoramento da presença destes resíduos de pesticidas nesse alimento (Toews & Mc Ewen, 1994).

O leite humano está no topo da cadeia alimentar e é um bom indicador de contaminação ambiental por organoclorados, podendo também ser utilizado para se determinar as quantidades ingeridas pelas crianças, que sem dúvida, terão outras fontes de contaminação durante suas vidas ( Jensen, 1983; Sant'Ana et al., 1989). A presença de organoclorados no leite humano mostra a exposição contínua do meio ambiente, através de contato direto, ou através da dieta alimentar (Kinyamu, 1998).

O leite materno é adequado para o monitoramento de organoclorados devido ao seu teor de gordura razoavelmente elevado (1 –5%), estando prontamente disponível de uma seção significativa da população feminina sem envolver técnicas de amostragem invasiva, mas a desvantagem, é que só permite avaliar um grupo da população feminina com idade limitada (Monheit & Luke, 1990).

O controle de níveis de compostos organoclorados no leite humano é de particular importância, pois bebês e crianças pequenas encontram-se na categoria de alto risco, devido ao fato de não terem ainda desenvolvido completamente mecanismos de detoxicação pois seus órgãos estão em processo de crescimento rápido (Czaja, 1997a).

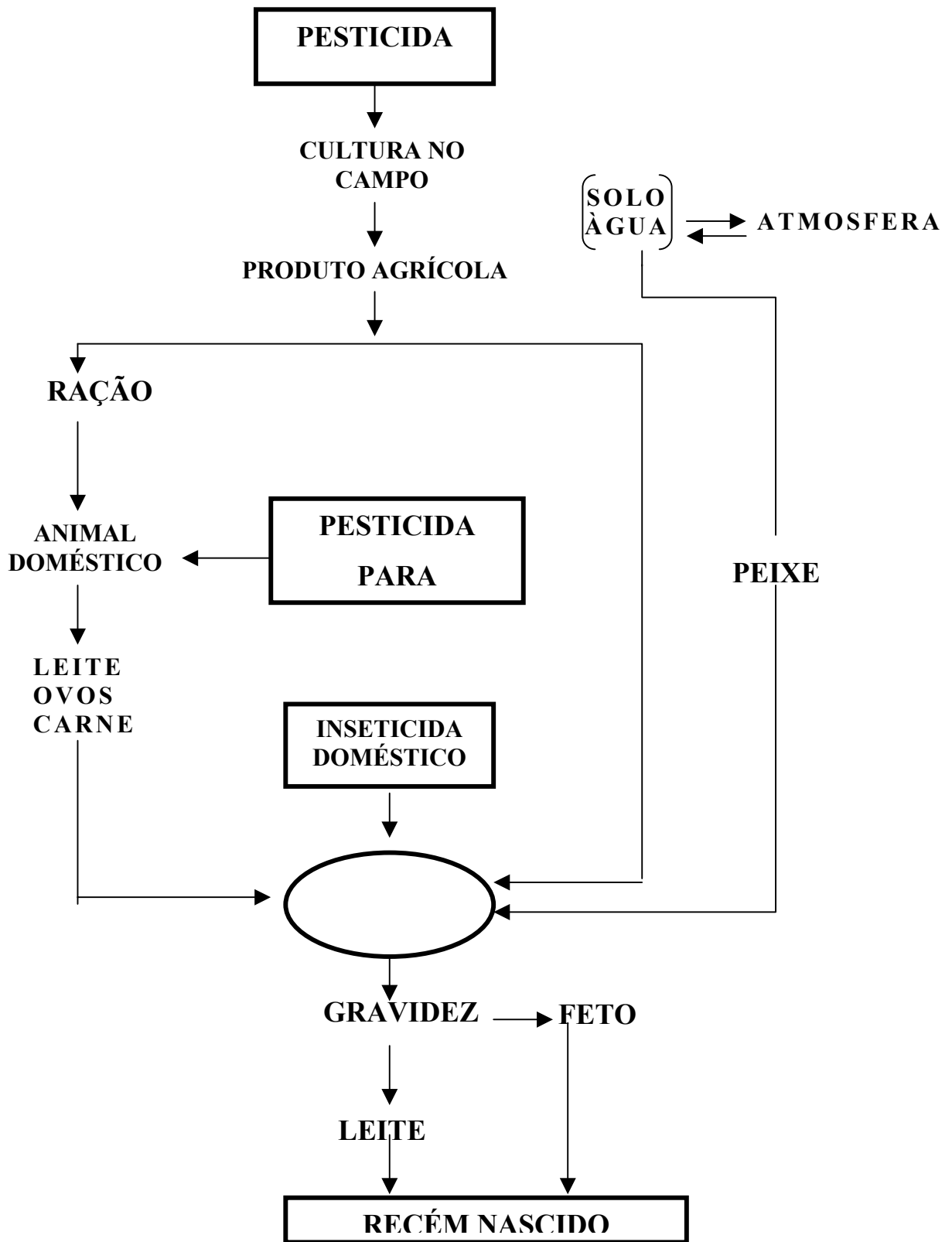
Em 1951, Lang et al.(*apud* OMS,1992), observou pela primeira vez a contaminação do leite materno com importantes quantidades de DDT proveniente do meio ambiente. Desde então, tem sido realizadas numerosas investigações sobre a contaminação de leite humano em vários países (OMS, 1992). Muitos desses estudos têm sido realizados em países industrializados e apenas poucas investigações em países em desenvolvimento, sendo isto uma preocupação, pois nos países em desenvolvimento, os

organoclorados foram, ou vêm sendo ainda utilizados (Kinyamu et al., 1998).

As crianças, no início de suas vidas, recebem apenas uma fonte de alimento, seja leite materno, ou “leite de mamadeira”. A presença de contaminantes no leite materno ou em outro tipo de leite, acarretará maiores implicações para crianças nesta faixa etária, do que para crianças maiores ou adultos, que recebem uma alimentação mista, onde o leite é apenas uma parte da alimentação diária. É importante ressaltar, que estas crianças recebem maior quantidade de líquido por unidade de peso corpóreo do que crianças maiores ou adultos. Uma criança com alimentação exclusiva de leite, recebe de líquido diário, cerca de um sétimo do seu peso, o que corresponde a dez litros de líquido recebido por um adulto de setenta quilos ( WHO, 1986).

Como o leite materno é consumido em quantidades relativamente elevadas, e representa a principal fonte de transferência de resíduos de pesticidas, em adição à transferência placentária, para as crianças em fase de lactação, a presença de contaminantes neste tipo de alimento essencial, representa grande preocupação.

A rota de transferência dos resíduos de pesticidas, para as crianças recém nascidas, pode ser bem entendida, através do esquema proposto por Yamaguish et al., 1972 (*apud* Matuo et al., 1992), mostrado na **figura 6**.



**Figura 6:** Rota de transferência dos resíduos de pesticidas, Yamaguish et al., 1972 *apud* Matuo et al.,1992

Vários exemplos da presença de pesticidas organoclorados em leite de vaca e humano são apresentados nas **Tabelas 3 e 4**. Pode-se observar que as concentrações de resíduos encontradas, diferem entre os países e com o tempo para ambos tipos de leite.

O conhecimento das concentrações de resíduos de pesticidas nos alimentos, possibilita que sejam calculados os valores de ingestão diária estimada destes resíduos (IDE em  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{peso corpóreo}/\text{dia}$ ) e então, compará-los com os valores de IDA, estabelecidos pela FAO/OMS, citados no Capítulo 2, avaliando-se o percentual da IDA atingida pelo consumo deste alimento. Na **Tabela 5**, são apresentados valores de IDE, encontrados para leite de vaca e humano, em alguns países.

**Tabela 5:** Valores de IDE, em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia.

Substância	País					
	Espanha <sup>a1</sup>	México <sup>2</sup>	Austrália <sup>3</sup>	Egito <sup>4</sup>	Turquia <sup>5</sup>	Brasil <sup>6</sup>
$\alpha$ HCH						
$\beta$ HCH						
$\alpha+\beta$ HCH				1,94	3,49 <sup>c</sup>	
$\gamma$ HCH	1,05		0,325	0,09		0,112
$\Sigma$ DDT	10,1	14 <sup>a</sup> 43 <sup>b</sup>	4,548	6,90	12,18	18,5 <sup>E</sup> 3,0 <sup>NE</sup>

a - área urbana

b - área rural

c -  $\Sigma$  isômeros  $\alpha+\beta+\gamma$

E - mães expostas a DDT

NE - mães não expostas a DDT

1 - Martinez et al., 1997

2 - Pardio et al., 1998

3 - Quinsey et al., 1995

4 - Dogheim et al., 1991

5 - Üstünbas, 1992

6 - Matuo et al., 1992

Os dados da Espanha, são referentes a amostras de leite de vaca; os dos outros países são referentes a amostras de leite materno.

**Tabela 3:** Relação das concentrações de pesticidas organoclorados em leite de vaca, encontrados em alguns países.

País	Ano	$\alpha$ HCH	$\beta$ HCH	$\gamma$ HCH	$\Sigma$ HCH	DDE <sub>c</sub>	DDD <sub>c</sub>	DDT <sub>c</sub>	$\Sigma$ DDT	Referência
Brasil b	1979				0,19					1
Brasil b	1980				0,24				0,05	1
Brasil b	1981				0,16				0,05	1
Canadá b	1986									2
Espanha b	1994	0,043	0,016	0,012		0,024	0,024	0,006	0,056	4
Espanha a	1996	0,0028		0,0022		0,0050	0,0055	0,0004	0,056	3
EUA a	1992					0,04				5
EUA a	1993					0,010				6
Grécia b	1983	0,011	0,006	0,011		0,009		0,030		7
Hong Kong b	1993				0,11	0,14	0,17	0,04		8
Hong Kong b	1994				0,11	0,25	0,16	0,05		8
Hong Kong b	1995				0,10	0,10	0,08	0		8
Índia b	1992			0,160	16				0,110	9
Israel b	1976			0,265		0,420	0,346	0,215		10
Israel b	1983			0,027		0,056	0,033	0,015		10
Israel b	1986			0,013		0,055	0,032	0		10

a – concentração em mg.kg<sup>-1</sup> de leite; b – concentração em mg.kg<sup>-1</sup> de gordura; c – concentrações correspondentes à soma dos isômeros o,p' e p,p'

1 – Lara et al., 1983

2 – Frank & Braun, 1989 *apud* Hernández, 1994

3 – Losada et al., 1996

4 – Garrido et al., 1994 a

5 – FDA, 1993

6 – FDA, 1994

7 – Fytianos et al., 1985 *apud* Hernández, 1994

8 – Wong & Lee, 1997

9 – Kannan et al., 1992

10 – Pines et al., 1988 *apud* Hernández, 1994

**Tabela 4:** Relação das concentrações de pesticidas organoclorados em leite materno, encontrados em alguns países.

País	Ano	$\alpha$ HCH	$\beta$ HCH	$\gamma$ HCH	$\Sigma$ HCH	DDE <sub>c</sub>	DDD <sub>c</sub>	DDT <sub>c</sub>	$\Sigma$ DDT	Referência
Austrália b	1994	0,067	0,680	0,101		0,960		0,225		1
Austrália a	1986			0,002		0,034		0,012	0,046	2
Brasil a	1989	<0,001	0,011	0,002	0,014	0,011		0,021	0,032	3
Brasil a	1992					0,030 <sup>E</sup>		0,119 <sup>E</sup>		4
Brasil a	1992					0,019 <sup>NE</sup>		0,025 <sup>NE</sup>		4
Brasil b	1994	0,04	0,90	0,02	0,96	2,53	0,03	0,12	2,98	5
Brasil a	1994				0,018				0,087	5
Canadá a	1987					0,029		0,002		6
Egito a	1993					0,021		0,003		7
Espanha a	1991					0,019		<0,001		8
França a	1991					0,021		<0,001		9
India a	1991	0,16	0,47	0,012		1,22	0,32	2,20	3,74	10
India a	1997	0,08	0,24	0,06						11
India b	1997	1,83	8,83	2,31						11

Continua...

**Tabela 4:** Relação das concentrações de pesticidas organoclorados em leite materno, encontrados em alguns países.

País	Ano	$\alpha$ HCH	$\beta$ HCH	$\gamma$ HCH	$\Sigma$ HCH	DDE <sub>c</sub>	DDD <sub>c</sub>	DDT <sub>c</sub>	$\Sigma$ DDT	Referência
Austrália b	1994	0,067	0,680	0,101		0,960		0,225		1
Austrália a	1986			0,002		0,034		0,012	0,046	2
Brasil a	1989	<0,001	0,011	0,002	0,014	0,011		0,021	0,032	3
Brasil a	1992					0,030 <sup>E</sup>		0,119 <sup>E</sup>		4
Brasil a	1992					0,019 <sup>NE</sup>		0,025 <sup>NE</sup>		4
Brasil b	1994	0,04	0,90	0,02	0,96	2,53	0,03	0,12	2,98	5
Brasil a	1994				0,018				0,087	5
Canadá a	1987					0,029		0,002		6
Egito a	1993					0,021		0,003		7
Espanha a	1991					0,019		<0,001		8
França a	1991					0,021		<0,001		9
India a	1991	0,16	0,47	0,012		1,22	0,32	2,20	3,74	10
India a	1997	0,08	0,24	0,06						11
India b	1997	1,83	8,83	2,31						11

Continua...



**Continuação da tabela 4:** Relação das concentrações de pesticidas organoclorados em leite materno, encontrados em alguns países.

País	Ano	$\alpha$ HCH	$\beta$ HCH	$\gamma$ HCH	$\Sigma$ HCH	DDE <sub>c</sub>	DDD <sub>c</sub>	DDT <sub>c</sub>	$\Sigma$ DDT	Referência
Israel a	1985					0,079		0,008		12
Itália a	1985					0,001		0		13
Itália b	1987				0,163	2,200		0,170		14
Kenia b	1994					2,95		3,73	6,99	15
México b	1998					5,302	0,088	2,45	7,84	16
Nigéria b	1994					1,33		2,37	3,83	15
Polônia a	1997	0,0004	0,0014	0,0005		0,0254	0,0012	0,0055		17
Reino Unidoa	1991		0,002	<0,001		0,009		0,001		18
Reino Unidob	1991		0,08	<0,02		0,40		0,02		18
Turquia b	1994	0,096	0,522	0,156		2,389		0,410		19
Turquia a	1995					0,020		0,001		20
Turquia b	1995	0,060			0,380	2,013		0,1	2,357	20
Zimbabwe b	1994					4,49		1,33	6,50	15
Zimbabwe b	1994					13,60		9,07	25,26	15

(Kariba)

a – concentração em mg.kg<sup>-1</sup> de leite; b – concentração em mg.kg<sup>-1</sup> de gordura; c – concentrações correspondentes à soma dos isômeros o,p' e p,p'

1 – Quinsey et al., 1995

2 – Monheit & Luk, 1990

3 – Sant'Ana & Vassilieff, 1989

4 – Matuo et al., 1992

5 – Beretta & Dick, 1994

6 – Dewailly et al., 1989 *apud* Çok, 1997

7 – Saleh et al., 1996 *apud* Çok, 1997

8 – Hernández et al., 1993

9 – Bordet et al., 1993 *apud* Çok, 1997

10 – Nair & Pillai, 1992

11 – Banerjee et al., 1997

12 – Weisenberg et al., 1985 *apud* Çok, 1997

13 – Dommorco et al., 1987 *apud* Çok, 1997

14 – Larsen et al., 1994

15 – Chikuni et al., 1997

16 – Pardio et al., 1998

17 – Czaja et al., 1997a

18 – Dwarka et al., 1995

19 – Üstünbas et al., 1994

20 – Çok et al., 1997

#### 4 – LEGISLAÇÃO

---

Os pesticidas organoclorados foram banidos, ou severamente restringidos na maioria dos países desenvolvidos, no início da década de 1970, após entenderem seus efeitos tóxicos a longo prazo (Çok, 1997).

A proibição ou restrição do uso de pesticidas organoclorados em alguns países, estão relacionados a seguir:

EGITO – sem uso de organoclorados desde 1970 ( Dogheim, 1991);

ESTADOS UNIDOS – cancelou todos os usos de DDT em 1973 (Hernández et al.,1994);

SUÉCIA – cancelou todos os usos do DDT em 1973(Hernández et al.,1994);

ESPANHA – proibição para uso de organoclorados (excluindo  $\gamma$  HCH) em 1977 (Toews & McEwen, 1994);

BRASIL – Em 1984, o Ministério da Agricultura, através da Portaria nº29/84-SDSV/MA, cancelou todos os registros de DDT (Brasil, 1984).

Em março de 1985, através da Portaria nº10-SNVS/MS (SNVS, 1985),é atribuída à DINAL (Divisão Nacional de Alimentos), a compilação da Relação de substâncias com ação tóxica sobre animais ou plantas, cujo registro pode ser autorizado no Brasil, em atividades agropecuárias e em produtos domissanitários. Nesta

Relação, o BHC e o DDT não têm autorização para o emprego agropecuário e domissanitário, sendo porém permitido o seu uso sob exclusiva responsabilidade da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM), do Ministério da Saúde.

Em setembro de 1985, o Ministério da Agricultura, através da Portaria nº329/85-MA (Brasil, 1985), proibiu em todo território nacional a comercialização, o uso e a distribuição de produtos agrotóxicos organoclorados destinados à agropecuária, incluídos nesta proibição, dentre outros, o BHC, Lindano e DDT. Constituindo exceção à proibição, o uso dos referidos produtos, quando aplicados pelos órgãos públicos competentes, em campanhas de saúde pública de combate a vetores de agentes etiológicos de moléstias.

As decisões toxicológicas referentes aos resíduos de pesticidas em alimentos são tomadas pelo grupo de “experts” em resíduos de pesticidas e meio ambiente (“Joint Meeting of the Food and Agriculture Organization” (FAO)) e pelo grupo de “experts” em resíduos de pesticidas da Organização Mundial de Saúde (OMS), que são conhecidos como Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR), que recomenda a ingestão diária aceitável (IDA) e limites máximos de resíduos (LMR).

O Comitê do Codex em Resíduos de Pesticidas tem a responsabilidade de propor limites máximos de resíduos em alimentos específicos e submetê-los para considerações do Codex Alimentarius.

O programa do Codex Alimentarius tem o objetivo de proteger a saúde do consumidor e favorecer o comércio internacional de produtos alimentícios de alta qualidade (MC Collister, 1982; SIMUVIMA, 1997).

#### 4.1- LEGISLAÇÃO ATUAL

Os limites máximos de resíduos, permitidos para leite por alguns Órgãos, estão relacionados na **Tabela 6**.

**Tabela 6:** Limites máximos de resíduos para leite- (LMR ) em  $\text{mg.kg}^{-1}$ .

<b>Pesticida</b>	<b>SNVS- 1985 (<math>\text{mg.kg}^{-1}</math> de gordura)</b>	<b>Codex Alimentarius Commission-1996 (<math>\text{mg.kg}^{-1}</math> de leite total)</b>	<b>Europäischen Gemeinschaften -1993 (<math>\text{mg.kg}^{-1}</math> de leite total)</b>
<b>HCH</b>	NE	NE	NE
<b>Lindano</b>	0,1	0,01	0,008
<b><math>\alpha</math> HCH</b>	NE	NE	0,004
<b><math>\beta</math> HCH</b>	NE	NE	0,003
<b>DDT</b>	NE	0,05	0,04

NE – limites não estabelecido

## 5 – MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 5.1 – AMOSTRAGEM

#### 5.1.1– Leite de vaca

Embora o trabalho de Oliveira,1994, tenha reportado a existência de cerca de 2000 cabeças de gado na Cidade dos Meninos, no momento da coleta das amostras para o presente trabalho, o rebanho de gado leiteiro diminuiu sensivelmente, uma vez que uma grande parte do gado foi vendido ou abatido.

Na área da Cidade dos Meninos existem atualmente 6 pequenos produtores de leite que comercializam seus produtos apenas internamente, segundo informações dos próprios produtores. As produções de leite de cada produtor, estão relacionadas na **Tabela 7**.

**Tabela 7** - Produção estimada de leite dos produtores da Cidade dos Meninos (informação dos próprios produtores).

<b>Produtor</b>	<b>Produção de leite</b>
Produtor 1:	20 litros/dia
Produtor 2:	2 litros/dia (a)
Produtor 3:	70 litros/dia
Produtor 4:	15 litros/dia
Produtor 5:	- (b)
Produtor 6:	- (c)

a Coleta apenas para consumo próprio

b Sem produção de leite à época da coleta

c Estrada sem condições de acesso para a coleta de dados e amostra

Dos 6 produtores da Cidade dos Meninos, apenas 5 estavam com produção de leite no período de coleta das amostras, sendo possível coletar amostras de 4 destes produtores representando, portanto, 83% do leite produzido, à época.

Foram coletadas uma amostra de 500 ml de cada produtor. Cada amostra sendo representativa da produção, uma vez que, foram coletadas dos latões com a mistura do leite, já prontos para a comercialização (Codex Alimentarius Commission, 1996)

Coletou-se um número igual de amostras de produtores de leite de regiões distantes da Cidade dos Meninos, para a comparação com os resultados obtidos com as amostras desta área. Obteve-se, assim, um total de 4 pares de amostras que estão relacionados na **Tabela 8**.

**Tabela 8** - Localidades de produtores de leite afastados da Cidade dos Meninos.

<b>Produtor</b>	<b>Localidade</b>
Produtor 5	Curral Novo-Antonio Carlos/MG
Produtor 6	Pendotiba –Niteroi/RJ
Produtor 7	Maricá /RJ
Produtor 8	Itaipuassu/RJ

### **5.1.2 – Leite materno**

Na Cidade dos Meninos foi possível coletar amostras de leite materno de 7 doadoras voluntárias. As coleta foram feitas sem uso de sugador e diretamente nos frascos de coleta. Não foi possível

coletar amostras de mais doadoras, devido à indisponibilidade de algumas mães e à dificuldade que algumas mães encontraram em retirar o leite manualmente, em virtude do bebê ter acabado de mamar, quando seria realizada a coleta. Estes fatos somaram-se à dificuldade de acesso à área, uma vez que o local é distante e que visitas freqüentes, atrasariam a conclusão deste trabalho.

Amostras de leite materno de doadoras voluntárias, que residem afastadas da Cidade dos Meninos, também foram analisadas. Obteve-se um total de 7 pares de amostras de leite materno, relacionados na **Tabela 9**.

**Tabela 9** – Local de residências das doadoras de leite materno

Nº da amostra	Local de residência*
<b>Amostras 1 a 7</b>	Cidade dos Meninos/Duque de Caxias/RJ
Amostra 8	Padre Miguel
Amostra 9	Inhaúma
Amostra 10	Realengo
Amostra 11	Jacarepaguá
Amostra 12	Ilha do Governador
Amostra 13	Engenho Novo
Amostra 14	Manguinhos

- As localidades citadas para as amostras 8 a 14, são situadas no Município do Rio de Janeiro/RJ.

O volume das amostras coletadas, variou entre 10ml e 200ml.

Durante a coleta das amostras foram aplicados questionários e obtidas informações sobre idade das mães, período de lactação, número de gestações seguidas de amamentação, peso da criança e

tempo de residência na Cidade dos Meninos, quando aplicado. O modelo do questionário encontra-se no **Anexo 1**.

### **5.1.3 – Cuidados com a coleta e armazenagem das amostras**

Todas as amostras foram coletadas em recipientes de vidro, com tampas de vidro esmerilhadas, ambos previamente lavados com os cuidados necessários para se evitar qualquer contaminação que pudesse interferir com o resultado da análise, conforme descrito em **5.5**.

Após a coleta, as amostras foram mantidas sob refrigeração, até a chegada ao laboratório, onde foram acondicionadas em freezer a -20°C, até o momento da execução das análises.

## **5.2 – REAGENTES E SOLUÇÕES**

- Água destilada purificada (500 ml de água, extraídos com 1 porção de 200ml de n-hexano e em seguida, com 1 porção de 100 ml de n-hexano).
- Metanol para análises de resíduos , referência 6011- Merck.
- N-Hexano para análise de resíduos – OmniSolv, referência HX0296 -EM
- Isooctano para análise de resíduos – SupraSolv, Merck.
- Colunas para extração em fase sólida, Sep Pak® Vac 6cc(1g) C18 , referência WAT036905 - Waters



- Padrões de pesticidas, fornecidos por Dr. Ehrenstorfer – Federal Republic of Germany (Todos com grau de pureza conhecido).
- Extran alcalino, Merck- para a lavagem do material.
- Acetona para análise de resíduos, OmniSolv, Merck.
- Benzeno para análise de resíduos, Merck (para a solubilização do padrão de beta HCH).
- Soluções padrão individuais de 100 µg/ml: cada padrão foi pesado em balança analítica, com precisão de 0,01 mg, e a massa corrigida com relação à pureza do reagente. A solubilização foi feita com isooctano, em balão volumétrico com tampa de vidro esmerilhada.

Para o preparo da solução estoque de  $\beta$  HCH, o padrão foi inicialmente dissolvido em 1 ml de benzeno, para facilitar a solubilização.

- Soluções intermediárias de 1 µg/ml: foram preparadas diluindo-se as soluções de 100 µg/ml 100 vezes com isooctano.
- Soluções padrão com concentrações de: 0,00025; 0,0005; 0,001; 0,0025; 0,005; 0,01; 0,05; 0,08; 0,1 e 0,2 µg/ml → foram preparadas misturas contendo todos os organoclorados de interesse concentrações citadas acima, utilizando-se também isooctano como solvente de diluição.

### **5.3 – VIDRARIA**

- Pipetas volumétricas, capacidades 1, 2, 3, 4, 5, e 10 ml
- Balões volumétricos, capacidades 2, 5, 10, 25, 50 e 100ml
- Navetas de vidro para pesagem dos padrões
- Provetas graduadas, capacidade 10 ml
- Erlenmeyers, com tampa de vidro esmerilhada, capacidade 25ml

Toda a vidraria foi lavada segundo os procedimentos de lavagem apresentados em 5.5.

### **5.4 – EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES OPERACIONAIS**

- Balança analítica com precisão de 0,01mg
- Ultrassom
- Conjunto para extração em fase sólida, fornecido pela Waters, referência WAT200607
- Módulo para evaporação, com aquecimento e corrente de nitrogênio.
- Cromatógrafo a gás, com detector de captura de elétrons de Ni<sup>63</sup>, HP 6890 equipado com a Estação de Trabalho, “ChemStation” HP, versão Asterix A5-02
- Colunas capilares  
**Coluna A** - 5% Fenil Metil Silicone (Quadrex), 50metros de comprimento; 0,25mm de diâmetro interno; 0,25µm de espessura de filme.

**Coluna B** - 14% Cianopropil fenil dimetil siloxano (BP10-SGE), 25m; 0,22mm de diâmetro interno; 0,25µm de espessura de filme.

**Condições cromatográficas:**

para a coluna A:

<b>Injetor</b>	<b>Detector</b>
Modo: sem divisão de fluxo	Temperatura: 300°C
Temperatura: 230°C	Fluxo de purga do anodo: 6ml/min
Pressão: 25,45 psi	Fluxo constante coluna + “make up”
Fluxo de purga: 60ml/minutos	Fluxo do “make up”: 60 ml/min
Tempo de purga: 0,75 minutos	
Fluxo total: 63,2 ml/minutos	

Gás de arraste e “make up”: Nitrogênio Ultra Puro

Fluxo inicial na coluna: 1,5 ml/minutos

Modo: pressão constante

Pressão: 25,45 psi

Programação de temperatura para a **coluna A**:

Temperatura inicial: 90°C

Tempo inicial: 0.00 minutos

<b>Rampa</b>	<b>Velocidade (°C/min)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo final (minutos)</b>
1	15	180	6
2	4	220	2
3	5	275	3
4	0		

para a coluna **B**:

<b>Injetor</b>	<b>Detector</b>
Modo: sem divisão de fluxo	Temperatura: 300°C
Temperatura: 230°C	Fluxo de purga do anôdo: 6ml/min
Pressão: 20,26 psi	Fluxo constante coluna + “make up”
Fluxo de purga: 60ml/minutos	Fluxo do “make up”: 60 ml/min
Tempo de purga: 0,75 minutos	
Fluxo total: 63,8 ml/minutos	

Gás de arraste e “make up”: Nitrogênio Ultra Puro

Fluxo inicial na coluna: 1,5 ml/minutos

Modo: pressão constante

Pressão: 20,26 psi

Programação de temperatura para a **coluna B**:

Temperatura inicial: 90°C

Tempo inicial: 0.80 minutos

<b>Rampa</b>	<b>Velocidade (°C/min)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo final (minutos)</b>
1	30	140	2
2	5	280	
3	0		

### **5.5 – LAVAGEM DO MATERIAL**

Todo material utilizado em análise de resíduos de pesticidas deve ser lavado, seguindo procedimentos que eliminem as substâncias que possam vir a interferir com os resultados das análises.

Os materiais a serem utilizados foram inicialmente lavados com água corrente e imersos em solução de Extran alcalino, por um período mínimo de 12 horas. Foram em seguida lavados abundantemente com água corrente e água destilada. Finalmente foram rinsados com acetona para análise de resíduos.

Todos os materiais utilizados nas análises foram descontaminados imediatamente após o uso, com acetona, antes do procedimento de lavagem descrito anteriormente. Os materiais que tiveram contato com padrões foram descontaminados com n-hexano.

Todo material depois de lavado e seco, foi protegido com papel alumínio e guardado em locais fechados.

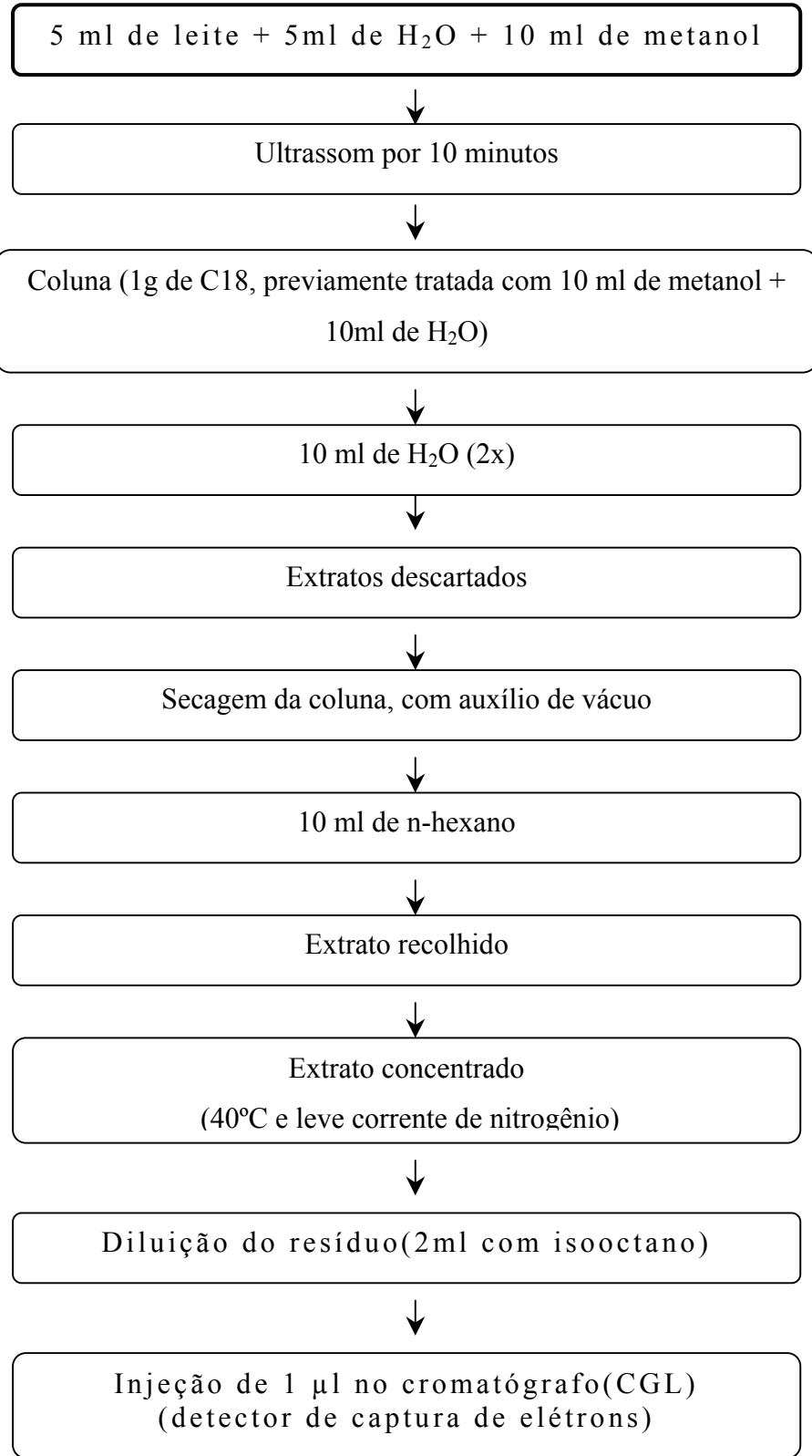
## **5.6 - METODOLOGIA ANALÍTICA**

As análises das amostras de leite foram realizadas no Laboratório de Alimentos e Contaminantes do Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz.

O procedimento analítico para a determinação dos organoclorados nas amostras de leite foi o descrito por Picó et al., 1995.

O método baseia-se na extração dos organoclorados do leite, utilizando-se a técnica de extração em fase sólida (EFS) e suas determinações por cromatografia gás-líquido de alta resolução, com detector de captura de elétrons, cujo esquema está apresentado na **Figura 7**.

À uma alíquota de 5 ml de leite, foram adicionados 5 ml de água purificada e 5 ml de metanol e então misturados com ultrassom por 10 minutos. A mistura obtida foi passada, com auxílio de vácuo, através de uma coluna de fase sólida, previamente lavada com 3 porções de n-hexano e seca com vácuo por 30 minutos. Antes da passagem da amostra, tratou-se a coluna com 10 ml de metanol e 10 ml de água purificada. Após a passagem da amostra a coluna foi lavada com 2 porções de 10 ml de água purificada e as lavagens descartadas. Secou-se a coluna por 1 hora com vácuo. O resíduo adsorvido foi então eluído com 10 ml de n-hexano e concentrado quase à secura, sob leve corrente de nitrogênio a 40°C. Diluiu-se o resíduo concentrado para 2 ml com isooctano e 1 µl dessa solução injetado no cromatógrafo a gás, com detector de captura de elétrons.



**Figura 7:** Esquema do procedimento analítico para determinação de organoclorados em leite (Picó et al., 1995).

As análises de resíduos de pesticidas em alimentos gordurosos requerem técnicas de preparo das amostras que separem os pesticidas dos lipídios, que mesmo em pequenas quantidades, podem causar contaminação da coluna cromatográfica e do detector (Gillespie et al.,1995). Vários mecanismos podem ser utilizados para romper a membrana dos glóbulos de gordura, antes da extração com fase sólida, tais como: rompimento mecânico por dispersão em fase sólida (Stijve, 1974; Schenck & Wagner, 1995), mistura com solventes apolares e ácidos (Susuki et al., 1979) ou solventes polares orgânicos (Picó et al., 1995). O uso de metanol, permite uma recuperação maior dos resíduos, com mínima extração de substâncias gordurosas (Redondo et al.,1991; Picó et al.,1994).

Os métodos tradicionais, envolvem a remoção da gordura por partição com solvente e cromatografia de coluna. Esses procedimentos consomem tempo e são caros, devido ao custo elevado dos solventes e adsorventes (Redondo et al.,1991). A extração em fase sólida reduz o custo das análises, uma vez que, as quantidades de solventes e fase sólida, são menores (Mañes et al.,1993; Picó et al.,1994; Supelco,1997). Os métodos que geram menos “lixo” de solventes contribuem para proteção do meio ambiente (Lott & Barker, 1993).



## **5.7 - VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA**

Em todos os processos analíticos, a qualidade da informação analítica deve ser confiável, com precisão e exatidão adequadas aos objetivos do estudo.

A validação de um método é o processo de assegurar que uma metodologia analítica é aceitável para o propósito ao qual se destina, ou seja, validar significa estabelecer a qualidade de um procedimento analítico, determinando de modo claro e objetivo os parâmetros dos mesmos (Green, 1996).

Todas as medidas analíticas quantitativas são sujeitas a vários erros e é essencial que sejam realizados experimentos que permitam a estimativa desses erros (Miller & Miller, 1988).

Os resultados de análises de resíduos são afetados por fatores associados aos procedimentos de análise, tais como, extração, purificação, concentração, etc, que podem tornar a recuperação variável. (DFG, 1992). Os erros, em análises de traços, são também atribuídos à dificuldade em identificar uma resposta relativamente baixa, acima de um ruído alto e variável. Notou-se que, erros totais de 50% ou mais, são comuns, mesmo para procedimentos validados, executados por analistas experientes. (National Research Council, 1993).

### **5.7.1 – Parâmetros de performance analítica**

A performance de um método analítico é caracterizada pela sua especificidade, linearidade, exatidão e precisão.

Para o estudo da especificidade foi feita a identificação dos tempos de retenção e determinação das retenções relativas para cada substância de interesse referentes a substância ALDRIN.

Primeiramente foram injetadas as soluções padrão individuais de todos os pesticidas e posteriormente, a mistura destes padrões, para identificação destes compostos na mistura. As retenções relativas foram determinadas em duas colunas com polaridades diferentes: coluna A, 5% Fenil Metil Silicone (Quadrex) e coluna B, 14% cianopropil fenil dimetil siloxano (BP10-SGE). As condições cromatográficas usadas para cada coluna estão descritas em 5.4.

Em seguida verificou-se a repetibilidade dos tempos de retenção dos compostos, através das variações observadas para uma série de 5 injeções consecutivas da mistura de padrões, utilizando-se o sistema de injeção automática. Os resultados deste estudo são apresentados na **Tabelas 11 e 12 e Figuras 8 e 9**, no Capítulo 6.

Foi necessário conhecer-se os perfis cromatográficos dos brancos de reagentes e de matriz, para que se pudesse verificar se haviam picos com o mesmo tempo de retenção das substâncias de interesse e que pudessem interferir na análise. **Figura 14**, Capítulo 6.

As colunas tradicionais para a separação em fase sólida contêm pequenas quantidades de ftalatos, antimicrobianos, alcanos, alquenos, plastificantes e antioxidantes, que produzem interferência no branco e conseqüentemente interferem com as quantificações dos pesticidas em níveis muito baixos ( Junk et al., 1988; Tomkins & Jenkins, 1992). Em vista do exposto, foi feita a lavagem prévia da coluna com n-hexano, para a redução dos interferentes.

A comparação entre os brancos de reagentes com utilização de colunas sem lavagem prévia e o branco de reagentes com a utilização de colunas com lavagem prévia, pode ser observada através da **Figura 10**, no capítulo seguinte.

Foi realizado um estudo da matriz de leite, com o objetivo de verificar a presença de substâncias que não aquelas de interesse neste estudo e que pudessem vir a interferir no procedimento analítico. A comparação entre a matriz e a matriz fortificada é apresentada na **Figura 14**, Capítulo 6.

A relação entre a resposta do detector, medida como área, e a concentração de cada substância, foi estudada pela análise de regressão, utilizando o método dos mínimos quadrados, para verificar se a mesma era linear.

Para este estudo utilizou-se soluções contendo misturas de padrões em 11 níveis diferentes de concentração ( $0,00025$  a  $0,2\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), sendo cada solução injetada 3 vezes. Os resultados desta avaliação são apresentados no capítulo 6, através da **Tabela 13 e figura 11**.

A exatidão de um método é determinada através da concordância entre o valor real da substância de interesse na amostra e o valor estimado pelo processo analítico, referindo-se portanto, à habilidade do método em medir o valor real (Chasin et al, 1994; Conacher, 1990).

A exatidão foi avaliada através da recuperação das substâncias que se deseja analisar adicionadas à matriz de interesse, em uma faixa de concentração apropriada, ou seja, na faixa de linearidade do detector ( Conacher, 1990).

Para a construção da curva de recuperação do método, foram realizadas fortificações, por adição de quantidades conhecidas dos pesticidas de interesse, em uma matriz de leite de vaca, livre de interferentes (Amostra de leite em pó, utilizada por GTZ (Gesellschaft fuer Technische Zusammenarbeit), como branco de matriz de leite, em estudos colaborativos).

O procedimento de preparo das soluções para a construção das curvas é descrito a seguir:

- a) Preparo do leite para ser utilizado como matriz: 1g do leite em pó (GTZ) foi reconstituído com 9 ml de água. Uma alíquota de 5 ml deste, foi então, tratada conforme procedimento analítico descrito em **5.6**.
- b) Adição das substâncias de interesse à matriz: para que os pesticidas fossem melhor dissolvidos na gordura do leite, e assim, representar melhor uma amostra com contaminação real, após a adição de quantidades conhecidas dos padrões nas alíquotas de leite, os frascos foram bem vedados e guardados em geladeira a  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , durante a noite (Picó et al., 1995; Schenck & Wagner, 1995).
- c) Efetuou-se fortificações de matrizes de leite em 5 níveis diferentes de concentração, escolhidas dentro da faixa de linearidade do detector: 0,0004; 0,004; 0,02; 0,04 e 0,08  $\text{mg.kg}^{-1}$  de leite total.

Os resultados do estudo de recuperação são apresentados na **Tabela 14 e Figuras 12 e 13**, Capítulo 6.

A precisão representa o grau de concordância entre os resultados obtidos, quando uma mesma amostra homogênea é analisada diversas vezes pelo método em estudo, sob idênticas condições de análise. A precisão é geralmente expressa pelo desvio

padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) entre os resultados obtidos (Chasin et al., 1994; Moraes, 1998).

Para a determinação da precisão do método foram realizadas fortificações em triplicata, para cada um dos níveis de concentração estudados e comparou-se os desvios padrão encontrados para cada nível, através do teste G. **Tabela 15**, capítulo 6.

O limite de detecção de um método analítico (LDC) é definido como sendo a menor concentração da substância de interesse, para a qual o método produz uma resposta que difere, com um nível de significância da resposta produzida pelo branco.

O limite de determinação (LDM) de um método representa a mais baixa concentração da substância de interesse que pode ser determinada de forma quantitativa, com precisão e exatidão aceitáveis, utilizando-se um determinado procedimento experimental.

Recomendações anteriores, ainda utilizadas atualmente por alguns autores, referem os limites de detecção e de determinação aos valores do branco ou ruído do instrumento e aos seus desvios padrão. A medida do sinal pode então ser considerada significativa, se o seu valor médio diferir do valor médio do branco ou do ruído por um certo múltiplo do desvio padrão. Entretanto, este tipo de avaliação só pode ser justificada se os erros inerentes nos procedimentos de medida são causados, exclusivamente por condições instrumentais. O resultado de uma determinação quantitativa de resíduos, é afetado por fatores que ocorrem nas etapas que precedem a leitura no instrumento. Por esta razão, a derivação do LDC e, por conseguinte, do LDM, deve basear-se em resultados obtidos através dos procedimentos analíticos completos. Foram introduzidos, também requisitos adicionais para a definição

do LDM. O LDM é atualmente definido como a menor concentração da substância de interesse que satisfaz os três seguintes requisitos:

- I – O LDM deve ser maior que, e significante diferente do LDC
- II – A recuperação ao nível do LDM deve ser igual a, ou maior que 70%
- III – O coeficiente de variação (CV), ao nível do LDM, para determinações em replicata, deve ser igual, ou menor que 0,2 (equivalente a 20%)

O limite de determinação (LDM) é adequado para os métodos designados para a quantificação de resíduos (Krull & Swartz, 1998; Swartz & Krull 1998).

Os limites de determinação do método analítico utilizado foram determinados, utilizando-se o conceito da curva de calibração (DFG, 1992; Moraes, 1998).

A avaliação final do método, com os parâmetros de performance analítica, encontra-se na **Tabela 16**, Capítulo 6.

## 5.8 – ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE LEITE

As amostras de leite foram analisadas, utilizando-se a metodologia validada, conforme os procedimentos descritos anteriormente. Todas as amostras foram analisadas em duplicatas, e os resultados apresentados no Capítulo seguinte, referem-se à média aritmética dos valores obtidos.

Nas **Figuras 15 e 16**, do capítulo 6, são exemplificados os perfis cromatográficos obtidos para amostras reais de leite de vaca e de leite materno.

Também foram realizadas as determinações dos teores de gordura das amostras. Essas determinações foram realizadas no Laboratório de Alimentos e Contaminantes do Departamento de Química, INCQS/FIOCRUZ, pelo método de Babcock (Richardson, 1990), cujos valores são apresentados na **Tabela 10**. Não foi possível a determinação do teor de gordura de todas as amostras de leite materno, pois a maior parte destas amostras, não continham quantidades suficientes para a realização desta determinação. Para o cálculo das concentrações dos pesticidas na gordura do leite materno, considerou-se um valor médio de 3,6% de gordura (Franco,1982).

**Tabela 10:** Teor de gordura das amostras de leite de vaca

<b>Amostra</b>	<b>Teor de gordura %</b>
01	4,0
02	3,5
03	4,2
04	4,2
05	3,4
06	2,1
07	2,7
08	4,9

A quantificação dos resíduos de pesticidas identificados nas amostras foi calculada pela quantidade conhecida do padrão e a resposta do detector a este padrão (FDA, 1996; DFG, 1987; Codex Alimentarius Commission, 1996).

Os resultados das concentrações encontradas nas amostras analisadas neste trabalho, foram calculados a partir de uma curva de calibração, preparada com 4 pontos do intervalo de resposta linear do detector. Os padrões de calibração foram injetados após cada série de 4 injeções consecutivas das soluções amostra. Os tempos de retenção e as áreas dos padrões, foram atualizados a cada nova curva. Os cálculos das concentrações dos pesticidas nas amostras, foram efetuados através do “software” HP ChemStation, acoplado ao cromatógrafo.

Os resultados para os teores de resíduos de pesticidas nas amostras analisadas são apresentados nas **Tabelas 17,18,19 e 20**, no Capítulo 6.



## 6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

### 6.1 – VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

#### 6.1.1 – Especificidade

Para o estudo da especificidade do método foram identificados os tempos de retenção relativos, apresentados na **Tabela 11** e **Figuras 8** e **9**. Observa-se que, pelos os valores obtidos para as retenções relativas calculadas referentes ao Aldrin, demonstraram que é possível separar e identificar todas as substâncias de interesse.

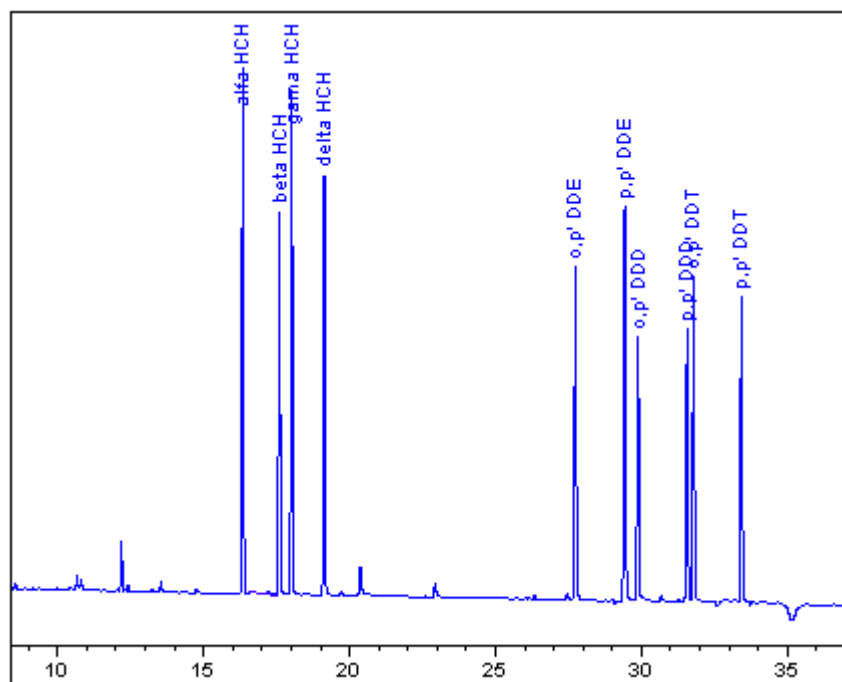
O estudo da especificidade mostrou que tanto os reagentes, quanto a matriz não contêm substâncias capazes de interferir com as substâncias de interesse. **Figuras 10** e **14**.

A coluna **A** foi selecionada para a identificação das substâncias pesquisadas nas amostras, tendo em vista que esta, apresentou melhor resolução dos picos de interesse. Embora a coluna **B** não tenha apresentado a mesma qualidade de resolução da coluna **A**, a sua utilização foi importante na confirmação da presença das substâncias nas amostras.

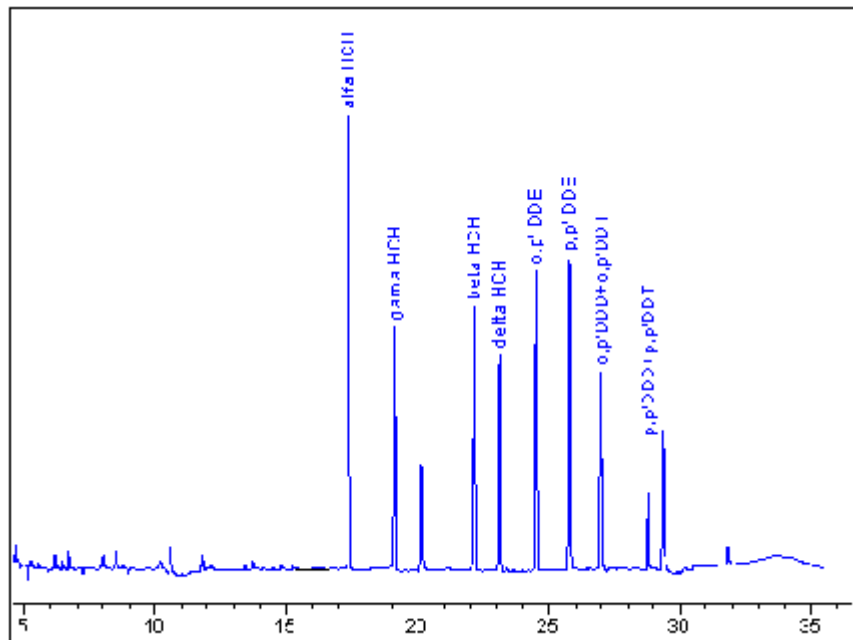
A repetibilidade dos tempos de retenção das substâncias são apresentados na **Tabela 12**. Para todas as substâncias, a variação entre as injeções consecutivas foi inferior a 2 %, com coeficientes mínimo de 0,44 % (p.p' DDD) e máximo de 1,79% ( $\delta$  HCH).

**Tabela 11:** Retenções relativas para as substâncias de interesse, nas colunas capilares **A:**5% Fenil metil silicone (Quadrex) e **B:**14% Cianopropil fenil dimetil siloxano (BP10-SGE). Substância de referência: ALDRIN.

<b>Coluna A</b>		<b>Coluna B</b>	
<i>Substância</i>	<i>Retenção Relativa</i>	<i>Substância</i>	<i>Retenção Relativa</i>
$\alpha$ HCH	0,69	$\alpha$ HCH	0,72
$\beta$ HCH	0,74	$\gamma$ HCH	0,90
$\gamma$ HCH	0,76	<b>Aldrin</b>	<b>1,00</b>
$\delta$ HCH	0,80	$\beta$ HCH	1,05
<b>Aldrin</b>	<b>1,00</b>	$\delta$ HCH	1,10
o,p' DDE	1,16	o,p' DDE	1,17
p,p' DDE	1,23	p,p' DDE	1,23
o,p' DDD	1,25	o,p' DDD	1,29
p,p' DDD	1,32	o,p' DDT	1,30
o,p' DDT	1,33	p,p' DDD	1,38
p,p' DDT	1,40	p,p' DDT	1,39



**Figura 8:** Cromatograma referente a injeção de 1 $\mu$ l da mistura de padrões. Coluna capilar A: 5% Fenil metil silicone (Quadrex), em condições cromatográficas especificadas em 5.4.



**Figura 9:** Cromatograma referente a injeção de 1µl da mistura de padrões . Coluna capilar **B**:14% Cianopropil fenil dimetil siloxano (BP10-SGE), em condições cromatográficas especificadas em 5.4.

**Tabela 12** -: Avaliação da repetibilidade dos tempos de retenção em diferentes injeções consecutivas, para os diferentes compostos de interesse.

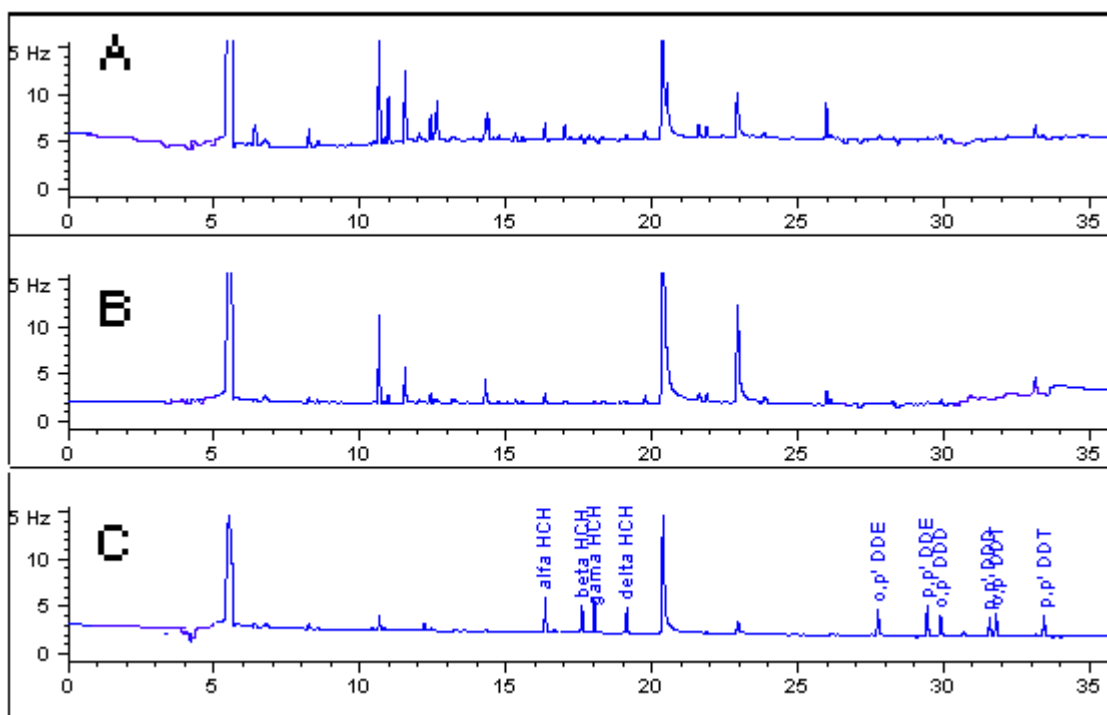
<b>Padrão</b>	<b>T.R.(médio)<sup>a</sup></b>	<b>Desv.Padrão</b>	<b>%CV<sup>b</sup></b>
$\alpha$ HCH	16,323	0,0028	1,73
$\beta$ HCH	17,577	0,0018	1,04
$\gamma$ HCH	17,999	0,0028	1,53
$\delta$ HCH	19,117	0,0034	1,79
o,p'DDE	27,720	0,0022	0,78
p,p'DDE	29,407	0,0029	0,98
o,p'DDD	29,864	0,0020	0,67
p,p'DDD	31,545	0,0014	0,44
o,p'DDT	31,766	0,0020	0,63
p,p'DDT	33,405	0,0021	0,64

a – Média dos tempos de retenção em minutos, para n=5 injeções

b – Coeficiente de variação

Os resultados para o estudo do branco de reagentes podem ser apreciados na **Figura 10**. Observa-se que no cromatograma **A**, aparecem picos relativos a substâncias interferentes, provenientes da coluna de fase sólida. Estas contêm impurezas que interferem na identificação e quantificação dos resíduos em concentrações muito baixas, como já citado em 5.7.1.

A pré lavagem destas colunas com três porções de n-hexano, reduz o aparecimento destes interferentes, conforme demonstrado no cromatograma **B** da **Figura 10**.



**Figura 10:** Cromatograma do branco de reagentes, sem lavagem prévia da coluna de separação em fase sólida, **A**; cromatograma do branco de reagentes, após a lavagem prévia da coluna de separação em fase sólida, **B** e cromatograma de 1 $\mu$ l da mistura de padrões, concentração 1 $\mu$ g.l<sup>-1</sup>, **C**. Coluna capilar 5% Fenil metil silicone (Quadrex), em condições cromatográficas especificadas em 5.4.

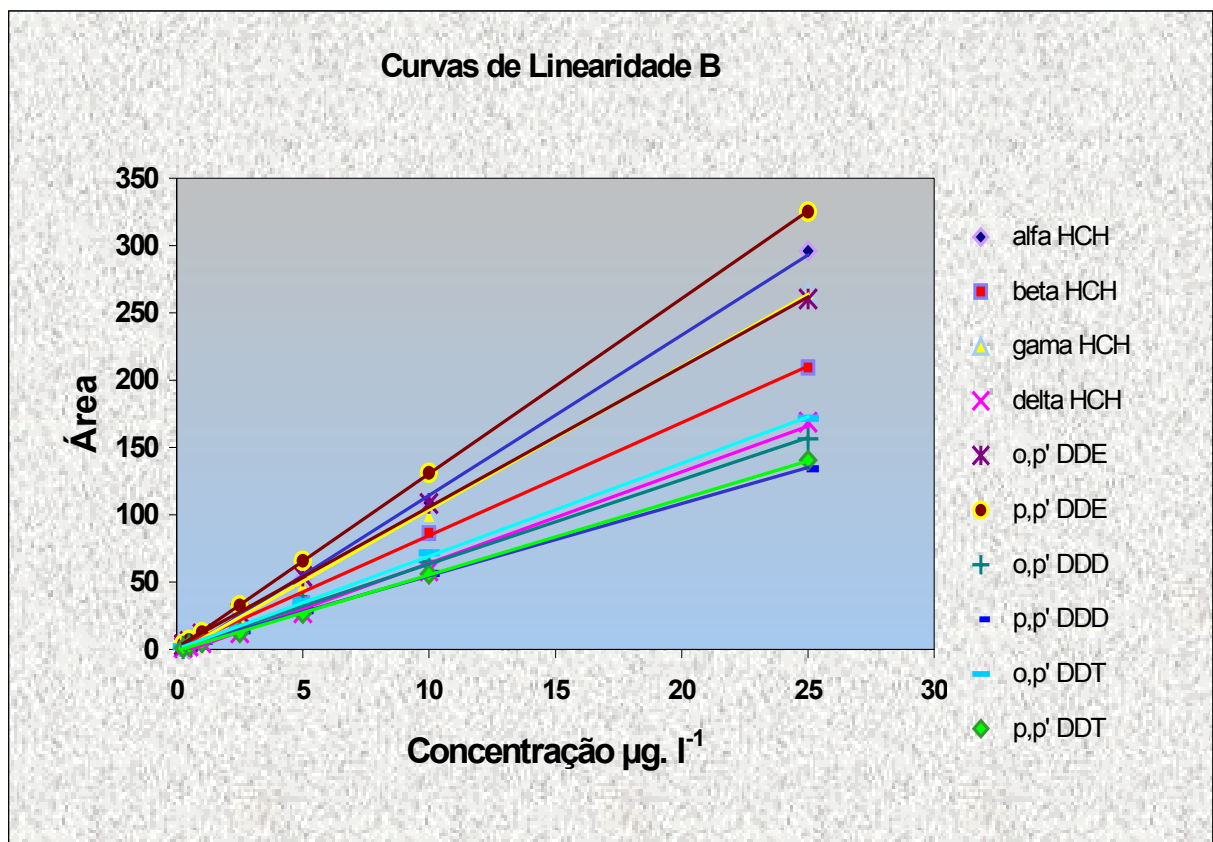
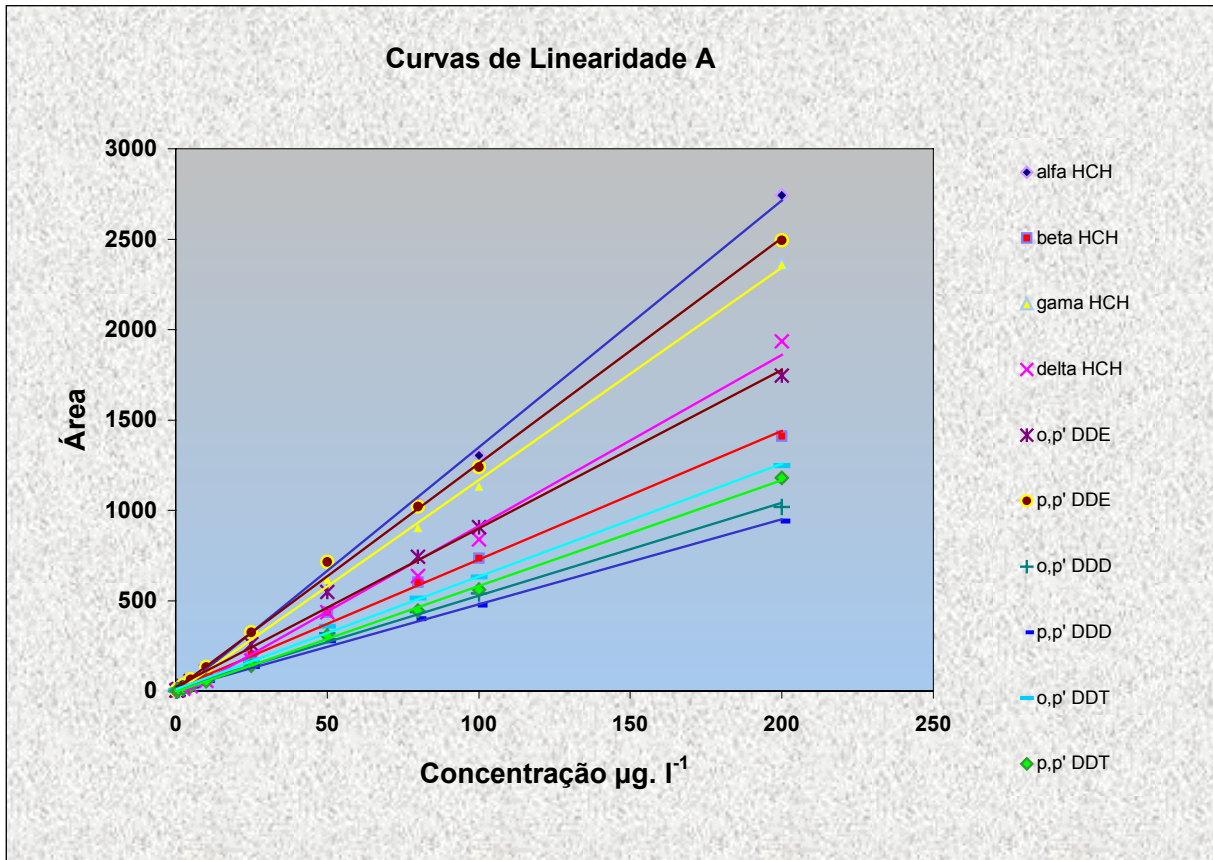
### 6.1.2 – Linearidade de resposta do detector captura de elétrons/Cromatógrafo HP 6890

Através dos coeficientes de correlação, calculados pelo método dos mínimos quadrados e a observação visual dos gráficos obtidos (**Figura 11**), verificou-se que a relação entre a resposta do detector e a concentração de cada substância, em 11 níveis diferentes de concentração, é linear. Os valores de **r** variaram de 0,9967 a 0,9996, indicando uma perfeita correlação entre as concentrações e as respostas obtidas (**Tabela 13**).

**Tabela 13:** Linearidade de resposta do detector de captura de elétrons/Cromatógrafo HP 6890, para as substâncias de interesse, na faixa de concentração de 0,25 a 200  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Os valores foram calculados para 3 determinações por nível.

Substância	b	a	r
$\alpha$ HCH	13648,09	-15,3665	0,9995
$\beta$ HCH	7104,36	17,3217	0,9984
$\gamma$ HCH	11766,27	-9,3360	0,9996
$\delta$ HCH	9459,72	-33,0745	0,9967
O,p' DDE	87775,02	22,8764	0,9982
p,p' DDE	12457,61	10,7268	0,9994
o,p' DDD	5134,15	14,6912	0,9980
p,p' DDD	4697,44	8,8017	0,9991
o,p' DDT	6245,89	8,7186	0,9994
p,p' DDT	5847,05	-35,7350	0,9995

b = coeficiente angular da reta  
a = coeficiente linear da reta  
r = coeficiente de correlação



**Figura 11:** Curvas de linearidade de resposta do detetor de captura de elétrons para as substâncias de interesse. **A)** Faixa de 0,25 a 200  $\mu\text{g.l}^{-1}$  e **B)** Faixa de 0,25 a 25  $\mu\text{g.l}^{-1}$ .



### 6.1.3 – Exatidão

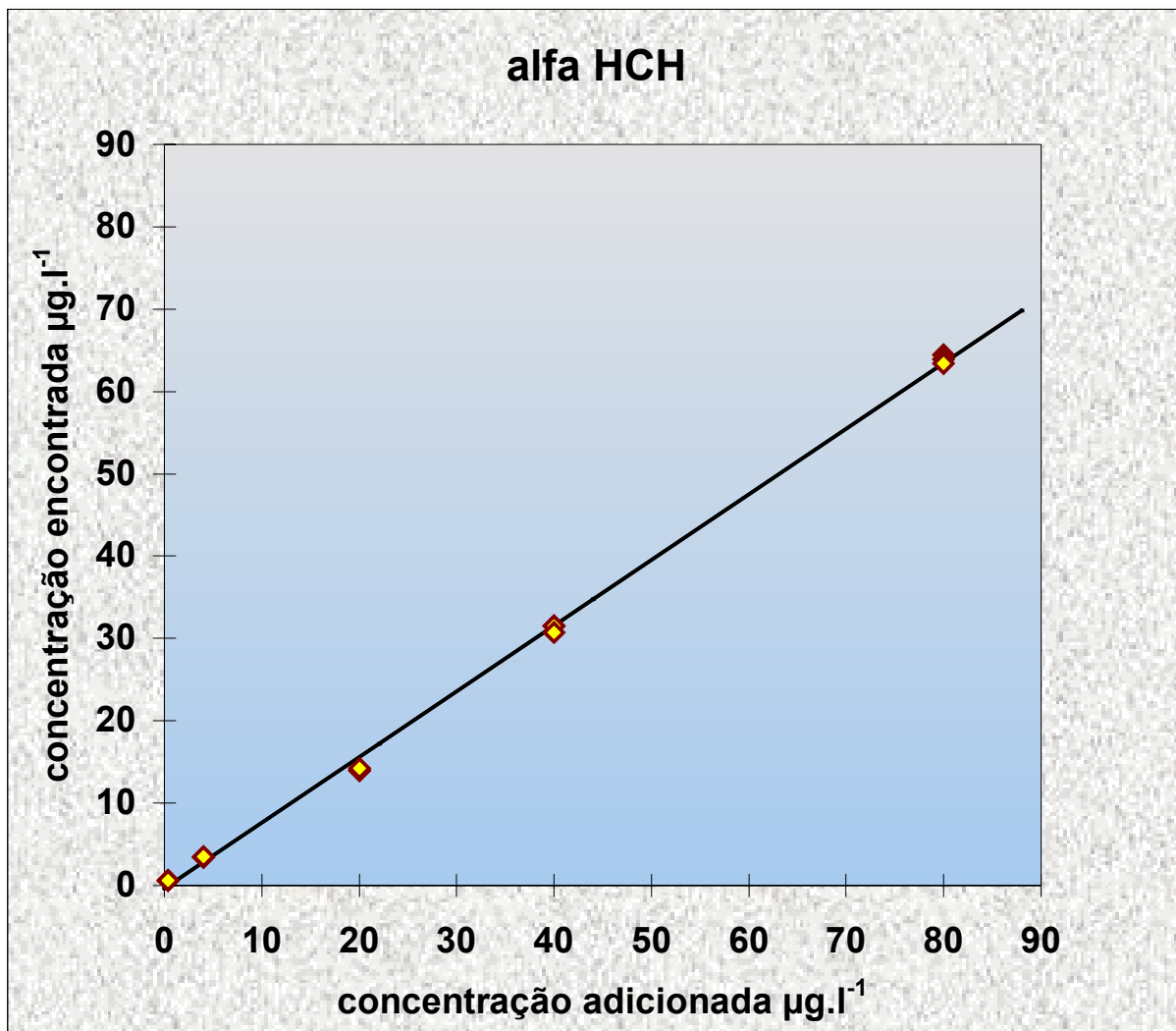
A exatidão do método analítico, foi avaliada conforme descrito no capítulo anterior, item 5.7.1.

Os valores de recuperação das substâncias de interesse foram calculados pelos coeficientes angulares das curvas de concentração conhecida versus concentração experimental (DFG, 1992; Moraes, 1998). Estas curvas foram construídas para cada substância, na faixa de concentração de 0,4 a 80  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  de leite, submetendo-se a matriz fortificada ao procedimento analítico completo. A **Figura 12** exemplifica este estudo através da curva obtida para a substância  $\alpha$  HCH, que foi a que apresentou menor recuperação (79,77%).

Os valores de recuperação para todas as substâncias estão apresentados na **Tabela 14** e para uma melhor visualização, também são apresentados na **Figura 13**.

Foi constatado que os valores de recuperação encontrados para todas as substâncias encontram-se dentro da faixa aceitável para análise de resíduos, de 70–120% (Conacher, 1990; Parker, 1991; Fillion & Thorp, 1995; Codex Alimentarius Commission, 1996) e de acordo com o documento “SOM” do FDA (Food and Drug Administration), que para análises de traços, aceita as faixas de recuperação de 80-110%, para concentrações  $\geq 0,1\text{ppm}$  e de 60-100, para concentrações  $< 0,1\text{ppm}$  (Horwitz, 1982).

Na **Figura 14**, pode-se observar os perfis cromatográficos da matriz de leite sem e com adição das substâncias de interesse. O cromatograma apresentado na **Figura 14b**, permite observar que o método possui sensibilidade tão baixa quanto  $0,0004 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite.



**Figura 12:** Linha de regressão “concentração adicionada” *versus* “concentração encontrada”, para o  $\alpha$  HCH.

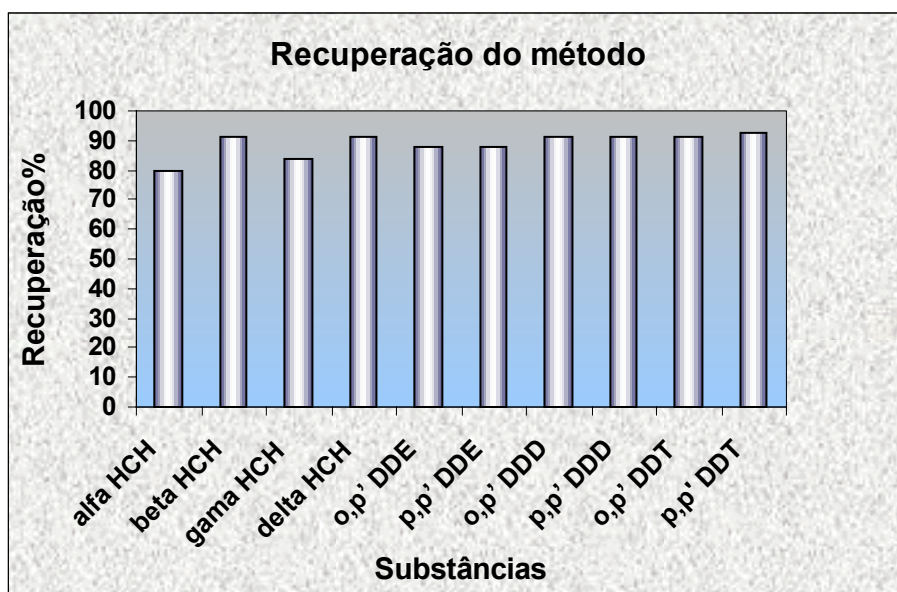
$a=-0,3668$ ;  $b=0,7977$ ;  $r=0,9993$



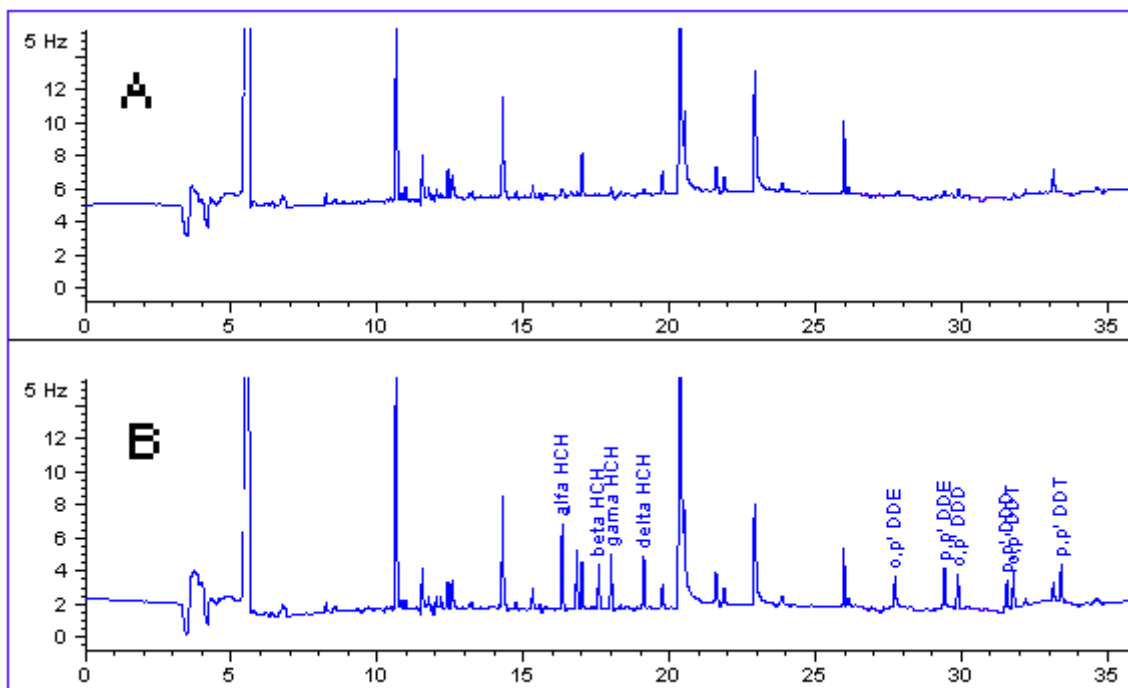
**Tabela 14:** Recuperações do método, obtidas pelas substâncias, submetidas ao processo analítico completo.

<b>Substância</b>	<b>Recuperação %<sup>a</sup></b>
$\alpha$ HCH	79,8 $\pm$ 1,8
$\beta$ HCH	91,4 $\pm$ 2,1
$\gamma$ HCH	83,9 $\pm$ 1,5
$\delta$ HCH	91,5 $\pm$ 1,4
o,p' DDE	87,9 $\pm$ 3,3
p,p' DDE	87,9 $\pm$ 4,1
o,p' DDD	91,0 $\pm$ 2,1
p,p' DDD	91,3 $\pm$ 2,6
o,p' DDT	91,5 $\pm$ 3,6
p,p' DDT	92,9 $\pm$ 3,1

a - recuperação %  $\pm$  limite de confiança



**Figura 13:** Recuperações obtidas para as diferentes substâncias, submetidas ao processo analítico completo.



**Figura 14:** Cromatogramas de branco de matriz de leite, **A** e matriz de leite fortificada, com concentração final de injeção= $1\mu\text{g.l}^{-1}$ , correspondente a concentração de  $0,0004\text{mg.kg}^{-1}$  de leite, **B**. Coluna capilar 5% Fenil metil silicone (Quadrex), em condições cromatográficas especificadas em 5.4.

#### 6.1.4 – Precisão

A precisão foi avaliada estatisticamente, aplicando-se o teste G, que comprovou uniformidade nos desvios padrão para os diferentes níveis de fortificação para todas as substâncias estudadas e os coeficientes de variação obtidos estão apresentados na **Tabela 15**.

Os valores de coeficiente de variação situaram-se entre 0,35 a 5,20%, estando todos abaixo dos valores máximos aceitos para as análises de resíduos (DFG, 1992; Moraes, 1998).

Os coeficientes de variação no nível do limite de determinação estabelecido para todas as substâncias estudadas,  $0,0004 \text{ mg.kg}^{-1}$ , variaram de 0,56 a 9,86%, sendo bem inferiores ao valor máximo recomendado de 20%.

**Tabela 15:** Comparação entre os Coeficientes de Variação Relativos (CV%) obtidos nos diferentes níveis de fortificação.

Substância	CV%				
	Nível de fortificação $\text{mg.kg}^{-1} a$				
	0,0004	0,004	0,020	0,040	0,080
$\alpha$ HCH	5,20	0,44	1,10	1,28	0,82
$\beta$ HCH	2,44	0,40	2,41	1,10	-
$\gamma$ HCH	0,56	0,40	0,11	1,29	0,95
$\delta$ HCH	3,04	1,26	1,84	1,18	0,80
<i>o,p'</i> DDE	9,86	3,64	2,47	2,33	1,18
<i>p,p'</i> DDE	5,08	5,09	1,58	2,55	1,24
<i>o,p'</i> DDD	1,18	2,88	1,25	1,74	0,94
<i>p,p'</i> DDD	2,57	5,08	0,35	2,08	1,15
<i>o,p'</i> DDT	3,85	1,45	0,66	2,89	1,52
<i>p,p'</i> DDT	2,65	2,71	0,80	2,59	1,85

a – concentração das substâncias no leite

Os parâmetros de performance do método usado no presente trabalho, estão relacionados na **Tabela 16**.

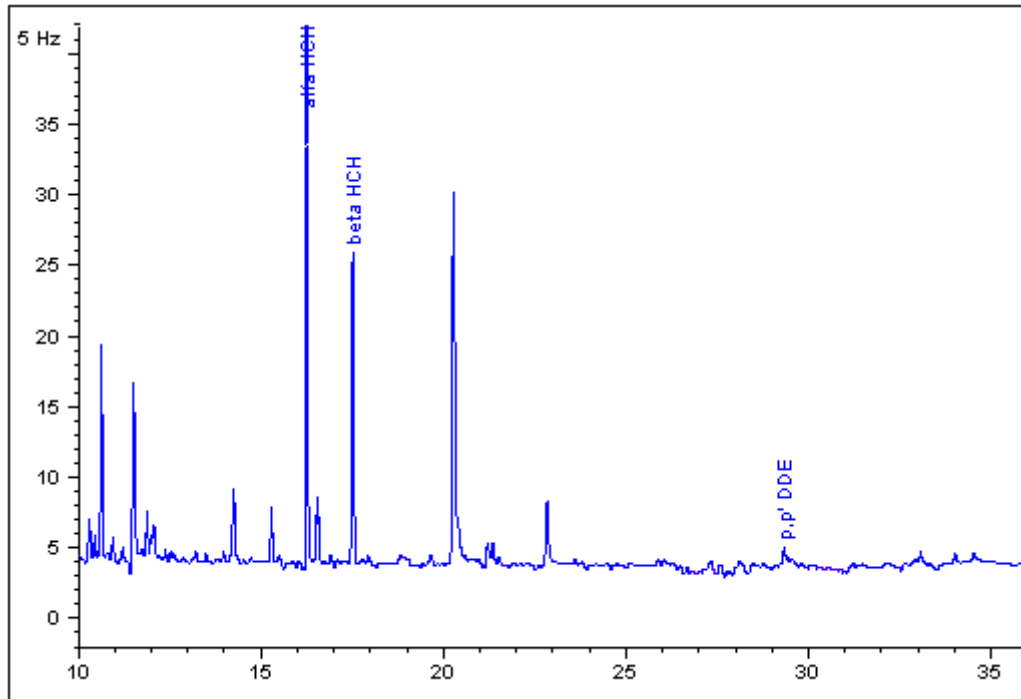
**Tabela 16:** Parâmetros de performance do método analítico.

Substância	Recuperação $\pm$ LC <sup>a</sup> (%)	Desvio Padrão	Limite de determinação (mg.kg <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>
$\alpha$ HCH	79,8 $\pm$ 1,8	0,55	0,0004
$\beta$ HCH	91,4 $\pm$ 2,1	0,53	0,0004
$\gamma$ HCH	83,9 $\pm$ 1,5	0,57	0,0004
$\delta$ HCH	91,5 $\pm$ 1,4	0,73	0,0004
o,p' DDE	87,9 $\pm$ 3,3	1,03	0,0004
p,p' DDE	87,9 $\pm$ 4,1	1,10	0,0004
o,p' DDD	91,0 $\pm$ 2,1	0,81	0,0004
p,p' DDD	91,3 $\pm$ 2,6	0,89	0,0004
o,p' DDT	91,5 $\pm$ 3,6	1,11	0,0004
p,p' DDT	92,9 $\pm$ 3,1	1,24	0,0004

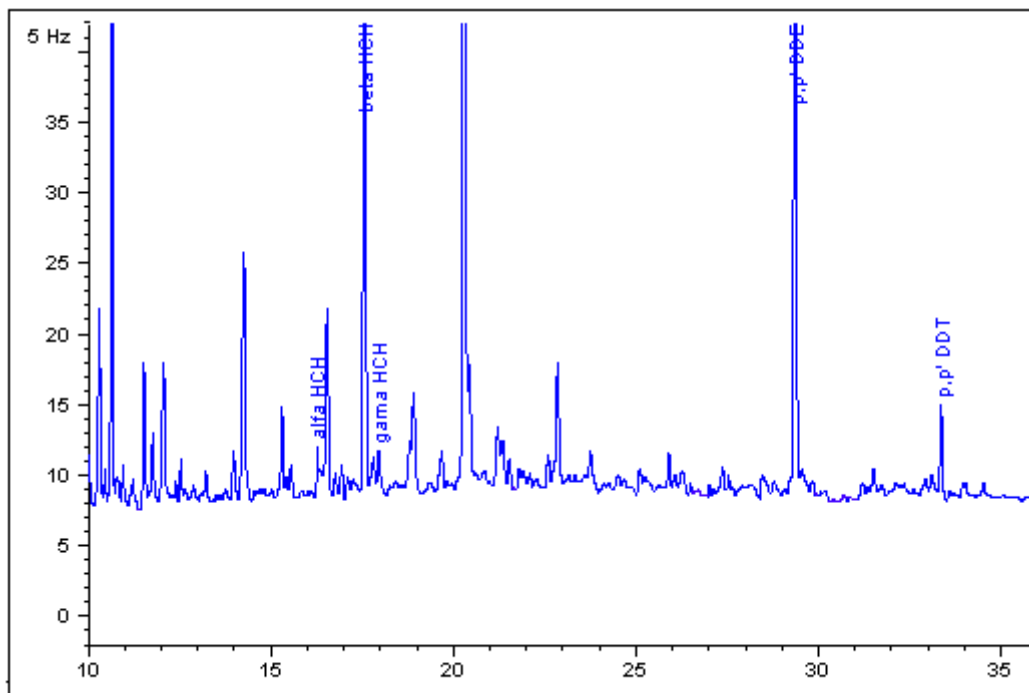
a – limite de confiança

b – concentração em mg. kg<sup>-1</sup> de leite

As **Figuras 15** e **16**, ilustram os cromatogramas obtidos com os extratos de amostras reais de leite de vaca e de leite materno, respectivamente.



**Figura 15:** Cromatograma correspondente a uma amostra real de leite de vaca. Coluna capilar 5% Fenil metil silicone (Quadrex), em condições cromatográficas especificadas em 5.4.



**Figura 16:** Cromatograma correspondente a uma amostra real de leite materno. Coluna capilar 5% Fenil metil silicone (Quadrex), em condições cromatográficas especificadas em 5.4.



## 6.2 – AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS

### 6.2.1 – Teor de organoclorados em leite de vaca

Os teores obtidos para as 8 amostras analisadas, estão apresentados na **Tabela 17** em  $\text{mg.kg}^{-1}$  de leite. Os mesmos são também apresentados em  $\text{mg.kg}^{-1}$  de gordura na **Tabela 18**, para facilitar a comparação dos resultados obtidos com as legislações vigentes e dados de outros autores.

Observando-se os valores apresentados nas **Tabelas 17 e 18**, verifica-se que as substâncias que apresentaram maiores concentrações foram  $\alpha$  e  $\beta$  HCH e p,p' DDE. Apenas uma amostra apresentou resultado positivo para o Lindano ( $\gamma$  HCH) e nenhuma amostra apresentou resultado positivo para o  $\delta$  HCH.

Para as amostras provenientes da Cidade dos Meninos, encontrou-se valores para  $\alpha$  HCH variando de 0,0025 a 0,0337  $\text{mg.kg}^{-1}$  de leite (0,0635 a 0,8418  $\text{mg.kg}^{-1}$  de gordura) e para as amostras provenientes das outras localidades, encontrou-se um valor máximo de 0,0013  $\text{mg.kg}^{-1}$  de leite (0,0639  $\text{mg.kg}^{-1}$  de gordura). Os resultados encontrados para  $\beta$  HCH variaram de 0,0130 a 0,0178  $\text{mg.kg}^{-1}$  de leite (0,1119 a 0,4365  $\text{mg.kg}^{-1}$  de gordura) para as amostras provenientes da Cidade dos Meninos, enquanto que para as amostras das outras localidades, somente uma apresentou teor de  $\beta$  HCH quantificável, de 0,0079  $\text{mg.kg}^{-1}$  de leite (0,0280  $\text{mg.kg}^{-1}$  de gordura).

As diferenças entre os pares das amostras analisadas foram estatisticamente avaliadas, utilizando-se a análise de variância de fator único (ANOVA ,  $P \leq 0,05$ ). Para as amostras com teores não determinados considerou-se este valor como sendo zero. Para o  $\alpha$  HCH não foi encontrada diferença estatisticamente significativa

entre os dois grupos analisados, enquanto para o  $\beta$  HCH, foi encontrada diferença estatisticamente significativa ( $P=0,03$ ).

Como o  $\beta$  HCH é o isômero mais simétrico e estável, é também o mais persistente na natureza, sendo portanto o mais encontrado em amostras de leite, uma vez que é metabolizado mais lentamente do que os outros isômeros. Os níveis mais baixos dos isômeros  $\alpha$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  em organismos e no ecossistema, se deve a suas transformações em isômero  $\beta$  (Kinyamu et al., 1998; Çok, 1998). Os isômeros  $\delta$  e  $\beta$  possuem pressões de vapor menores do que os outros isômeros do HCH, o que indica maior persistência. Apesar da comprovação da persistência do isômero  $\delta$ , os seus resíduos não são encontrados com muita frequência, pois as quantidades deste isômero em formulações são reduzidas e a transformação dos outros isômeros para este, não ocorre (Singh et al., 1993), justificando a ausência do isômero  $\delta$  HCH nas amostras analisadas.

Uma vez que a legislação brasileira vigente não estabelece limites máximos de resíduos (LMR) para  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\delta$  HCH, a avaliação foi efetuada tomando-se como base os limites máximos estabelecidos para estes resíduos pela Europäischen Gemeinschaften, 1993, **Tabela 6**, Capítulo 4. Observou-se que de todas as amostras analisadas, duas apresentaram valores de  $\alpha$  HCH, acima do LMR/Europäischen Gemeinschaften ( $0,004 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite, para  $\alpha$  HCH), sendo que uma amostra do grupo exposto, apresentou um valor em torno de 8 vezes maior do que o LMR. Para o isômero  $\beta$  HCH, todas as amostras do grupo exposto e uma do grupo não exposto, apresentaram teores acima do LMR/Europäischen Gemeinschaften ( $0,003 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite).

Os valores encontrados para o isômero  $\gamma$ , abaixo do limite de determinação do método para quase todas as amostras, devem-se à transformação deste isômero em isômero  $\beta$ . A única amostra com

resultado positivo para Lindano, do grupo não exposto, apresentou um valor de 0,0036 mg.kg<sup>-1</sup>de leite (0,1340 mg.kg<sup>-1</sup>de gordura), compatível com o LMR estabelecido pela legislação brasileira, Codex Alimentarius Commission, 1996 e pela Europäishen Gemeinshafthen, 1993, **Tabela 6**, capítulo 4. Este resultado sugere contaminação recente do gado, tendo em vista que foi o único isômero encontrado nesta amostra, apesar de não ser o mais estável.

Comparando-se os resultados encontrados com os citados na literatura, **Tabela 3**, Capítulo 3, observa-se que os valores de HCH ( $\alpha+\beta+\gamma+\delta$ ) nas amostras do grupo exposto, são superiores aos encontrados em estudos anteriores no Brasil, para amostras de leite industrializados, enquanto os valores para o grupo não exposto foram bem inferiores a estes.

Com relação à contaminação das amostras com DDT, o único produto de decomposição encontrado nas amostras foi o p,p' DDE, em valores de 0,0006 a 0,0059 mg.kg<sup>-1</sup>de leite (0,0133 a 0,1388 mg.kg<sup>-1</sup>de gordura) para o grupo exposto e de 0,0005 a 0,0016 mg.kg<sup>-1</sup>de leite (0,0189 a 0,0777 mg.kg<sup>-1</sup>de gordura) para o grupo não exposto.

A biotransformação do DDT é lenta em mamíferos, sendo o DDE o principal metabólito e mais persistente e portanto, o que é encontrado com maior frequência em amostras de leite(Çok, 1997 e Fukuto & Sims, [19--]). A proporção do DDE, com relação ao DDT total, fornece a indicação de quão recente ocorreu a exposição de animais ou pessoas. Na maior parte do mundo, a proporção do DDE, com relação ao DDT total tem aumentado desde a introdução de políticas regulatórias de redução ou proibição do uso deste, desde 1970 (Toews, & McEwen, 1994). Os resultados encontrados confirmam a exposição anterior ao DDT e a persistência do p,p'

DDE, uma vez que não foram encontrados os outros produtos de decomposição do DDT nas amostras analisadas.

Todos os valores encontrados de DDT total nas amostras de leite de vaca são bem inferiores aos LMR, recomendados pelo Codex Alimentarius Commission, 1996) e estabelecidos pela Europäishen Gemeinschaften, 1993: 0,05 e 0,04 mg.kg<sup>-1</sup>de leite, respectivamente.



**Tabela 17: Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de leite de vaca em mg.kg<sup>-1</sup> de leite**

Amostra	Pesticidas											
	α HCH	β HCH	Lindano	δ HCH	HCH	o,p'DDE	p,p'DDE	o,p'DDD	p,p'DDD	o,p'DDT	p,p'DDT	DDT Total
1-E	0,0025	0,0130	nd	nd	0,0156	nd	0,0006	nd	nd	nd	nd	0,0006
2-E	0,0025	0,0039	nd	nd	0,0064	nd	0,0022	nd	nd	nd	nd	0,0022
3-E	0,0042	0,0124	nd	nd	0,0166	nd	0,0057	nd	nd	nd	nd	0,0057
4-E	0,0337	0,0178	nd	nd	0,0515	nd	0,0018	nd	nd	nd	nd	0,0018
5-NE	0,0007	nd	nd	nd	0,0007	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6-NE	0,0013	nd	nd	nd	0,0013	nd	0,0016	nd	nd	nd	nd	0,0016
7-NE	nd	nd	0,0036	nd	nd	nd	0,0005	nd	nd	nd	nd	0,0005
8-NE	nd	0,0079	nd	nd	0,0079	nd	0,0016	nd	nd	nd	nd	0,0016

nd - não detectado até o limite de determinação do método em mg.kg<sup>-1</sup> de leite (0,0004)

E - Amostras de leite de vacas expostas (Área da Cidade dos Meninos)

NE - Amostras de leite de vacas não expostas (Afastadas da área da Cidade dos Meninos)

HCH - soma dos isômeros α+β+δ

DDT total - o,p' e p,p'DDE + o,p' e p,p' DDD + o,p' e p,p' DDT

Os resultados correspondem ao valor médio de 2 determinações

**Tabela 18: Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de leite de vaca em mg.kg<sup>-1</sup> de gordura**

Amostra	Pesticidas											
	α HCH	β HCH	Lindano	δ HCH	HCH	o,p'DDE	p,p'DDE	o,p'DDD	p,p'DDD	o,p'DDT	p,p'DDT	DDT total
1-E	0,0635	0,3339	nd	nd	0,3974	nd	0,0133	nd	nd	nd	nd	0,0133
2-E	0,0737	0,1119	nd	nd	0,1856	nd	0,0633	nd	nd	nd	nd	0,0633
3-E	0,1009	0,3007	nd	nd	0,4016	nd	0,1388	nd	nd	nd	nd	0,1388
4-E	0,8418	0,4365	nd	nd	1,2783	nd	0,0439	nd	nd	nd	nd	0,0439
5-NE	0,0214	nd	nd	nd	0,0214	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6-NE	0,0639	nd	nd	nd	0,0639	nd	0,0777	nd	nd	nd	nd	0,0777
7-NE	nd	nd	0,1340	nd	nd	nd	0,0189	nd	nd	nd	nd	0,0189
8-NE	nd	0,0280	nd	nd	0,028	nd	0,0335	nd	nd	nd	nd	0,0335

nd. - não detectado até o limite de determinação do método em mg.kg<sup>-1</sup> de leite (0,0004)

E - Amostras de leite de vacas expostas (Área da Cidade dos Meninos)

NE - Amostras de leite de vacas não expostas (Afastadas da área da Cidade dos Meninos)

HCH - soma dos

isômeros α+β+δ

DDT total - o,p' e p,p'DDE + o,p' e p,p' DDD

+ o,p' e p,p' DDT

Os resultados correspondem ao valor médio de 2 determinações

**Tabela 18: Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de leite de vaca em mg.kg<sup>-1</sup>de gordura**

Pesticidas													
Amostra	$\alpha$ HCH	$\beta$ HCH	Lindano	$\delta$ HCH	HCH	o,p'DDE	p,p'DDE	o,p'DDD	p,p'DDD	o,p'DDT	p,p'DDT	DDT total	
1-E	0,0635	0,3339	nd	nd	0,3974	nd	0,0133	nd	nd	nd	nd	0,0133	
2-E	0,0737	0,1119	nd	nd	0,1856	nd	0,0633	nd	nd	nd	nd	0,0633	
3-E	0,1009	0,3007	nd	nd	0,4016	nd	0,1388	nd	nd	nd	nd	0,1388	
4-E	0,8418	0,4365	nd	nd	1,2783	nd	0,0439	nd	nd	nd	nd	0,0439	
5-NE	0,0214	nd	nd	nd	0,0214	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
6-NE	0,0639	nd	nd	nd	0,0639	nd	0,0777	nd	nd	nd	nd	0,0777	
7-NE	nd	nd	0,1340	nd	nd	nd	0,0189	nd	nd	nd	nd	0,0189	
8-NE	nd	0,0280	nd	nd	0,028	nd	0,0335	nd	nd	nd	nd	0,0335	

nd. - não detectado até o limite de determinação do método em mg.kg<sup>-1</sup> de leite (0,0004)

E - Amostras de leite de vacas expostas (Área da Cidade dos Meninos)

NE - Amostras de leite de vacas não expostas (Afastadas da área da Cidade dos Meninos)

HCH - soma dos isômeros  $\alpha+\beta+\delta$

DDT total - o,p' e p,p'DDE + o,p' e p,p' DDD + o,p' e p,p' DDT

Os resultados correspondem ao valor médio de 2 determinações



### 6.2.2 – Teor de organoclorados em leite materno

Na **Tabela 19** estão apresentados os resultados dos teores de organoclorados encontrados nas 14 amostras analisadas de leite materno. Como não há uniformidade das unidades de concentração em que os resultados são expressos pelos diversos autores, os resultados deste trabalho são também apresentados em  $\text{mg.kg}^{-1}$  de gordura na **Tabela 20**, para facilitar possíveis comparações.

Ao observar-se os teores de organoclorados encontrados e apresentados nas **Tabelas 19 e 20**, verifica-se que as substâncias que apresentaram maiores freqüências de resultados positivos foram  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  HCH e p,p'DDE e p,p'DDT. Das amostras analisadas do grupo exposto 71,4% apresentaram resultados positivos para  $\alpha$  HCH; 100% para  $\beta$  HCH; 71,4% para  $\gamma$  HCH; 100% para p,p' DDE ; 42,8% para p,p' DDD e 100% para p,p' DDT. Das amostras analisadas do grupo não exposto 100% apresentaram resultados positivos para  $\alpha$  HCH; 85,7% para  $\beta$  HCH; 100% para  $\gamma$  HCH; 100% para p,p'DDE e apenas uma amostra apresentou resultado positivo para p,p'DDT.

Para as amostras provenientes das mães residentes na Cidade dos Meninos, encontrou-se valores para  $\alpha$  HCH, variando de  $<0,0004$  a  $0,0051 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite (máximo de  $0,1467 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura) e para as amostras provenientes de mães de outras localidades, encontrou-se valores variando de  $0,0016$  a  $0,0075 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite ( $0,0436$  a  $0,2144 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura). Os resultados encontrados para  $\beta$  HCH variaram de  $0,0110$  a  $0,1519 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite ( $0,3148$  a  $4,2742 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura) para as amostras provenientes das mães expostas e de  $<0,0004$  a  $0,0081 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite (máximo de  $0,2318 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura) para as amostras provenientes das mães não expostas. Quanto aos teores de  $\gamma$  HCH encontrados, estes variaram de  $<0,0004$  a  $0,0124 \text{ mg.kg}^{-1}$  de

leite (máximo de  $0,3512 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura), para as amostras de leite das mães expostas e de  $0,0007$  a  $0,0077 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite ( $0,0179$  a  $0,2245 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura), para as amostras de leite das mães não expostas. Nenhuma amostra dos grupos estudados apresentou resultado positivo para o isômero  $\delta$  HCH.

As diferenças entre os pares das amostras analisadas, foram estatisticamente avaliadas, utilizando-se a análise de variância de fator único (ANOVA,  $P \leq 0,05$ ). Considerou-se o valor zero para as amostras com resultados menores do que o limite de determinação do método. Para  $\alpha$  e  $\gamma$  HCH não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos de amostras estudados. Para o isômero  $\beta$  HCH foi encontrada diferença altamente significativa entre as amostras de leite das mães expostas e das mães não expostas ( $P=0,003$ ).

O metabolismo e excreção de pesticidas organoclorados é um processo lento. Uma das fontes de eliminação mais importantes do corpo humano é a lactação e, conseqüentemente, o leite materno geralmente apresenta concentrações significativas destes compostos. Tais compostos são identificados em leite materno em vários países (Czaja et al., 1997a). A presença de isômeros de HCH nas amostras estudadas refletem a confirmação da contaminação do leite materno por exposição ao HCH, tanto no grupo exposto por exposição direta ao HCH, quanto para o grupo não exposto por exposição a contaminação ambiental, conforme constatada por outros autores, **Tabela 4**, Capítulo **3**. Os resultados positivos de  $\gamma$  HCH em todas as amostras do grupo não exposto, apesar deste não ser o isômero mais estável, deve-se provavelmente à utilização recente de medicamentos para o tratamento de escabiose ou pediculose, cujas formulações contém  $\gamma$  HCH.

O fato de não terem sido encontradas diferenças significativas entre o grupo exposto e o não exposto, para os isômeros  $\alpha$  e  $\gamma$  HCH, deve-se à transformação destes isômeros em  $\beta$  HCH. As concentrações de  $\beta$  HCH, nas amostras de leite das mães residentes na Cidade dos Meninos, apresentaram valores muito mais elevados, demonstrando a maior exposição deste grupo ao HCH.

Uma das razões para os teores de  $\beta$  HCH mais elevados nas amostras de leite é que, a excreção do isômero  $\beta$  do corpo humano, demora 5 vezes mais do que a dos outros isômeros e, a habilidade do  $\beta$  HCH acumular-se no tecido gorduroso é de 10 a 30 vezes mais forte do que a dos outros isômeros. As quantidades do isômero  $\beta$  são geralmente reportadas em concentrações mais elevadas em tecidos humanos e animais e em leite, uma vez que a taxa de eliminação deste isômero é menor ( Jensen, 1983 *apud* Czaja et al., 1997a; Quinsey et al., 1995).

Comparando-se os dados obtidos para as amostras de leite materno, com as legislações vigentes, observa-se que com relação aos teores de Lindano obtidos no grupo exposto, quatro amostras apresentaram valores de 0,1159; 0,1527; 0,2712; 0,3512 mg.kg<sup>-1</sup> de gordura, superiores ao estabelecido pela legislação brasileira (0,1 mg.kg<sup>-1</sup> de gordura); para o grupo não exposto três amostras apresentaram valores acima do estabelecido (0,1555; 0,1734; e 0,2245 mg.kg<sup>-1</sup> de gordura). Em relação aos teores de  $\alpha$  HCH, somente uma amostra do grupo exposto apresentou um teor de 0,0051 mg.kg<sup>-1</sup> de leite, acima do limite proposto pela Europäischen Gemeinschaften, 1993, de 0,004 mg.kg<sup>-1</sup> de leite enquanto nas amostras do grupo não exposto, aproximadamente 60% apresentaram teores acima deste limite. Os teores encontrados para o  $\beta$  HCH, nas amostras do grupo exposto, apresentaram valores bastante elevados e ao compará-los com os valores de limites

máximos para leite estabelecidos pela Europäischen Gemeinshafte, de  $0,003 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite, verificou-se teores equivalentes a 4 vezes este LMR e com maior valor, chegando a um valor crítico de 50 vezes o LMR/ Europäischen Gemeinshafte, enquanto para o grupo não exposto, os valores encontrados não ultrapassaram 3 vezes este LMR.

Comparando-se os resultados do presente trabalho com os valores apresentados por outros autores (**Tabela 4**, Capítulo 3), observa-se que os valores de  $\alpha$  HCH encontrados tanto para o grupo exposto, quanto o não exposto, são superiores aos dados obtidos no Brasil em áreas rurais, entretanto, são inferiores aos dados apresentados para países que ainda utilizam o HCH, como a Índia e a Turquia. Os valores encontrados para o  $\beta$  HCH do grupo exposto, são bem superiores aos dados nacionais disponíveis na literatura e os valores encontrados para o grupo não exposto, foram inferiores a estes dados disponíveis. De um modo geral, tanto o grupo exposto, quanto o grupo não exposto, apresentaram valores superiores aos nacionais, para o Lindano( $\gamma$  HCH).

Com relação a contaminação das amostras com DDT, verifica-se que todas as amostras analisadas, tanto do grupo exposto, quanto do grupo não exposto, apresentaram valores positivos de concentrações para p,p' DDE, com valores variando de  $0,0020$  a  $0,1412 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite ( $0,0557$  a  $4,2257 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura), para o leite das mães expostas e de  $0,0029$  a  $0,0191 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite ( $0,0796$  a  $0,5412 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura), para o leite de mães não expostas. Das 14 amostras analisadas, apenas 4 apresentaram valores positivos para p,p'DDD, todas pertencentes ao grupo de expostas, com valores de  $0,0040$  a  $0,0086 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite ( $0,1138$  a  $0,2405 \text{ mg.kg}^{-1}$  de gordura). Todas as amostras de leite das mães expostas apresentaram resultados positivos para p,p'DDT, cujos valores variaram de  $0,0019$  a  $0,0285 \text{ mg.kg}^{-1}$  de leite ( $0,0530$  a

0,8030 mg.kg<sup>-1</sup> de gordura) e apenas uma amostra do grupo de mães não expostas apresentou resultado positivo de 0,0029 mg.kg<sup>-1</sup> de leite (0,0813 mg.kg<sup>-1</sup> de gordura).

Avaliando-se estatisticamente os pares das amostras analisadas de expostas e não expostas, utilizando-se a análise de variância de fator único (ANOVA, P≤0,05), com o objetivo de se avaliar as diferenças entre os grupos, para DDT total, foi encontrada diferença altamente significativa entre os grupos (P=0,006) e para p,p'DDE, também foi encontrada diferença estatisticamente significativa (P=0,008).

O DDE é o principal metabólito do DDT e o mais persistente e portanto, é o encontrado em maiores concentrações em amostras de leite, conforme exemplificado na **Tabela 4**, Capítulo 3. O DDT é metabolizado para DDD e então para DDE. O tempo para o DDT ser metabolizado para DDE é de aproximadamente um ano (Jonsson et al., 1977 *apud* Matuo et al., 1992).

Estudos experimentais e epidemiológicos mostram que a razão DDE/DDT aumenta com o tempo após a exposição. A presença do DDE nas amostras reflete a exposição prévia ao DDT. A ausência de DDT nas amostras de leite sugere que não houve exposição recente ao DDT. Normalmente, valores elevados de DDT são encontrados em amostras provenientes de áreas agrícolas, ou exposição ao DDT em programas de combate a vetores (Saleh et al., 1996; Çok et al., 1997). Todos os valores de DDE encontrados nas amostras analisadas foram superiores aos valores encontrados para o p,p'DDT, com razões DDE/DDT variando de 1,05 a 23,73 conforme apresentados na **Tabela 19**.

A ausência dos isômeros o,p' (DDE, DDD,e DDT) está de acordo com as considerações de Martinez et al., 1997, que

atribuem este fato à maior estabilidade química e metabólica dos isômeros p,p' em relação aos isômeros o,p', no meio ambiente.

Ao avaliar-se os dados obtidos para o DDT, observou-se que dos valores encontrados, apenas duas amostras apresentaram resultados superiores aos limites máximos preconizados pelo Codex Alimentarius Commission, 1996 e Europäischen Gemeinschaften, 1993, enquanto que todos os resultados das amostras do grupo não exposto, foram inferiores a estes limites.

Comparando-se os resultados encontrados para DDT com os apresentados por outros autores, nota-se que os valores encontrados neste trabalho são compatíveis com os reportados para áreas rurais nacionais e para a África (Chikuni et al., 1997; Çok et al., 1997).

**Tabela 19: Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de leite materno em mg.kg<sup>-1</sup> de leite**

Amostr a	Idade mãe	Tempo de lactaçã o	Nº gestaç ões	Pestic idas												
				α HCH	β HCH	Linda no	δ HCH	HCH	o,p'DDE	p,p'DD E	o,p'DD D	p,p'DD D	o,p'DD T	p,p'DD T	DDTt.	DDE/DD T
01E	34	1a 2m	2	nd	0,0404	0,0124	nd	0,0404	nd	0,1412	nd	nd	nd	0,0189	0,1601	7,47
02E	19	3m	1	0,0036	0,0827	0,0034	nd	0,0863	nd	0,0309	nd	nd	nd	0,0065	0,0374	4,75
03E	22	11m	1	0,0018	0,0591	0,0054	nd	0,0609	nd	0,0973	nd	nd	nd	0,0041	0,1014	23,73
04E	41	2a	8	nd	0,0110	0,0095	nd	0,011	nd	0,0020	nd	nd	nd	0,0019	0,0039	1,05
05E	20	11m	2	0,0024	0,0515	0,0041	nd	0,0539	nd	0,0357	nd	0,0070	nd	0,0077	0,0504	4,640
06E	17	7m	1	0,0051	0,0580	nd	nd	0,0631	nd	0,0733	nd	0,0040	nd	0,0061	0,0834	12,02
07E	18	1a 4m	1	0,0038	0,1519	nd	nd	0,1557	nd	0,1288	nd	0,0086	nd	0,0285	0,1659	4,52
08NE	24	1a 1m	2	0,0037	0,0081	0,0077	nd	0,0118	nd	0,0050	nd	nd	nd	nd	0,0050	
09NE	35	2m	2	0,0075	0,0020	0,0025	nd	0,0095	nd	0,0039	nd	nd	nd	nd	0,0039	
10NE	28	6m	3	0,0059	nd	0,0016	nd	0,0059	nd	0,0062	nd	nd	nd	nd	0,0062	
11NE	20	4m	1	0,0054	0,0060	0,0062	nd	0,0114	nd	0,0170	nd	nd	nd	nd	0,0170	
12NE	37	5m	1	0,0020	0,0057	0,0007	nd	0,0077	nd	0,0191	nd	nd	nd	nd	0,0191	
13NE	35	4m	3	0,0064	0,0040	0,0054	nd	0,0104	nd	0,0084	nd	nd	nd	nd	0,0084	
14NE	19	1a 5m	2	0,0016	0,0006	0,0030	nd	0,0022	nd	0,0029	nd	nd	nd	0,0029	0,0058	

nd - não detectado até o limite de determinação do método em mg.kg<sup>-1</sup> de leite (0,0004)

E - Amostras de leite materno de mães expostas (residentes na Cidade dos Meninos)

NE - Amostras de leite materno de mães não expostas (residentes afastadas da Cidade dos Meninos)

HCH -soma dos isômeros

α+β+δ

DDT t. - o,p' e p,p' DDE + o,p' e p,p'

DDD + o,p' e p,p' DDT

Os resultados correspondem ao valor médio de 2 determinações

**Tabela 20: Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de leite materno em mg.kg<sup>-1</sup> de gordura**

Amostr a	Idade mãe	Tempo de lactaçã o	N° gestaç ões	Pestic idas											
				α HCH	β HCH	Linda no	δ HCH	HCH	o,p'DDE	p,p'DD E	o,p'DD D	p,p'DD D	o,p'DD T	p,p'DD T	DDT t
01E	34	1a 2m	2	nd	1,1481	0,3512	nd	1,1481	nd	4,2257	nd	nd	nd	0,5639	4,7896
02E	19	3m	1	0,1000	2,3298	0,0948	nd	2,4298	nd	0,8784	nd	nd	nd	0,1842	1,0626
03E	22	11m	1	0,0517	1,6791	0,1527	nd	1,7308	nd	2,7640	nd	nd	nd	0,1160	2,88
04E	41	2a	8	nd	0,3148	0,2712	nd	0,3148	nd	0,0557	nd	nd	nd	0,0530	0,1087
05E	20	11m	2	0,0673	1,4655	0,1159	nd	1,5328	nd	1,0163	nd	0,1983	nd	0,2180	1,4326
06E	17	7m	1	0,1467	1,6628	nd	nd	1,8095	nd	2,1001	nd	0,1138	nd	0,1749	2,3888
07E	18	1a 4m	1	0,1062	4,2742	nd	nd	4,3804	nd	3,6264	nd	0,2405	nd	0,8030	4,6699
08NE	24	1a 1m	2	0,1023	0,2318	0,2245	nd	0,3341	nd	0,1391	nd	nd	nd	nd	0,1391
09NE	35	2m	2	0,2144	0,0557	0,0720	nd	0,2701	nd	0,1125	nd	nd	nd	nd	0,1125
10NE	28	6m	3	0,1650	nd	0,0427	nd	0,165	nd	0,1712	nd	nd	nd	nd	0,1712
11NE	20	4m	1	0,1523	0,1713	0,1734	nd	0,3236	nd	0,4799	nd	nd	nd	nd	0,4799
12NE	37	5m	1	0,0548	0,1614	0,0179	nd	0,2162	nd	0,5412	nd	nd	nd	nd	0,5412
13NE	35	4m	3	0,1828	0,1153	0,1555	nd	0,2981	nd	0,2399	nd	nd	nd	nd	0,2399
14NE	19	1a 5m	2	0,0436	0,0170	0,0855	nd	0,0606	nd	0,0796	nd	nd	nd	0,0813	0,1609

nd - não detectado até o limite de determinação do método em mg.kg<sup>-1</sup> de leite (0,0004.)

E - Amostras de leite materno de mães expostas (residentes na Cidade dos Meninos)

NE - Amostras de leite materno de mães não expostas (residentes afastadas da Cidade dos Meninos)

HCH -soma dos

isômeros α+β+δ

DDT t. - o,p' e p,p' DDE + o,p' e p,p'

DDD + o,p' e p,p' DDT

Os resultados correspondem ao valor médio de 2 determinações



#### 6.2.2.1 – Relação das concentrações de organoclorados com a idade e o número de gestações

A literatura sobre contaminantes em amostras de leite de primíparas é contraditória. Enquanto alguns autores afirmam que as primíparas tem maior concentração de organoclorados, outros afirmam que, a concentração dos resíduos destes compostos é maior de acordo com o aumento da idade da mulher (Krauthacker, 1991).

Assumindo que a lactação pode ser um fator importante de eliminação de compostos organoclorados do corpo da mulher, tem-se procurado responder como o número de lactações afeta os níveis de organoclorados excretados pelo leite materno. Czaja et al, 1997b, não observaram decréscimo de concentração média de organoclorados em múltiparas, comparando com as concentrações encontradas nas primíparas.

Amostras de mulheres com maior número de gestações, seguidas de lactação, mostraram maiores concentrações de DDT e metabólitos. Estas doadoras, entretanto, eram as de maior idade no grupo pesquisado. As mulheres mais velhas, provavelmente, apresentam maiores concentrações de compostos organoclorados, devido à exposição mais longa durante a vida (Brunetto et al., 1996; Czaja et al., 1997b).

As diferenças de concentrações de organoclorados em diferentes estudos, no leite materno, podem ser atribuídas a fatores simultâneos tais como: idade, número de gestações, peso corpóreo, hábitos de dieta e período da coleta. Neste trabalho, não foi viável relacionar os dados obtidos com a idade e o número de gestações das doadoras, tendo em vista a heterogeneidade dos diversos fatores, já citados, que influenciam na concentração dos organoclorados.

### 6.2.3 – Avaliação da Ingestão diária estimada (IDE)

Os resultados de concentrações de organoclorados, obtidos pelas análises das amostras de leite, nos permitem estimar a ingestão diária destes contaminantes provenientes da ingestão deste alimento e compará-las com as ingestões diárias aceitáveis (IDA) estabelecidas pela FAO/WHO (Codex Alimentarius, 1996), para o Lindano e DDT total. Para os isômeros  $\alpha$  e  $\beta$  HCH, não são estabelecidas IDAs pela FAO/WHO, sendo portanto, utilizados os valores propostos para estes isômeros por Hapke, 1983 *apud* Herrera et al., 1996.

#### 6.2.3.1 – Leite de vaca

Para o cálculo da ingestão diária estimada (IDE em mg/kg peso corpóreo/dia), utilizou-se a quantidade média de leite ingerido por dia, publicada pelo Ministério da Saúde/INAN (INAN,1996), de 0,417 kg., correspondente à ingestão diária de 0,00695 kg de leite /kg de peso corpóreo/dia, para um adulto pesando 60kg.

Os resultados de IDE, para as substâncias de interesse, a partir das amostras de leite de vaca, estão apresentados na **Tabela 21**.

Avaliando-se os resultados de IDE, calculados para as amostras analisadas, constatou-se que a contribuição do leite de vaca para a ingestão diária dos organoclorados pesquisados, não ultrapassa os valores de IDAs estabelecidos.

**Tabela 21:** Valores de IDE em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia, calculados para amostras de leite de vaca

Amostra	$\alpha$ HCH -IDA(5) <sup>a</sup>			$\beta$ HCH -IDA(1) <sup>a</sup>			$\gamma$ HCH -IDA(8) <sup>b</sup>			$\Sigma$ DDT -IDA(20) <sup>b</sup>		
	Conc. <sup>c</sup>	IDE <sup>d</sup>	%IDA	Conc. <sup>c</sup>	IDE <sup>d</sup>	%IDA	Conc. <sup>c</sup>	IDE <sup>d</sup>	%IDA	Conc. <sup>c</sup>	IDE <sup>d</sup>	%IDA
1E	2,5	0,017	0,34	13	0,090	9,00	nd	-	-	0,6	0,004	0,02
2E	2,5	0,017	0,34	3,9	0,027	2,70	nd	-	-	2,2	0,015	0,08
3E	4,2	0,029	0,58	12,4	0,086	8,60	nd	-	-	5,7	0,040	0,20
4E	33,7	0,234	4,68	17,8	0,124	12,40	nd	-	-	1,8	0,013	0,07
5NE	0,7	0,005	0,10	nd	-	-	nd	-	-	nd	-	-
6NE	1,3	0,009	0,18	nd	-	-	nd	-	-	1,6	0,011	0,06
7NE	nd	-	-	nd	-	-	3,6	0,025	0,31	0,5	0,003	0,02
8NE	nd	-	-	7,9	0,055	5,5	nd	-	-	1,6	0,011	0,06

a - Hapke, 1983 apud Herrera et al., 1996, em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia

b - FAO/OMS - Codex Alimentarius, 1996, em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia

c - Concentração encontrada em  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de leite

d - Ingestão diária estimada, em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia

E - Amostras de leite de vacas expostas (Área da Cidade dos Meninos)

NE - Amostras de leite de vacas não expostas (Afastadas da Cidade dos Meninos)

#### 6.2.3.2 – Leite materno

Para o cálculo da ingestão diária estimada (IDE em mg/kg peso corpóreo/dia), utilizou-se a quantidade média de 120 g de ingestão de leite materno/kg de peso corpóreo/dia (OMS, 1992), podendo assim, estimar-se a absorção aproximada do contaminante em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corpóreo/dia e então comparar o resultado com a IDA correspondente.

Os resultados de IDE, obtidos para as amostras de leite materno, estão apresentados na **Tabela 22**.

A contribuição do leite materno para a ingestão diária de  $\alpha$  e  $\gamma$  HCH, não ultrapassa 18,6% das IDAs estabelecidas, entretanto as IDEs apresentadas na **Tabela 22** mostram valores críticos para o  $\beta$  HCH, no grupo exposto, variando de 1,3 a quase 20 vezes o valor da IDA, enquanto no grupo de amostras de não expostas, a IDA não foi ultrapassada. A IDE calculada para o DDT atingiu níveis máximos de quase 100% da IDA para duas amostras do grupo exposto; para as outras amostras, variou de 2,3 a 68% da IDA. Para as amostras do grupo não exposto, a IDE não ultrapassou 11,5% da IDA.

Os níveis de IDAs, estabelecidos pela FAO/WHO (Codex Alimentarius Commission, 1996), para pesticidas são baseados na ingestão da dieta de adultos, mas têm sido igualmente aplicados com base na ingestão em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corpóreo/dia para dietas infantis.

Os bebês consomem leite materno apenas por um período de suas vidas portanto, o uso das IDAs, baseadas no consumo do período vital, pode não ser adequado. A esta incerteza, deve ser

adicionado o efeito da imaturidade funcional e estrutural do sistema de órgãos e corpóreo das crianças.

As autoridades de saúde geralmente concluem que apesar dos danos por pesticidas terem sido demonstrados, os benefícios da amamentação com leite materno ainda sobrepõem estas possíveis desvantagens (Monheit & Luke, 1990).

As prováveis consequências para a saúde das crianças, alimentadas com leite humano e de vaca contaminados, não foram estabelecidas. A presença de muitos problemas de saúde, tais como a desnutrição, as infecções e as parasitoses, podem interferir nas observações e dificultar a determinação do efeito direto dos pesticidas (Melo & Vallejo, 1990).

Os resultados de um estudo realizado por Rogan et al., 1991 sugerem que, apenas níveis extremos de contaminantes no leite materno representam maior perigo do que favorecem a amamentação, porém recomendam que as considerações clínicas devam sobrepor a esta conclusão.

Segundo este estudo, crianças alimentadas com leite materno, mesmo as que consomem leite com doses elevadas de contaminantes, tem menor risco de certas categorias de morte e portanto, maior expectativa de vida. Entretanto, neste estudo pode ter sido subestimado o risco de câncer, pois só foi considerada a exposição por 2 meses e vida até 65 anos, tendo sido ignorado o fato de que as crianças possuem mais células “replicantes”, que podem ser danificadas se o agente da exposição for um iniciador e têm um longo período para expressar o risco de câncer (Rogan et al., 1991).

A amamentação tem benefícios substanciais, incluindo os psicológicos, imunológicos e a promoção geral da saúde. Em

muitos países, a amamentação confere benefícios mensuráveis tais como, o decréscimo na taxa de doenças infecciosas e aumento da taxa de crescimento e desenvolvimento. Apesar de haver uma preocupação de que a exposição aos pesticidas possa acarretar potenciais efeitos adversos à saúde, é importante reconhecer que os benefícios são claros e têm sido demonstrados (National Research Council, 1993).

**Tabela 22:** Valores de IDE em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia, calculados para amostra de leite materno

Amostra	$\alpha$ HCH -IDA(5) <sup>a</sup>			$\beta$ HCH -IDA(1) <sup>a</sup>			$\gamma$ HCH -IDA(8) <sup>b</sup>			$\Sigma$ DDT -IDA(20) <sup>b</sup>		
	Conc. <sup>c</sup>	IDE <sup>d</sup>	%IDA	Conc. <sup>c</sup>	IDE <sup>d</sup>	%IDA	Conc. <sup>c</sup>	IDE <sup>d</sup>	%IDA	Conc. <sup>c</sup>	IDE <sup>d</sup>	%IDA
1E	nd	-	-	40,4	4,848	484,8	12,4	1,488	18,60	160,1	19,212	96,06
2E	3,6	0,432	8,64	82,7	9,924	992,4	3,4	0,408	5,10	37,4	4,488	22,44
3E	1,8	0,216	4,32	59,1	7,092	709,2	5,4	0,648	8,10	101,4	12,168	60,84
4E	nd	-	-	11,0	1,320	132,0	9,5	1,140	14,25	3,9	0,468	2,34
5E	2,4	0,288	5,76	51,5	6,180	618,0	4,1	0,492	6,15	50,4	6,048	30,24
6E	5,1	0,612	12,24	58	6,960	696,0	nd	-	-	83,4	10,008	50,04
7E	3,8	0,456	9,12	151,9	18,228	1822,8	nd	-	-	165,9	19,908	99,54
8NE	3,7	0,444	8,88	8,1	0,972	97,20	7,7	0,924	11,55	5,0	0,600	3,00
9NE	7,5	0,900	18	2,0	0,240	24,00	2,5	0,300	3,75	3,9	0,468	2,34
10NE	5,9	0,708	14,16	-	-	-	1,6	0,192	2,40	6,2	0,744	3,72
11NE	5,4	0,648	12,96	6,0	0,720	72,00	6,2	0,744	9,30	17,0	2,040	10,20
12NE	2,0	0,240	4,80	5,7	0,684	68,40	0,7	0,084	1,05	19,1	2,292	11,46
13NE	6,4	0,768	15,36	4,0	0,480	48,00	5,4	0,648	8,10	8,4	1,008	5,04
14NE	1,6	0,192	3,84	0,6	0,072	7,20	3,0	0,360	4,50	5,8	0,696	3,48

a - Hapke, 1983 apud Herrera et al., 1996, em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia

b - FAO/OMS - Codex Alimentarius, 1996, em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia

c - Concentração encontrada em  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  de leite

d - Ingestão diária estimada, em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corpóreo/dia

E - Amostras de leite materno de mães expostas (Residentes na Cidade dos Meninos)

NE - Amostras de leite materno de mães não expostas (Residentes afastadas da Cidade dos Meninos)

## 7 – CONCLUSÕES

---

- ✧ O método analítico selecionado apresentou-se adequado para as determinações dos pesticidas de interesse, sendo seletivo, exato e preciso e com sensibilidade suficiente para a quantificação das amostras. O uso da extração em fase sólida permitiu redução de custos e rejeito químico.
- ✧ As amostras de leite de vaca da Cidade dos Meninos, apresentaram contaminações significantes do  $\beta$  HCH, compatíveis com o esperado, uma vez que este é o isômero mais estável, acumulando-se mais nos organismos vivos.
- ✧ Embora os resultados encontrados para o DDT, nas amostras de leite de vaca, não tenham sido significativamente diferentes entre o grupos exposto e não exposto, estes confirmam a exposição anterior ao DDT e a persistência do p,p' DDE, uma vez que este foi o único metabólito encontrado.
- ✧ As amostras de leite materno das doadoras da Cidade dos Meninos, apresentaram contaminação altamente significativa para o  $\beta$  HCH, atingindo valores de até 20 vezes a IDA estabelecida, enquanto as amostras das doadoras de outras localidades, a IDA não foi ultrapassada.
- ✧ Também foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, entre os grupos de amostras de mães expostas e não expostas, para o metabólito p,p' DDE e  $\Sigma$ DDT, entretanto, a



ingestão diária estimada para DDT, não ultrapassou o valor da IDA estabelecida.

- ✧ A menor contaminação das amostras de leite de vaca em relação às de leite materno analisadas, pode ser atribuída ao processo da biomagnificação, que acarreta maior concentração no leite materno do que no leite de vaca, tendo em vista que o ser humano está no topo da cadeia alimentar e, portanto, acumula maiores concentrações de resíduos, do que os animais que estão localizados nos níveis tróficos inferiores.
- ✧ As crianças amamentadas com leite materno requerem uma consideração especial, em circunstâncias em que a contaminação do leite materno é suspeitada ou confirmada. As crianças pequenas possuem a característica de serem dependentes de leite e a estrutura e o desenvolvimento de seus órgãos e tecidos, são adaptados ao leite de sua própria espécie. O risco potencial da exposição a substâncias químicas presentes no leite materno deve ser avaliado considerando-se os benefícios da amamentação com este leite e a desvantagem da alimentação com um leite alternativo.
- ✧ Sugere-se o acompanhamento das crianças residentes na Cidade dos Meninos, para determinar os possíveis efeitos da exposição às substâncias estudadas na puberdade e a capacidade reprodutiva, e ainda, se outros sistemas de órgãos tiverem sido afetados devem, se possível, ser efetuados estudos prospectivos, para avaliar o desenvolvimento funcional, a morbidade e a mortalidade, de acordo com as recomendações da OMS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- ALMEIDA, M. E. W. & BARRETO, H. H. C. B., 1971. Resíduos de pesticidas clorados em leite, consumido em São Paulo. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 31: 13 – 20.
- AYOTTE, P.; DEWAILLY, E.; BRUNEAU, S.; CAREAU, H. & VÉZINA, A., 1995. Air pollution and human health: what effects should be expected? *Science of the Total Environment*, 160/161: 529 – 537.
- BAIRD, C., 1995. Toxic organic chemical. In: *Environmental chemistry*, pp. 215 – 230, New York: W.H. Freeman and Company.
- BANERJEE, B. D.; ZAIDI, S. S. A.; PASHA, S. T.; RAWAT, D. S.; KONER, B. C. & HUSSAIN, Q. Z., 1997. Levels of HCH in human milk sample from Dehli, India. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 403 – 406.
- BASTOS, H. L.; DIAS, A. E. O. & OLIVEIRA, R. M., 1997. *Hexachlorociclohexane (HCH) case study: Cidade dos Meninos, Duque de Caxias, RJ – Brazil*. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública. (Apresentação oral durante o International Workshop on Organic Micropollutants in the Environment no Instituto de Biofísica Carlos Chagas da UFRJ em abril de 1997).
- BENN, F. R. & MC AULIFFE, C. A., 1981. Pesticidas e poluição. In: *Química e poluição*, pp. 41 – 66, São Paulo: Editora Universidade de São Paulo.
- BERETTA, M. & DICK, T., 1994. Organochlorine compounds in human milk, Porto Alegre, Brasil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 53: 357 – 360.
- BIGSBY, R. M.; CAPARELL-GRANT, A & MADHUKAR, B. V., 1997. Xenobiotics released from fat during fasting produce estrogenic effects in ovariectomized mice. *Cancer Research*, 57: 865 – 869.

- BIJOS, G. M., 1961. Cinco anos entre os sanitaristas. *Revista de Química e Farmácia*, 26 (6): 13 – 79.
- BRAGA, A. M. C. B., 1996. *Contaminação ambiental por hexaclorociclohexano: Estudo da exposição de escolares na Cidade dos Meninos, Duque de Caxias, Rio de Janeiro*. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública – Subárea de concentração: Toxicologia, Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública. 101pp.
- BRAGA, A. M. C. B.; MEIRELLES, L. C. & AIBUQUERQUE, H., 1997. Environmental contamination by hexachlorocyclohexane of residents in a large area of Rio de Janeiro, Brazil. In: *Hazardous waste: Impacts on human and ecological health* (B. L. Johnson, C. Xintaras & J. S. Andrews Jr., eds.) pp. 223 – 227, Princeton: US Department of Health and Human Services.
- BRASIL. Lei nº 7802/89, de 11 de julho de 1989. Regulamentada pelo Decreto nº 98816/90. Dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins. *Diário Oficial[da] República Federativa do Brasil*, 12 jul. 1989.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 329/85 - MA de 02 de setembro de 1985. Proíbe a comercialização, o uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos, salvo exceções. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 3 set. 1985.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Sanitária Vegetal, 1984. Portaria nº 29/84 – SDSV/MA de 14 de setembro de 1984. Cancela os registros de DDT. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 18 set. 1984.
- BROOKS, G. T., 1974. Gamma – 1,2,3,4,5,6, - hexachlorocyclohexane. In: *Chlorinated insecticides v.1. Technology and application*. pp. 185 - 202, Cleveland: CRC Press Incorporated.
- BRUNETTO, R.; LEÓN, A.; BURGUERA, J. L. & BURGUERA, M., 1996. Levels of DDT residues in human milk of Venezuelan women from various rural populations. *The Science of the Total Environment*, 186: 203 – 207.

- CAXIAS remove pó de broca e examina vítima, 1989. *Jornal do Brasil*, Rio de Janeiro, 4 ago.
- CHASIN, A. A. M.; CHASIN, M. & SALVADORI, M. C., 1994. Validação de métodos cromatográficos em análises toxicológicas. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, 30 (2): 49 – 53.
- CHEREMISINOFF, N. P. & KING, J. A., 1994. Solid organochlorine insecticides. In: *Toxic properties of pesticides. Part I. Regulations and safety*. pp. 51 – 60, New York: Marcel Dekker Incorporated.
- CHIKUNI, O.; POLDER, A.; SKAARE, J. U. & NHACHI, C. F. B., 1997. An evaluation of DDT and DDT residues in human breast milk in Kariba Valley of Zimbabwe. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 58: 776 – 778.
- CIDADE dos Meninos, 1997. *O Globo*, 16 set.
- COCCO, P. L., 1997. Environmental exposure to p,p' DDE and human fertility. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 59: 677 – 680.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 1984. *Guide to Codex recommsendations concerning pesticide residues. Part1. General notes and guidelines*. The Hague: Codex Alimentarius Commission (Report CAC/PRI-1984) *apud* WHO (World Health Organization), 1990. *Public health impact of pesticides used in agriculture*. WHO. 128 pp.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 1996. *Codex alimentarius. v. 2B. Pesticide residues in food – Maximum residue limits*. 2. ed. rev. Rome: FAO/WHO. 301 pp.
- ÇOK, I.; BILGILI, A.; ÖZDEMİR, M.; ÖZBEK, H.; BIGILI, N. & BURGAZ, S., 1997. Organochlorine pesticide residues in human breast milk from agricultural regions of Turkey, 1995-1996. *Bulletin of Environmetal Contamination and Toxicology*, 59: 577 – 582.

- ÇOK, I.; BILGILI, A.; YARSAN, E. ; BAGCI, C.; BURGAZ., 1998. Organochlorine pesticide residue levels in human adipose tissue of residents of Manisa (Turkey), 1995 – 1996. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61: 311-316.
- CONACHER, H. B. S., 1990. Validation of methods used in crisis situation task force report. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 73 (2): 332 – 334.
- CULLEN, M . C. & CONNEL, D. W., 1994. Pesticide bioaccumulation in cattle. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 28: 221-231.
- CURLEY, A.; COPELAND, R. & KIMBROUGH, R. D., 1969. Chlorinated hydrocarbon insecticides in organs of stillborn and blood of new-born babies. *Archives of Environmental Health*, 19: 628 –632.
- CZAJA, K.; LUDWICKI, J. K.; GÓRALCZYK, K. & STRUCINSKI, P., 1997 a . Organochlorine pesticides, HCB, and PCBs in human milk in Poland. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 58: 769-775.
- CZAJA, K.; LUDWICKI, J. K.; GÓRALCZYK, K. & STRUCINSKI, P., 1997 b . Effect of age and number of deliveries on mean concentration of organochlorine compounds in human breast milk in Poland. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 407 – 413.
- DASTON, G. P.; GOOCH, J. W.; BRESLIN, W. J.; SHUEY, D.L.; NIKIFOROV, A. L.; FICO, T. A. & GORSUCH, J.W., 1997. Environmental estrogens and reproductive health: a discussion of the human and environmental data. *Reproductive Toxicology*, 11 (4): 465 – 481.
- DFG ( Deutsche Forschungsgemeinschaft), 1987. Limits of detection and determination. In: *Manual of pesticide residue analysis. Part 1. Introduction and instructions* (H. – P. Thier & H. Zeumer, eds.), v.1, pp. 37 – 44, Weinheim: VCH.

- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), 1992. Derivation of the limits of detection and determination applying the calibration curve concept. In: *Manual of pesticide residue analysis. Part I. Introduction and instructions* ( H. P. Thier & J. Kirchhoff, eds. ), v. 2, pp. 1-23. New York: VCH.
- DICH, J.; ZAHM, S. H.; HANBERG, A. & ADAMI, H. O., 1997. Pesticide and cancer. *Cancer Causes Control*, 8 (3): 420-443.
- DOGHEIM, S. M. ; EL-SHAFEEY, M.; AFIFI, A. M. H. & ABDEL-ALLEN, F.E., 1991. Levels of pesticide residues in Egyptian human milk samples and infant dietary intake. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 74 (1): 89 – 91.
- DWARKA, S.; HARRISON, D. J.; HOODLESS, R. A.; LAWN, R.E. & MERSÓN, G. H.J., 1995. Organochlorine compound residues in human milk in the United Kingdom 1989-1991. *Human & Experimental Toxicology*, 14: 451 –455.
- ECOBICHON, D. J., 1991. Toxic effects of pesticides. In: *Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons*. ( M.O. Amdur, J. Doull & C. D. Klaassen, eds.), 4.ed. pp. 565 – 622, New York: McGraw – Hill.
- EDWARDS, C. A., 1994. Pesticides as environmental pollutants. In: *World Directory of Pesticides Control Organizations*. 2. ed. pp. 1 – 23, United Kingdom: Crop Protection Publications.
- EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN, 1993. Richtlinie 93/57/EWG des Rates vom 29. Juni: 1993 zur Änderung der Anhänge der Richtlinien 86/362/EWG und 86/363/EWG über die Festsetzung von Höchstgehalten an Rückständen von Schädlingsbekämpfungsmitteln auf und in Getreide sowie Lebensmitteln tierischen Ursprungs. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, Nr. L 211/1 – L211/5.
- FAO ( Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura Y la Alimentación), 1986. *Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas*. Roma: FAO. 31pp.

- FDA ( Food and Drug Administration), 1996. *Pesticide analytical manual: vol . I. Multiresidue methods*. 3. ed. rev. pp. 504–1 – 504–15. s.l.: FDA.
- FDA Monitoring Program. Residue monitoring 1992, 1993. *Journal of AOAC International*, 76 (5): 127 A – 148A.
- FDA Monitoring Program. Residue monitoring 1993, 1994. *Journal of AOAC International*, 77 (5): 161A – 185A.
- FEEMA ( Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente coord.), 1991. *BHC abandonado na Cidade dos Meninos – município de Duque de Caxias/RJ: Coletânea de documentos*. Rio de Janeiro: CECAB, FEEMA.
- FEEMA recolhe hoje pó tóxico de Caxias, 1989. *Última Hora*, Rio de Janeiro, 4 ago.
- FILLION, J. & THORP, J., 1995. *Multipesticide residue analysis utilizing SIM GC/MSD: Application note 228 – 348*, s.l.: Hewlett – Packard Company. 12 pp.
- FRANCHI, E. & FOCARDI, S., 1991. Polychlorinated biphenyl congeners. Hexachlorobenzene and DDTs in human milk in Central Italy. *The Science of Total Environment*, 102: 223 – 228.
- FRANCO, G. 1982. Tabela 1 – Composição química de alimentos. In: *Nutrição: Texto básico e tabela de composição química de alimentos*. p. 157, Rio de Janeiro: Atheneu.
- FUKUTO, T. R. & SIMS, J. J., [19--]. Metabolism of insecticides and fungicides. In: *Pesticides in the environment*. (R. White-Stevens, ed.) pp. 145 – 236, New York: Marcel Dekker Incorporated.
- GARRIDO, M. D.; JODRAL, M. & POZO, R., 1994. Organochlorine pesticides in Spanish sterilized milk and associated health risks. *Journal of Food Protection*, 57 (3): 249 – 252.

- GILLESPIE, A.; DALY, S. L.; GILVYDIS, D. M.; SCHENEIDER, F. & WALTERS, S. M., 1995. Multicolumn solid – phase extraction cleanup of organochlorine pesticide residues in vegetable oils and butter fat. *Journal of AOAC International*, 78 (2): 431 – 437.
- GREEN. J. M., 1996. A practical guide to analytical method validation. *Analytical Chemistry*, 68: 305 A – 309 A.
- HAPKE, H. J., 1983. Bioconcentration potential of organic environmental chemicals in humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 6: 613 *apud* HERRERA, A.; ARIÑO, A.; CONCHELLO, P.; LÁZARO, R.; BAYARRI, S.; PEREZ-ARQUILWÉ, C.; GARRIDO, M. D.; JORDRAL, M. & POZO, R., 1996. Estimates of mean daily intakes of persistent organochlorine pesticides from Spanish fatty foodstuffs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56: 173 – 177.
- HASSALL, K. A., 1990. The chemistry and uses of pesticides. 2. ed. New York: VHC Publishers. 536 pp.
- HERNÁNDEZ, L. M.; FERNÁNDEZ, H. A.; JIMÉNEZ, B.; GONZÁLEZ, M. J. & GARCIA, J. F., 1994. Organochlorine pollutants in meats and cow's milk from Madrid ( Spain). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52: 246 – 253.
- HERRERA, A.; ARIÑO, A.; CONCHELLO, P.; LÁZARO, R.; BAYARRI, S.; PEREZ-ARQUILWÉ, C.; GARRIDO, M. D.; JORDRAL, M. & POZO, R., 1996. Estimates of mean daily intakes of persistent organochlorine pesticides from Spanish fatty foodstuffs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56: 173 – 177.
- HOLLINGER, M. A., 1995. Appendices: tables of toxicological importance. In: *CRC handbook of toxicology*. (M.J. Derelanko & M. A. Hollinger, eds.), pp. 855 – 860, Boca Raton: CRC Press Incorporated.
- HORWITZ, W., 1982. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Analytical chemistry*, 54 (1): 67A – 75A.



- HUNTER, D. J.; HANKINSON, S. E.; LADEN, F.; COLDITZ, G. A.; MANSON, J. E.; WILLET, W. C.; SPEIZER, F. E. & WOLFF, M. S., 1997. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *The New England Journal of Medicine*. 337 (18): 1253 – 1258.
- IARC, 1974. *Some organochlorine pesticides*. Lyon: (IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 5) *apud* BRAGA, A. M. C. B.; MEIRELLES, L. C. & AIBUQUERQUE, H., 1997. Environmental contamination by hexachlorocyclohexane of residents in a large area of Rio de Janeiro, Brazil. In: *Hazardous waste: Impacts on human and ecological health* (B. L. Johnson, C. Xintaras & J. S. Andrews Jr., eds.) pp. 223 – 227, Princeton: US Department of Health and Human Services.
- IARC, 1991. *Occupational exposures in insecticide application, and some pesticides*. Lyon: (IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, v.53) *apud* COCCO, P. L., 1997. Environmental exposure to p,p' DDE and human fertility. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 59: 677 – 680.
- INAN (Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição), 1996. *Estudo multicêntrico sobre consumo alimentar: documento final*. [s.l]: INAN. 55 pp.
- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1993. *Summary of toxicological evaluations performed by the Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues [JMPR]*. Geneva: UNEP, ILO, WHO. 39p. (WHO/PCS/94 – 1).
- JENSEN, A.A., 1983. Chemical contaminants in human milk. *Residue Review*, 89: 1 – 128.
- JONSSON, V.; LIU, G. J. K.; AMBRUSTER, I.; KETTELHUT, L. L.; DRUCKER, B., 1977. Chlorohydrocarbon pesticides residues in human milk in Greater St. Louis, Missouri 1977. *American Journal of Clinical Nutrition* , 30: 1106-1109 *apud* MATUO, Y. K.; LOPES, J.N.C.; CASANOVA, I. C.; MATUO, T. & LOPES, J. L. C., 1992. Organochlorine pesticide residues in human milk in Ribeirão Preto region, state of São Paulo, Brazil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22: 167 – 175.

- JUNK, G. A.; AVERY, M. J. & RICHARDS, J. J., 1988. Interferences in solid-phase extraction using C-18 bonded porous silica cartridges. *Analytical Chemistry*, 60: 1347 – 1350.
- KANNAN, K.; TANABE, S.; RAMESH, A.; SUBRAMANIAN, A. & TATSUKAWA, R., 1992. Persistent organochlorine residues in food stuffs from India and their implications on human dietary exposure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 516 – 524.
- KENAGA, E. E., 1974. Factors related to bioconcentration of pesticides. In: *Environmental toxicology of pesticide. Part III. Chlorinated hydrocarbon insecticides in the environment* ( F. Matsumura, G. M. Boush & T. Misato, eds.), pp. 193 – 228, New York: Academic Press.
- KINYAMU, J.K.; KANJA, L. W.; SKAARE, J. U. & MAITHO, T. E., 1998. Levels of organochlorine pesticides residues in Kenya. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60: 732 – 738.
- KLAASSEN, C. D. & ROZMAN, K., 1991. Absorption, distribution, and excretion of toxicants. In: *Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons*. ( M. O. Amdur, J. Doull & C. D. Klaassen, eds.) 4. ed. pp. 50 – 87, New York: Mc Graw – Hill.
- KRAUTHACKER, B., 1991. Levels of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human milk and serum collected from lactating mothers in Northern Adriatic area of Yugoslavia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 46: 797 – 802.
- KRULL, I. S. & SWARTZ, M. E., 1998. Frequently asked questions about analytical method validation. *LC.GC*, 16 (5): 464 – 467.
- LARA, W., 1986. A tolerância tem limites. *Ciência Hoje*, 4 (22): 63 – 64.

- LARA,W.; BARRETO, H.C. & INOMATA, O. N. K., 1983. Níveis de resíduos de pesticidas organoclorados em leite pasteurizado distribuído na cidade de São Paulo de 1979 a 1981. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS, 7, 1983, São Paulo. *Relatório do...*, pp. 127 – 132. São Paulo: IAL.
- LARINI, L., 1993. *Toxicologia*. 2. ed. São Paulo: Manole. 281pp.
- LARSEN, B. R.; TURRIO-BALDASSARRI, L.; NILSSON, T.; IACOVELLA, N.; DIDOMENICO, A.; MONTAGNA, M. & FACCHETTI, S., 1994. Topic PCB congeners and organochlorine pesticides in Italian human milk. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 28: 1 – 3.
- LOPEZ-CARRILLO, L.; BLAIR, A.; LOPEZ-CERVANTES, M.; CEBRIAN, M.; RUEDA, C.; REYES, R.; MOHAR, A. & BRAVO, J., 1997. Dichlorodiphenyl-trichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case control study from Mexico. *Cancer Research*, 57: 3728-3732 *apud* OLAYA-CONTRERAS, P.; VIELAMIL, J. R.; VALENCIA, H. J. P. & CORTEZ, J. E., 1998. Organochlorine exposures and breast risk in Colombian women. *Cadernos de Saúde Pública*, 14 (supl. 3): 125 –132.
- LOSADA, A.; FERNÁNDEZ, N.; DIEZ, M. J.; TERÁN, M. T.; GARCIA, J. J. & SIERRA, M., 1996. Organochlorine pesticide residues in bovine milk from León (Spain). *The Science of Total Environment*, 181: 133 – 135.
- LOTT, H. M. & BARKER, S., 1993. Matrix solid phase dispersion extraction and gas chromatographic screening of 14 chlorinated pesticides in oysters (*Crassostrea virginica*). *Journal of AOAC International*, 76 (1): 67 – 72.
- MAÑES, J.; FONT, G. & PICÓ, Y., 1993. Evaluation of solid-phase extraction system for determining pesticide residue in milk. *Journal of Chromatography*, 642: 195 – 204.
- MARTIJN, A.; BAKKER, H. & SCHREUDER, R. H., 1993. Soil persistence of DDT, Dieldrin and Lindane over long period. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 178 – 184.

- MARTINEZ, M. P.; ANGULO, R.; POZO, R. & JODRAL, M., 1997. Organochlorine pesticide in pasteurized milk and associated health risks. *Food and Chemical Toxicology*, 35: 621 – 624.
- MATUO, Y. K.; LOPES, J.N.C.; CASANOVA, I. C.; MATUO, T. & LOPES, J. L. C., 1992. Organochlorine pesticide residues in human milk in Ribeirão Preto region, state of São Paulo, Brazil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22: 167 – 175.
- MC COLLISTER, D. D., 1982. Preface. In: *International regulatory aspects for pesticide chemicals*. (G. Vettorazzi & B. M. Radelli – Bevenuti), v. 2, Boca Raton: CRC Press Incorporated.
- MC LACHLAN, M., 1993. Mass balance of polychlorinated biphenyls and other organochlorine compounds in a lactating cow. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 474 – 480.
- MELO, A. V. & VALLEJO, R. M. C., 1990. Resíduos de insecticidas organoclorados en leche humana y de vaca en Colombia. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 108 (3): 220 – 228.
- MENDEZ, A.; MARTINEZ-CASTRO, I. & JUAREZ, M., 1979. Posibilidades de eliminación de los residuos de pesticidas organoclorados de la leche y productos lácteos. *Revista Espanhola de Lecheria*, (114): 213 – 228.
- MENDONÇA, G. A. S., 1998. Measuring exposure to organochlorine pesticides. *Cadernos de Saúde Pública*, 14 (supl.3): 177 – 179.
- METCALF, R. L., [19--]. The chemistry and biology of pesticides. In: *Pesticides in the environment*. (R. White – Stevens, ed. ), v.1, chap. 1, p. 86, New York: Marcel Dekker Incorporated.
- METCALF, R. L., 1955. Benzene hexachloride. In: *Organic insecticides: Their chemistry and mode of action* (R. L. Metcalf), pp. 213 - 231, New York: Interscience Publishers.

- MILLER, J. C. & MILLER, J. N., 1988. Basic statistical methods for analytical chemistry. Part I. Statistics of repeated measurements. A review. *Analyst*, 113: 1351 – 1356.
- MINELLI, E. V. & RIBEIRO, M. L., 1996. DDT and HCH residues in the blood serum of malaria control sprayers. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 57: 691 – 696.
- MONHEIT, B. M. & LUKE, B. G., 1990. Pesticides in breast milk – a public health perspective. *Community Health Studies*, 14 (3): 269 – 273.
- MONTAGUE, P., 1997. *The truth about breast cancer. Part 4.* [ on line ]. Disponível: [http://proteus.me.udel.edu/RACHEL/Rachel \[ 574.htm \]](http://proteus.me.udel.edu/RACHEL/Rachel [ 574.htm ]) [ capturado em 13 ago. 1998].
- MORAES, O. M. G., 1998. *Validação de metodologia analítica.* In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE CONTAMINANTES INORGÂNICOS, 6, SIMPÓSIO SOBRE ESSENCIALIDADE DE ELEMENTOS NA NUTRIÇÃO HUMANA, pp. 42 – 50, 1998. Campinas: ITAL.
- MUKHERJEE, I. & GOPAL, M., 1993. Organochlorine pesticide residues in dairy milk in and around Dehli.. *Journal of AOAC International*, 76 (2): 283 – 286.
- NAIDIN, L. C., 1986. Um mercado sob reserva. *Ciência Hoje*, 4 (22): 53 – 56.
- NAIR, A. & PILLAI, M. K. K., 1992. Trends in ambient levels of DDT and HCH residues in human and the environment of Dehli, India. *The Science of the Total Environment*, 121: 145 – 157.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1993. *Pesticides in the diets of infants and children.* Washington, D. C.: National Academy Press. 386 pp.
- NERIN, C.; TORNÉS, A. K.; DOMEÑO, C. & CACHO, J., 1995. Determination of organochlorine pesticides in animal diet: A comparative study of clean-up procedures. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 352: 364 – 371.

- OLAYA-CONTRERAS, P.; VIELAMIL, J. R.; VALENCIA, H. J. P. & CORTEZ, J. E., 1998. Organochlorine exposures and breast risk in Colombian women. *Cadernos de Saúde Pública*, 14 (supl. 3): 125 –132.
- OLIVEIRA, R. M., 1994. *Estudo da contaminação do solo e pasto causada por hexaclorociclohexano (HCH) na Cidade dos Meninos em Duque de Caxias, RJ*. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública, Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública. 125 pp.
- OMS ( Organización Mundial de la Salud), 1992. *Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en agricultura*. Ginebra: OMS. 128 pp.
- ONG, E. R., 1956. Synthetic organic insecticides, fungicides and repellents. In: *Chemistry and uses of pesticides*. Pp. 189 – 190, New York: Reinhold Publishing Corporation.
- OPAS ( Organización Panamericana de la Salud ), 1982. *Critérios de salud ambiental 9: DDT y sus derivados*. Washington, D.C.: OPAS/OMS. 211 pp. (Publicación Científica, 425).
- PARDIO, V. T.; WALISZEWSKI, S. M.; AGUIRRE, A.A.; CORONEL, H.; BURELO, G. V.; INFANZON, R. M. & RIVERA, J., 1998. DDT and its metabolites in human milk collected in Veracruz City and suburban areas (Mexico). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60: 852 – 857.
- PARKE, D. V., 1981. Preface. In: *International regulatory aspects for pesticide chemicals*. ( G. Vettorazzi & B. M. Radelli – Bevenuti), v. 1, Boca Raton: CRC Press Incorporated.
- PARKER, G. A., 1991. Validation of methods used in the Florida Department of Agriculture and Consumer Services Chemical Residue Laboratory. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 74 (5): 868 – 871.

- PAUMGARTEN, F. J. R., 1997. Potencial health hazards posed by persistent organochlorine pollutants with particular reference to DDT and its metabolites. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública. (Apresentação oral durante o International Workshop on Organic Micropollutants in the Environment, no Instituto de Biofísica Carlos Chagas da UFRJ em abril de 1997).
- PICÓ, Y.; MOLTÓ, J. C.; MAÑES, J. & FONT, G., 1994. Solid phase techniques in the extraction of pesticides and related compounds from foods and soils. *Journal of Microcolumn Separations*, 6: 331 – 359.
- PICÓ, Y.; VIANA, E.; FONT, G. & MAÑES, J., 1995. Determination of organochlorine pesticide content in human milk and infant formulas using solid phase extraction and capillary gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 1610 – 1615.
- PLIMMER, J. R., 1996. Analytical chemistry and the future of pesticides. *Journal of Environmental Science and Health*, B31 (4): 645 – 670.
- PÓ, 1989. *O Globo*, Rio de Janeiro, 4 ago.
- POLISCHUK, S. C.; LESTCHER, R. J.; NORSTROM, R. J. & RAMSAY, M. A., 1995. Preliminary results of fasting on the kinetics of organochlorines in polar bears (*Ursus maritimus*). *The Science of the Total Environment*, 160/161: 465 – 472.
- QUINSEY, P. M.; DONOHUE, D. C. & AHOKAS, J. T., 1995. Persistence of organochlorines in breast milk of women in Victoria, Australia. *Food and Chemical Toxicology*, 33 (1): 49 – 56.
- REDONDO, M. J.; PICÓ, Y.; SERVER-CARRIÓ, J.; MAÑES, J. & FONT, G., 1991. Organochlorine residue analysis of commercial milks by capillary gas chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography*, 14: 597 – 600.

- RICHARDSON, G. H. ed. 1990. Dairy products: Fat in raw milk – Babcock method. Final action 1929. Revised first action 1989. In: *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (K. Helrich, ed.), pp. 812 – 814, Arlington: AOAC.
- ROGAN, W. J.; GLADEN, B. C.; MCKINNEY, J. D.; CARRERAS, N.; HARDY, P.; THULLEN, J.; TINGLESTAD, J. & TULLY, M., 1986. Neonatal effects of transplacental exposure to PCBs and DDE. *Journal of Pediatrics*, 109: 335 – 341.
- ROGAN, W. J.; BLANTON, P. J.; PORTIER, C. J. & STALLARDS, E. 1991. Should the presence of carcinogens in breast milk discourage breast feeding? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 13: 228 – 240.
- SAFE, S. H., 1997. Xenoestrogens and breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 337 (18): 1303 – 1304.
- SALEH, M.; KAMEL, A.; RAGAB, A.-K., 1996. Regional distribution of organochlorine insecticide residues in human milk from Egypt. *Journal of Environmental Science and Health*, B31 (2): 241 – 255.
- SANT'ANA, L. S.; VASSILIEFF, I. & JOKL, L., 1989. Levels of organochlorine insecticides in milk of mothers from urban and rural areas of Botucatu, SP, Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 42: 911 – 918.
- SANTOS, E. C.; RODRIGUES, R. & VILELA, M. A. P., 1988. Parâmetros ambientais de importância na presença de pesticidas clorados no leite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 40 (4): 287 – 293.
- SCHATTENBERG, H. J. & HSU, J-P., 1992. Pesticide residue survey of produce from 1989 to 1991. *Journal of AOAC International*, 75 (5): 925 – 933.
- SCHECTER, A.; TONIOLO, P.; DAÍ, I. C. THUY, L. T. & WOLFF, M. S., 1997. Blood levels of DDT and breast cancer risk among women living in the north of Vietnam. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*.



- SCHENK, F. J. & WAGNER, R., 1995. Screening procedure for organochlorine and organophosphorus pesticide residues in milk using matrix solid phase dispersion (MSPD) extraction and gas chromatographic determination. *Food and Contaminants*, 12 (4): 535 – 541.
- SIMONICH, S. L. & HITES, R. A., 1995. Global distribution of persistent organochlorine compounds. *Science*, 269: 1851 – 1854.
- SIMUVIMA/Alimentos ( Sistema Mundial de Vigilancia del Medio Ambiente – Programa de Vigilancia y Evaluación de la Contaminación de los Alimentos), 1997. *Orientaciones para predecir la ingestión alimentaria de residuos de plaguicidas (revisión)*. Ginebra: OMS. 37 pp.
- SINGH, P. P.; BATTU, R. S.; SINGH, B. & KALRA, R. L., 1993. Fate and interconversion of  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -HCH on gram (*Cicer arietinum* Linn.) plants under subtropical field conditions at Ludhiana, India. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 50: 798 - 801.
- SINGHAL, K. K. & MUDGAL, V. D., 1990. Transfer of organochlorine pesticide (DDT) from feed to milk. *Indian Journal of Dairy Science*, 43 (3): 348 – 350.
- SITARSKA, E.; KLUCINSKI, W.; WINNICKA, A. & LUDWICKI, J., 1991. Residues of organochlorine pesticides in milk gland secretion of cows in perinatal period. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 817 – 821.
- SNVS (Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária). Portaria nº 10/85 – SNVS – MS, de 8 de março de 1985. Atribui à DINAL a elaboração da relação de substâncias com ação tóxica sobre animais ou plantas, cujo registro pode ser autorizado no Brasil, em atividades agropecuárias e em produtos domissanitários. Aprova as monografias técnicas e as classificações toxicológicas das formulações mistas. Atualizada até 30.06.96. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 14 mar. 1985.

- STIJVE, T. & BRAND, E., 1977. A rapid, low cost, small – scale clean-up method for the determination of organochlorine pesticide residues in fats and oils. *Deutsche Lebensmittel – Rundschau*, 73 (2): 41 – 43.
- SUPELCO, 1997. SPE theory. In: *Chromatography products*, pp. 352 – 353, Bellefonte: SUPELCO.
- SUZUKI, T.; ISHIKAWA, K.; SATO, N. & SAKAI, K. I., 1979. Determination of chlorinated pesticides residues in foods. I. Rapid screening method for chlorinated pesticides in milk. *Journal of AOAC International*, 62: 681 – 684.
- SWARTZ, M. E. & KRULL, I. S., 1998. Validação de métodos cromatográficos. *Pharmaceutical Technology*, 2 (3): 12 – 20.
- TALBOTT, E. O; ZBOROWSKI, J. V. & KULLER, L. H., 1997. Organochlorine residues and breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 338: 988 – 989.
- THOMPSON, R. E. (rev.), 1984. *Analytical reference standards and supplemental data: The pesticides and industrial chemicals repository*. pp. 36 – 37. Las Vegas: U.S. Environmental Protection Agency. (EPA – 600 – 4 84 – 082).
- TOMKINS, B. A.; MERRIWEATHER, R. & JENKINS, R., 1992. Determination of eight organochlorine pesticides at low nanogram/liter concentrations in groundwater using filter disk extraction and gas chromatography. *Journal of AOAC International*, 75 (6): 1091 – 1099.
- TOWES, D. W. & MC EWEN, S. A., 1994. Insecticide residues in foods of animal origin: A risk assessment. *Preventive Veterinary Medicine*, 20: 179 – 200.
- ÜSTÜNBAŞ, H. B.; ÖZTÜRK, M. A.; HASANOĞLU, M. A. & DOĞAN, M., 1994. Organochlorine pesticide residues in human milk in Kayseri. *Human & Experimental Toxicology*, 13: 299 – 302.

- VETTORAZZI, G., 1981. BHC ( technical grades). In: *International regulatory aspects for pesticide chemicals. V. 1. Toxicity profiles.*, pp. 9 –10, Boca Raton: CRC Press Incorporated.
- WEST, T. F. & CAMPBELL, G. A., 1952. História y desarrollo. In: *DDT y los modernos insecticidas persistentes.* pp. 1 – 9, Barcelona: Editorial Reverté.
- WHO ( World Health Organization ), 1986. *Principles for evaluating health risks from chemicals during infancy and early childhood: The need for a special approach.* Geneva: WHO. 73 pp. (Enviromental Health Criteria, 59).
- WHO (World Health Organization), 1989. *DDT and its derivatives – environmental aspects.* Geneva: WHO. 98 pp. (Environmental Health Criteria 83).
- WHO (World Health Organization), 1990. *Public health impact of pesticides used in agriculture.* WHO. 128 pp.
- WILLETT, L. B.; O'DONNELL, A. F.; DURST, H. I. & KURZ, M. M., 1993. Mechanisms of movement of organochlorine pesticides from soils to cows via forages. *Journal of Dairy Science*, 76: 1635 – 1744.
- WILLIAMS, G. M., 1981. Epigenetic mechanisms of action of carcinogenic organochlorine pesticide. In: *The pesticide chemist and modern toxicology* (S.K. Bandal, G. J. Marco, L. Golberg & M.L. Leng, eds.), pp. 45- 56, Washington, D.C.: American Chemical Society. (ACS Symposium Series, 160).
- WONG, S. K. & LEE, W. O., 1997. Survey of organochlorine pesticide residues in milk in Hong Kong ( 1993 – 1995). *Journal of AOAC International*, 80 (6): 1332 – 1335.
- ZAMBRONE, F. A., 1986. Perigosa família. *Ciencia Hoje*, 4 (22): 44 – 47.

## ANEXO 1

---

**Questionários A e B aplicados durante a coleta das amostras:**

**Questionário aplicado para a coleta de amostras de leite de vaca**

Data da coleta: _____
Produtor: _____
Local: _____
Quantidade de vacas: _____
Produção diária(litros): _____
Quantidade de amostra: _____

B – Questionário aplicado para a coleta de amostras de leite materno

<i>Data da coleta:</i> _____
<i>Nome da doadora:</i> _____
<i>Endereço:</i> _____
<i>Tempo de residência na Cidade dos Meninos:</i> _____
<i>Nº de gestações:</i> _____
<i>Nº de gestações seguidas de aleitamento:</i> _____

*Tempo de lactação:* \_\_\_\_\_

*Peso da criança:* \_\_\_\_\_