

**Fundação Oswaldo Cruz**  
**Escola Nacional de Saúde Pública**

**Contaminação por Compostos Organoclorados da Água de  
Distribuição da Região Metropolitana do Rio de Janeiro:  
Validação de Metodologia.**

**Sérgio Alves da Silva**

**Agosto/2004**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**Escola Nacional de Saúde Pública**

**Subárea de concentração: SANEAMENTO AMBIENTAL**

**Contaminação por Compostos Organoclorados da Água de  
Distribuição da Região Metropolitana do Rio de Janeiro:  
Validação de Metodologia.**

**Sérgio Alves da Silva**

**Dissertação apresentada à Escola Nacional de Saúde Pública  
da Fundação Oswaldo Cruz, para a obtenção do grau de  
mestre em saúde pública, tendo como orientador o Dr. Dalton  
Marcondes Silva**

**Agosto/2004**

## **Ficha Catalográfica**

**Marilza**

**Gostaria de ter luz suficiente para conseguir  
expressar com palavras o que sinto,  
mais minha estrada ainda é longa.**

**Obrigado pelos anos, pelo apoio,  
pelo carinho, pela dedicação,  
pelo exemplo, pela força, por**

**acreditar que todo esse**

**nosso esforço pode**

**fazer, um dia,**

**um mundo**

**melhor.**

## **AGRADECIMENTOS**

**À Deus pela oportunidade.**

**Aos meus pais pela paciência, dedicação, carinho e amor.**

**Aos meus irmãos Vera e Ricardo pelo incentivo constante.**

**À Rosália pela amizade, pelo apoio, pelo exemplo de pessoa e profissional.**

**Ao Juremí pelo incentivo constante.**

**Aos meus amigos Margarida, Renato, Danielle e Priscila pela amizade, pelo profissionalismo, pelas risadas, pela dedicação, por tornar o nosso ambiente de trabalho maravilhoso. Sem vocês esse trabalho não teria sido realizado.**

**Ao professor e amigo Jorge Valadares por me mostrar que atrás de cada gesto, cada sorriso, cada abraço existe uma complexidade muito maior que toda química que se conhece.**

**À Maria José pelo exemplo de luta, e por me mostrar que vale a pena lutar pelo que acreditamos.**

**À Cristina Sisino pela amizade e pela credibilidade no meu trabalho.**

**Ao Dalton Marcondes pela orientação e por me mostrar que a complexidade das coisas está na forma de nos colocar perante elas.**

**Aos meus amigos Ana Paula, Daniele Cardim, Paulea, Clementina, Alfredo Marcelo Sampaio, Marta (SECA) pelo carinho, amizade e apoio incessante.**

**À todos os amigos do Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental, pelo convívio e pelo ensinamento.**

**À Ana Maria Chebler Baia Braga pela amizade e incentivo.**

**Ao professor Josino C. Moreira pela amizade e contribuição técnica.**

**Aos meus amigos do laboratório do CESTEHE pela amizade e apoio constante.**

**À todos os amigos que fizeram parte desta caminhada.**

## SUMÁRIO

|  | Pág.      |
|--|-----------|
| <b>1 - INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>9</b>  |
| 1.1 - Tecnologia de controle na utilização de pesticidas organoclorados..... | 14        |
| 1.2 - Contaminação por pesticidas organoclorados no Brasil.....              | 16        |
| <b>2 - TOXICOLOGIA</b> .....   | <b>20</b> |
| 2.1 - Sintomas e Efeitos.....  | 20        |
| 2.2 - Farmacodinâmica.....   | 22        |
| 2.3 - Metabolização.....   | 23        |
| <b>3 - VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA</b> .....                          | <b>24</b> |
| 3.1 - Componentes da incerteza.....  | 27        |
| 3.2 - Validação de método.....   | 28        |
| 3.3 - Rastreabilidade.....   | 30        |
| <b>4 - MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....   | <b>32</b> |
| 4.1 - Vidraria utilizada.....  | 32        |
| 4.2 - Equipamentos utilizados.....   | 32        |
| 4.3 - Limpeza de material.....   | 33        |
| 4.3.1 - Vidraria.....  | 33        |
| 4.3.2 - Limpeza do evaporador rotatório.....                                 | 34        |
| 4.4 - Reagentes.....   | 35        |
| 4.5 - Preparo das soluções padrão.....                                       | 36        |
| 4.6 - Otimização das condições cromatográficas.....                          | 36        |
| 4.7 - Método de análise.....   | 38        |
| <b>5 - METODOLOGIA PARA VALIDAÇÃO</b> .....                                  | <b>40</b> |
| 5.1 - Definição do mensurando.....   | 41        |
| 5.2 - Identificação e quantificação das fontes de incerteza.....             | 41        |
| 5.2.1 - Especificidade do método analítico.....                              | 42        |
| 5.2.2 - Determinação da linearidade do método analítico.....                 | 42        |
| 5.2.3 - Tendência da metodologia analítica.....                              | 43        |
| 5.2.4 - Precisão da metodologia analítica.....                               | 43        |
| 5.2.5 - Limite de Quantificação.....   | 43        |
| <b>6 - METODOLOGIA DE AMOSTRAGEM</b> .....                                   | <b>44</b> |
| 6.1 - Análise das amostras.....  | 44        |
| <b>7 - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                                      | <b>44</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| 7.1 - Especificidade do método analítico ..... | 44        |
| 7.2 - Linearidade.....                         | 49        |
| 7.3 - Tendência.....                           | 58        |
| 7.4 - Precisão.....                            | 59        |
| 7.5 - Limite de quantificação.....             | 61        |
| 7.6 - Resultados das amostras. ....            | 61        |
| <b>8 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>           | <b>63</b> |
| <b>9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>     | <b>65</b> |



## LISTA DE TABELA

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1: Valores de dose letal para o homem de alguns pesticidas organoclorados. ...  | 20 |
| Tabela 2: Vidraria utilizada na implementação da metodologia analítica. ....   | 32 |
| Tabela 3: Equipamentos utilizados.....   | 33 |
| Tabela 4: Condições de aquecimento do forno para análise do hexano de rinsagem....   | 34 |
| Tabela 5: Reagentes e padrões utilizados neste trabalho. ....  | 35 |
| Tabela 6: Condições cromatográficas .....  | 36 |
| Tabela 7: Valores de tempo de retenção e desvio padrão (s) dos compostos analisados para 5 injeções.....                                     | 45 |
| Tabela 8:Relação entre a média, desvio padrão e o valor relativo do desvio padrão em relação à média.....                                    | 46 |
| Tabela 9: Média dos tempos de retenção (TR), largura da base do pico cromatográfico (Wb) e resolução entre dois picos consecutivos (R). .... | 47 |
| Tabela 10: Áreas cromatográficas de alfa-HCH para os estudos da linearidade .....  | 49 |
| Tabela 11: Áreas cromatográficas de BHC para os estudos da linearidade.....  | 49 |
| Tabela 12 : Áreas cromatográficas de beta-HCH para os estudos da linearidade.....  | 50 |
| Tabela 13: Áreas cromatográficas de gama-HCH para os estudos da linearidade.....   | 50 |
| Tabela 14: Áreas cromatográficas de delta-HCH para os estudos da linearidade. ....   | 50 |
| Tabela 15: Áreas cromatográficas de alaclor para os estudos da linearidade. ....   | 51 |
| Tabela 16: Áreas cromatográficas de aldrin para os estudos da linearidade.....   | 51 |
| Tabela 17: Áreas cromatográficas de o,p'-DDE+ dieldrin para os estudos da linearidade. ....  | 51 |
| Tabela 18: Áreas cromatográficas de endosulfan para os estudos da linearidade. ....  | 52 |
| Tabela 19: Áreas cromatográficas de p,p'-DDE para os estudos da linearidade. ....  | 52 |
| Tabela 20: Áreas cromatográficas de o,p'-DDD para os estudos da linearidade.....   | 52 |
| Tabela 21: Áreas cromatográficas de endrin para os estudos da linearidade.....   | 53 |
| Tabela 22: Áreas cromatográficas de p,p'-DDD para os estudos da linearidade.....   | 53 |
| Tabela 23: Áreas cromatográficas de o,p'-DDT para os estudos da linearidade. ....  | 53 |
| Tabela 24: Áreas cromatográficas de p,p'-DDT para os estudos da linearidade. ....  | 54 |
| Tabela 25: Áreas cromatográficas de metoxiclor para os estudos da linearidade.....   | 54 |
| Tabela 26: Coeficientes angulares; lineares e correlação para o estudos da linearidade de cada composto de interesse. ....                   | 55 |

|   |    |
|---|----|
| Tabela 27: Tendência e incerteza encontrados para os compostos de interesse. ....         | 58 |
| Tabela 28: Áreas cromatográficas para determinação da precisão metodológica.....          | 60 |
| Tabela 29: Valores de concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) encontrados nas amostras..... | 61 |

## LISTA DE FIGURAS

|   | Pág. |
|---|------|
| Figura 1: Estrutura de alguns compostos organoclorados.....   | 11   |
| Figura 2: Bacia do rio Paraíba do Sul .....   | 18   |
| Figura 3: Programação de aquecimento do forno para análise do hexano de rinsagem.   | 34   |
| Figura 4: Programação de aquecimento do forno utilizado neste método.....   | 37   |
| Figura 5: Fluxograma da metodologia de análise utilizada neste trabalho. ....   | 39   |
| Figura 6: Cromatograma de solução padrão a $40 \mu\text{g.L}^{-1}$ contendo todos os compostos de interesse utilizado no estudo de especificidade do método. .... | 48   |
| Figura 7: Cromatograma do branco utilizado no estudo de especificidade do método.   | 48   |
| Figura 8: Gráfico de residual de concentração para alfa-HCH.....  | 56   |
| Figura 9: Gráfico de residual de concentração para gama-HCH.....  | 57   |
| Figura 10: Gráfico de residual de concentração para delta-HCH.....  | 57   |
| Figura 11: Gráfico de residual de concentração para p,p'-DDE + Dieldrin .....   | 58   |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|               |  |
|---------------|--|
| $\alpha$ -HCH | Isômero alfa do Hexaclorociclohexano                   |
| $\beta$ -HCH  | Isômero beta do Hexaclorociclohexano                   |
| $\gamma$ -HCH | Isômero gama do Hexaclorociclohexano                   |
| $\delta$ -HCH | Isômero delta do Hexaclorociclohexano                  |
| BHC           | Hexaclorobenzeno                                       |
| p,p'-DDT      | 1,1'-(2,2,2-tricloroetilideno)-bis[4-clorobenzeno]     |
| o,p'-DDT      | 1-cloro-2-[2,2,2-tricloro-1-(4-clorofenil)etil]benzeno |
| p,p'-DDD      | 1,1'-(2,2-dicloroetilideno)-bis[4-clorobenzeno]        |
| o,p'-DDD      | 1-cloro-2-[2,2-dicloro-1-(4-clorofenil)etil]benzeno    |
| p,p'-DDE      | 1,1'-(2,2-dicloroetenilideno)-bis[4-clorobenzeno]      |
| o,p'-DDE      | 1-cloro-2-[2,2-dicloro-1-(4-clorofenil)etenil]benzeno  |
| PAR           | Para análise de resíduo                                |
| PA            | Para análise   |
| TR            | Tempo de Retenção                                      |
| US-EPA        | United State - Environmental Protect Agency            |
| PCB           | Polychlorinated Biphenyl                               |
| DBCP          | Dibromocloropropano                                    |
| ABNT          | Associação Brasileira de Normas Técnicas               |
| $u_c(y)$      | Incerteza padronizada da grandeza $y$                  |
| U             | Incerteza expandida                                    |
| k             | Fator de abrangência                                   |
| CG            | Cromatografia Gasosa                                   |
| LQ            | Limite de Quantificação                                |
| ISO           | Internarional Organization for Standarization          |
| SNC           | Sistema Nervoso Central                                |

## RESUMO

As bacias hidrográficas formadas pelos rios Paraíba do Sul e Rio Guandu são as principais fontes de abastecimento de água da cidade do Rio de Janeiro; e vem recebendo grande volume de resíduos industriais e domésticos levando a altos níveis de contaminação das águas, pondo em risco mais de 10 milhões de pessoas que utilizam a água destes rios para consumo e uso doméstico.

Podemos encontrar estudos que mostram a contaminação por pesticidas organoclorados nestas águas uma vez que este rio corta regiões de intensa atividade agrícola.

Este trabalho teve como objetivo implementar uma metodologia para análise de compostos organoclorados em água, estabelecendo através de estudos sistemáticos de laboratório, que o método é adequado à finalidade, ou seja, suas características de desempenho são capazes de produzir resultados correspondentes às necessidades do problema analítico e que estes resultados, através de uma cadeia sucessiva de comparação com padrões nacionais e internacionais, possam ser reconhecidos como válidos. Para validação do método analítico, fez-se uma avaliação das fontes de incerteza envolvida no método.

Também teve como objetivo fazer uma avaliação preliminar do grau de contaminação por estes compostos na água consumida na cidade do Rio de Janeiro de acordo com os limites de tolerância estabelecidos pela portaria 518 do Ministério da Saúde. Esta portaria define o padrão de potabilidade em água de distribuição para fins de consumo.

Nesta avaliação adotou-se como foco de estudos uma região da cidade do Rio de Janeiro que fosse abastecida apenas pelo sistema guandu. Para esta avaliação coletou-se, de forma aleatória, 18 amostras de água chegando a um resultado que 2 destas apresentaram um nível de contaminação por beta e gama-HCH e outras 3 amostras apresentaram apenas gama-HCH.

## ABSTRACT

Rio de Janeiro city is supplied by the hydrografic bays formed by the rivers Paraíba do Sul e Guandu. This hydrografic bays receive an enormous amonunt of industrial and sanitary waste which cause a high surface water contamination and enlarge the risk of an adverse effect on human health associated with water consumption.

According to some studies a certain degree of contamination was found in those waters and this fact was explained by the high agricultural activity in the area.

The objective of this work was to develop an analytical methodology for organoclorides compounds in water, stablishing through sistematic laboratory studies that the method is adequate, i.e., its paterns of execution are able produce results corresponding to the analytical problem and that these results, through a successive comparition with national and international standers, may be accepted as valids. The evaluation of the sources of erros associated with the method was done for the validation of the analytical method.

Other objective was a preliminary evaluation of the degree of Rio de Janeiro drinking water contamination according to the Portaria 518 of Ministry of Health. This law states the Drinking Water Standards.

This evaluation took into acount only a quarter of Rio de Janeiro that was supplied by Guandu water treatment System. Eighteen samples were collected randonly. Two of them were contaminated by beta and gama-HCH and other three by only gama-HCH.

## 1 - INTRODUÇÃO

O aumento gradativo da população mundial, que cresce hoje a uma taxa de 1,13% aa, nos leva a pensar sobre o padrão de qualidade de vida daqui a algumas décadas. O adensamento populacional que se mostra mais proeminente em países populosos como a China e a Índia, leva a um agravamento de problemas com alimentação, controle de doenças e moradia (Bureau,2004) . Apesar do avanço tecnológico, uma das maiores preocupações do "Homem Moderno" ainda é a sua subsistência: "Como obter alimento e água para todos?". O Homem chega ao século XXI com graves problemas sociais a serem resolvidos como a desnutrição e o alto índice de mortalidade infantil devido, principalmente, à doenças de veiculação hídrica (Bureau,2004).

Na tentativa de aumentar a oferta de alimento no mundo, tem-se desenvolvido tecnologias que levem a uma diminuição das perdas relacionadas, principalmente, à ação das pragas como insetos, fungos entre outros. O desenvolvimento de novos agrotóxicos visa a obtenção de substâncias que apresentem alto poder de ação contra pragas, sejam de baixo custo e não apresentem efeitos deletérios ao ambiente e principalmente à saúde humana.

Hoje pode-se encontrar um grande número de substâncias utilizadas para este objetivo, entretanto, para muitas delas ainda não foram feitos estudos do grau de toxicidade para o homem e ao meio ambiente, principalmente quanto à intoxicação crônica e aguda (Batalha,2003), (Who,1979).

Paul Muller ganhou o prêmio Nobel de Medicina em 1939 devido a utilização do 1,1´-(2,2,2-tricloroetilideno)-bis[4-clorobenzeno] (DDT) no controle de vetores da malária (D´amato,2002). Acreditava-se que este pesticida não acarretava nenhum efeito tóxico para o homem ou ao ambiente. Desta forma, após a segunda grande guerra mundial, produziu-se DDT em larga escala chegando, na década de 1960 a atingir uma produção superior a 80.000 toneladas por ano só nos Estados Unidos (Who,1979).

Em 1962, Rachel Carson sugeriu em seu livro " Primavera Silenciosa", que o amplo uso de DDT poderia ser a principal causa da redução populacional de diversas aves; muitas delas estariam no topo da cadeia alimentar, como o falcão peregrino e a águia calva, animal símbolo dos Estados Unidos (Carson,1962). Este livro é considerado a primeira manifestação ecológica contra o uso indiscriminado do DDT (D'Amato, et al.,2002).

Paralelamente ao DDT uma série de outros compostos foram desenvolvidos e utilizados para os mais variados fins. Caracterizavam-se pela presença do átomo de cloro em sua estrutura, sendo denominados pesticidas organoclorados (Figura 1).

O HCH, um pesticida largamente utilizado neste período, apresenta-se como uma série de isômeros posicionais, onde temos uma mudança da posição do átomo de cloro de axial para equatorial. Esta mudança de posição leva a características químicas diferentes, sendo que dentre estes os mais importantes são os isômeros alfa-, beta-, gama- e delta-HCH. Dentre estes 4 isômeros, o único que apresenta ação inseticida é o gama-HCH (Who,1992)

A redução do uso de pesticidas e agrotóxicos organoclorados só se deu a partir dos estudos de sua toxicidade, o que resultou na proibição de muitos pesticidas, como HCH, aldrin, endrin, heptacloro, heptacloroepóxido e DDT<sup>s</sup>, devido ao grau de acúmulo destes nos seres vivos, toxicidade e persistência no meio ambiente (Brito,2002), (U.S.E.P.A.,2002).

Na aplicação do agrotóxico, geralmente, utiliza-se a água como veículo onde estes são aspergidos na forma de solução ou emulsão. Desta forma, dependendo das condições climáticas, estes compostos são transportados pelo vento, em forma de aerossóis, a grandes distâncias, contaminando regiões que não apresentam características agrícolas (Zhang,1997), (Kleivane,1995).



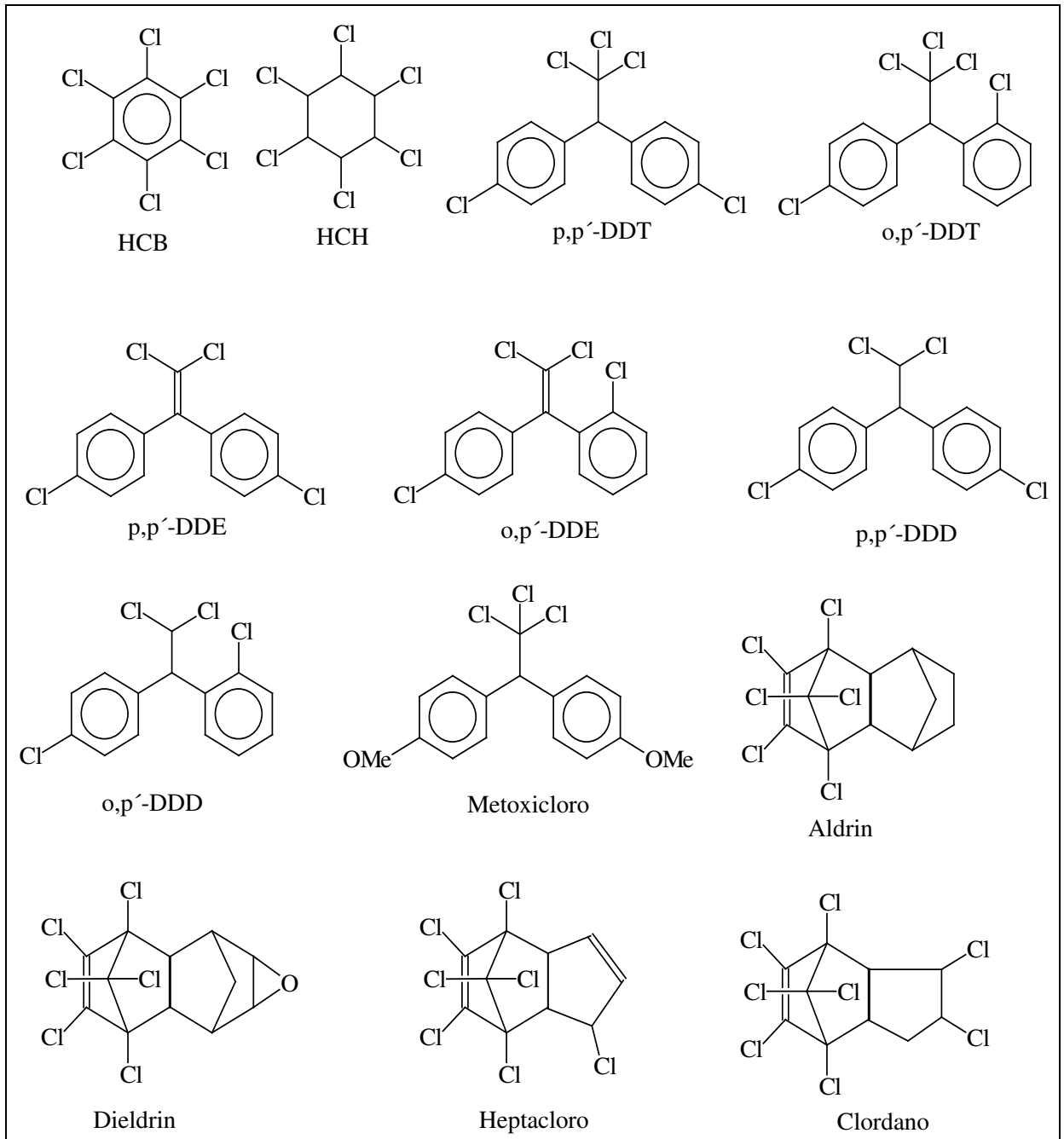


Figura 1: Estrutura de alguns compostos organoclorados

A lixiviação do solo contaminado resulta no transporte destes compostos, e este dependerá da solubilidade do pesticida em água, do coeficiente de adsorção no solo, da estabilidade química, da volatilidade do composto, das características do solo e condições atmosféricas. Os pesticidas e agrotóxicos lixiviados tingem os corpos hídricos, vindo a contaminar não apenas a água mais também a fauna e flora existente no local (Watanabe,1985). Devido à características de bioacumulação os pesticidas e agrotóxicos organoclorados são biomagnificados dentro da cadeia trófica levando a altos níveis de contaminação de animais e do Homem, que se encontram no topo desta cadeia (Zhang, et al.,1997).

Um exemplo desta magnificação pode ser encontrada nos estudos de Solé (Solé,2000), onde este avaliou os efeitos de bioacumulação e do grau de contaminação por agrotóxicos organoclorados e fosforados nas ostras no delta do rio Ebro, no Mediterrâneo (Espanha). Esta região apresenta intensa atividade agrícola e pesqueira, tendo como produto principal o plantio de arroz.

Apesar da proibição da utilização de pesticidas organoclorados, estes ainda foram o objeto de estudos de Solé devido à sua persistência no meio ambiente. Neste trabalho foram analisados compostos organoclorados por GC-ECD , onde encontrou-se  $\alpha$ -,  $\delta$ - e  $\gamma$ -HCH e hexaclorobenzeno (HCB) na maioria das amostras. Também foram encontrados PCB<sup>s</sup>, DDT e seus metabólicos em todas as amostras analisadas.

Hernandez (Hernández,1992) mostra em seus estudos uma contaminação residual de compostos organoclorados como DDT, Lindano e BHC em rios da região sul da Espanha. Neste trabalho 40% das amostras de água coletada tinham valores de BHC superiores aos limites definidos pela Organização Mundial de Saúde ( $0,05 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

Um outro estudo similar foi realizado por Siriwong (Siriwong,1997) que constatou altas concentrações de pesticidas organoclorados nas águas do rio Chao Phiraja, o mais importante da Tailândia. Este rio atravessa extensa região agrícola e se encontra próximo à cidade de Bangkok. Siriwong encontrou, em todas as amostras coletadas,  $\alpha$ -HCH, p,p'-DDE e p,p'- DDD, apesar da utilização destes produtos já ter sido proibida neste país. Em Hongkong e Macao o DDT e o BHC ainda são o objeto de

preocupação para as autoridades da região, principalmente quanto aos níveis de contaminação no rio Pearl, de onde é retirada a água para consumo da população próxima a este (Yanhong,1997).

Apesar da grande periculosidade destes compostos, em algumas regiões no mundo, ainda são largamente utilizados no controle de vetores, especialmente em áreas tropicais.

Em 1914 foi relatado um surto de peste pneumônica/bubônica na região centro-sul da Índia, com 5.150 casos suspeitos e 53 mortes. A cidade de Surat foi uma das mais atingidas com a epidemia. Como a doença era causada por um tipo de bactéria carregada por roedores e transmitida ao homem pela picada de pulgas, grandes quantidades de pesticida foram utilizadas para controle do vetor, levando a uma grande contaminação da região.

Em estudos posteriores observou-se altas concentrações de BHC no solo e em soro humano. Obteve-se amostras de solo com  $3.180 \mu\text{g. K}^{-1}$  de BHC e em soro humano, valores de até  $17,7 \mu\text{g.L}^{-1}$  de BHC e  $473,7 \mu\text{g.L}^{-1}$  de DDE. Quantidades expressivas de DDE também foram observadas no soro humano o que é atribuído a bioacumulação devido a sua elevada lipofilicidade ficando armazenado em tecidos ricos em gordura (Who,1992); (Who,1979), (Luo,1997).

Um outro fator que tem contribuído para a dispersão de pesticidas pelo mundo é o transporte destes produtos de forma ilegal, levando a uma contaminação ambiental mesmo em países onde estes compostos já foram banidos (Parkinson,1993).

Kleivane e colaboradores (Kleivane, et al.,1995) estudaram o tecido adiposo de animais que vivem a noroeste do mar do norte na região de Tufpord. Neste estudo foi pesquisado 22 PCB<sup>s</sup>, HCB, DDT, HCH, endrin, dieldrin, clordano, oxiclordano, trans-nanoclordano e heptacloroepóxido. Apesar de não haver registro de utilização de pesticidas nesta região, todos os metabólicos do DDT exceto o o,p'-DDD e todos os pesticidas foram encontrados em todos os animais estudados. Concentração significativamente alta de endrin e oxiclordano foram encontradas nos animais desta região, (Lenoir,1999).

Uma hipótese para a contaminação destes animais é o carreamento por correntes aéreas onde ocorre a volatilização destes compostos em regiões mais quentes (regiões tropicais) e a condensação em regiões mais frias (regiões polares) (Kleivane, et al.,1995), (Iwata,1993), (Li,1999), (Macdonald,2000).

Nas décadas de 1960 e 1970 os Estados Unidos era considerado um dos maiores produtores e consumidores de pesticidas do mundo. O intenso uso destes compostos resultou em uma série de problemas de contaminação ambiental (Lenoir, et al.,1999), (Juracek,2003), (Hale,2001).

Com a criação dos órgãos de proteção ambiental a utilização destes compostos passou a sofrer rígido controle. Porém devido à grande persistência destas substâncias, ainda se pode encontrar altos teores de pesticida no solo e nas águas. Dos compostos utilizados como pesticida nos EUA, 68% já foram encontrados em águas subterrâneas neste país. A utilização destes compostos ainda é considerada a maior fonte de contaminação ambiental neste país (Zhang, et al.,1997). O Dibromocloropropano (DBCP) foi largamente utilizado na Califórnia até 1977, quando foi banido após a descoberta do alto índice de esterilidade masculina em fábrica de DBCP. Posteriormente, estudos demonstraram que o DBCP permanecia no solo de 6 a 7 anos após uma única aplicação e que sua meia-vida para hidrólise encontrava-se na faixa de 20 anos (Zhang, et al.,1997).

### **1.1 - Tecnologia de controle na utilização de pesticidas organoclorados**

O uso indiscriminado de pesticidas, associado ao gerenciamento inadequado, acarreta um alto índice de contaminação das água de subsolo e de corpos hídricos (Domagalski,1992), (Pickett,1992).

Na grande maioria dos casos a aplicação de pesticidas é feita:

- sem nenhum tipo de monitoramento do nível de contaminação daqueles envolvidos no processo de aplicação;
- sem que haja um estudo de persistência e mobilidade destes compostos no solo;

- utilizando níveis de concentração muito acima do necessário;
- utilizando agentes já proibidos porém que apresentam um espectro mais largo de ação;
- sem que haja um controle do descarte das embalagens destes compostos;
- sem que haja um controle do nível de contaminação do lençol freático e dos corpos hídricos da região.

Com o objetivo de promover um melhor gerenciamento no uso de pesticidas uma série de metodologias vem sendo desenvolvidas para acompanhamento do grau de contaminação ambiental, principalmente em solo, águas de subsolo e águas de distribuição (Laabs,2002). Uma metodologia que tem se mostrado promissora neste sentido é o uso de modelos estatísticos acoplado ao georeferenciamento que visa descrever o transporte destes compostos no ambiente e o impacto nas populações que se encontram sob o risco de contaminação (Zhang, et al.,1997), (Barcellos,1998).

A maioria dos índices de transportes e modelos estatísticos são desenvolvidos baseados nas propriedades dos pesticidas, características do solo e relevo das regiões atingidas. Esta última é de grande importância pois para avaliar o potencial de contaminação das águas subterrâneas faz-se necessário ter um conhecimento preciso da topografia da região estudada (Zhang, et al.,1997).

Uma outra metodologia de monitoramento da contaminação por algumas classes de pesticidas é o uso de biosensores enzimáticos, onde ocorre a inibição enzimática em presença do poluente. Apesar da sua pouca especificidade, este método tem se mostrado eficiente para detecção de contaminantes como pesticidas organofosforados e carbamatos (Stepherson,1992), (Bastos,1991).

Este tipo de metodologia teve sua origem com estudos em sistemas biológicos que apresentavam uma resposta à ação de certos contaminantes. Porém em matrizes

mais complexas não se pode atribuir a ação inibidora somente ao pesticida (Malby,1989). Estes estudos foram desenvolvidos chegando a obtenção de biosensores enzimáticos que apresentavam uma resposta à contaminação para uma classe de compostos como organofosforados (Stepherson,1992).

## **1.2 - Contaminação por pesticidas organoclorados no Brasil**

Historicamente o Brasil é um país com intensa atividade agrícola, logo encontraremos alto teor de pesticidas no solo e nas águas, como os demais países com esta característica.

Matsushita (Matsushita,1994), em seu trabalho, demonstrou a contaminação por pesticidas organoclorados em peixes no rio Paraná. Segundo seus relatos, a região compreendida pelos sub-sistemas rio Paraná; rio Ivinheima e rio Baía apresenta grande diversidade agrícola com uso intensivo e abusivo de pesticidas . O trabalho, alerta para a contaminação das águas, micrófitas aquáticas e sedimentos por pesticidas organoclorados. Dentre os compostos encontrados destacam-se o HCH, aldrin, endossulfan, heptacloro, p,p'-DDE e p,p'-DDT.

Apesar da proibição de utilização de muitos dos pesticidas organoclorados, estes compostos, como DDT e HCH, ainda são comercializados clandestinamente; levando ao aumento de risco de contaminação da população e do ambiente (Oliveira,1994).

Apesar da existência da legislação, em muitos casos, não há um mecanismo eficiente de fiscalização e de suporte técnico que dê fundamento às ações de fiscalização e educação ambiental. Um exemplo claro pode ser encontrado na bacia do rio Paraíba do Sul, que corta regiões de grande atividade industrial e agrícola dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro.

O rio Paraíba do Sul é hoje a única fonte de água potável para mais de 10 milhões de pessoas na região metropolitana da cidade do Rio de Janeiro. Devido à necessidade de geração de energia elétrica, 40% das águas deste rio são bombeadas para compor os reservatórios de Santana e Vigário, que por gravidade se une às águas do rio

Guandu, onde se localiza na região de Santa Cruz, a principal estação de tratamento de água da Cidade do Rio de Janeiro ilustrada na Figura 2.

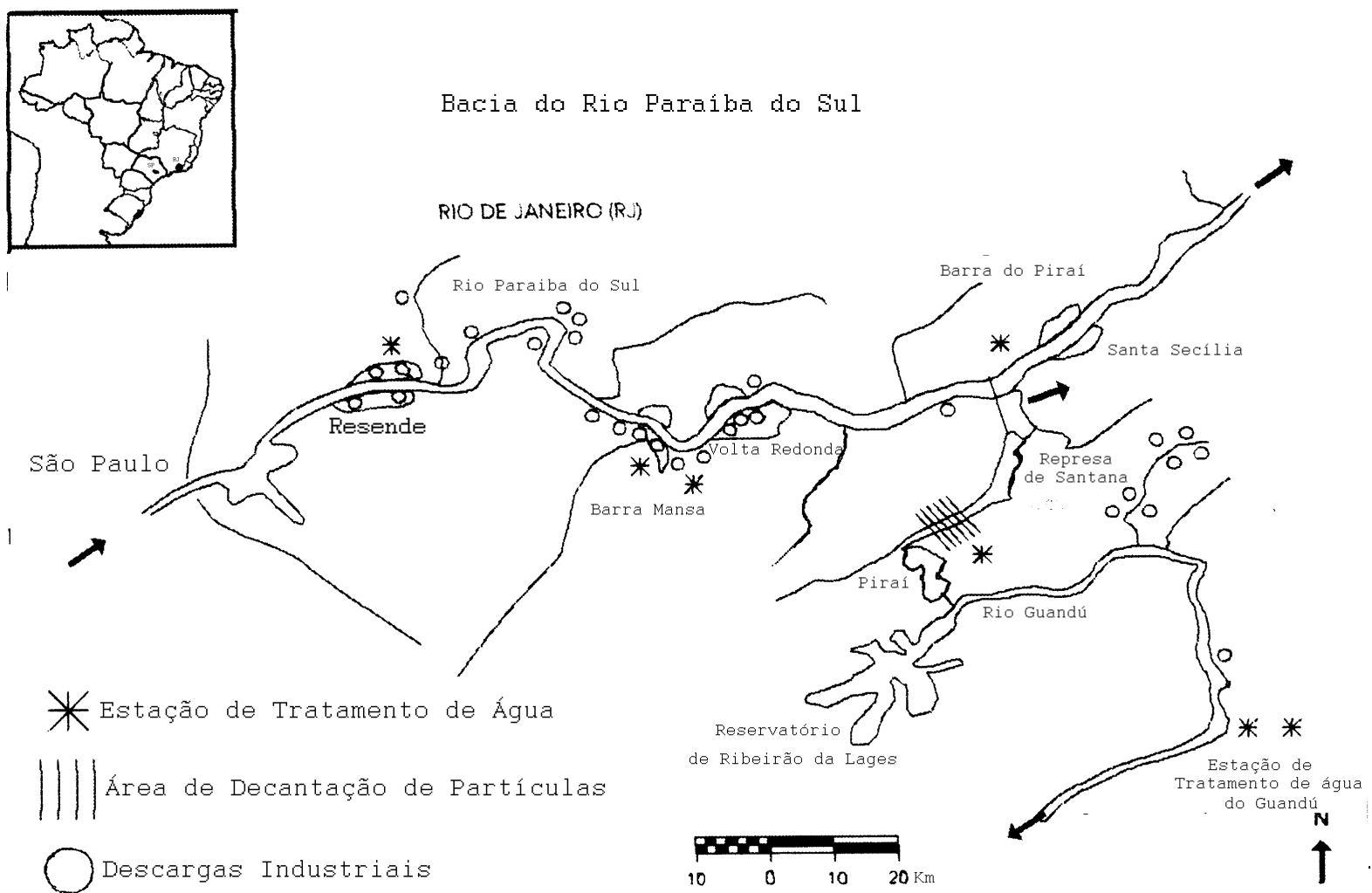


Figura 2: Bacia do rio Paraíba do Sul



Torres (Torres,2002) em seus estudos mostrou que a águas do Rio Paraíba do Sul encontram-se contaminadas com pesticidas organoclorados, sendo encontrados Heptacloro, p,p'-DDT, p,p'-DDE, aldrin entre outros.

O processo de tratamento de água utilizado, hoje, nesta estação apresenta uma concepção que exige uma certa preservação do manancial hídrico. Os processos de coagulação/sedimentação; filtração e desinfecção utilizados para tratamento da água não apresentam uma boa eficiência para remoção de metais e muitos compostos orgânicos como solventes, pesticidas, fenóis etc. Contaminantes que, na implementação da estação de tratamento de água, não eram encontrados na água bruta.

Na tentativa de desenvolver um trabalho de gestão e controle da qualidade da água distribuída para a população, o Ministério da Saúde publicou a Portaria 518 que determina a concentração máxima permitida de certos contaminantes para fins de distribuição (MS,2004). Entretanto, ainda não existe um mecanismo eficiente de fiscalização que mantenha um controle da qualidade do manancial e, o que é agravante, não existe no Estado do Rio de Janeiro um laboratório que analise todos os parâmetros exigidos por essa portaria.

Fundamentada nas proposições anteriores e devido à relevância do monitoramento da qualidade da água consumida na cidade do Rio de Janeiro, ao alto grau de bioacumulação dos pesticidas organoclorados e a toxicidade destes compostos, este trabalho tem como objetivo:

1. realizar uma avaliação preliminar do nível de contaminação por pesticidas organoclorados em água de distribuição fornecida à cidade do Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
2. Validar uma metodologia para análise de pesticidas organoclorados em água de distribuição.

## 2- Toxicologia

### 2.1 - Sintomas e Efeitos

Os principais sintomas da contaminação por compostos clorados são neurológicos, sendo observados, muitas das vezes, sintomas gastrointestinais.

Os principais sintomas observados são: sonolência, inquietude, perda de memória, alucinações, complicações renais, eritemas de pele, irritação das mucosas nasal, laríngea e esofágica, acarretando coriza, constrição da laringe e esôfago. Nota-se baixa coordenação motora, cefaléia, parestesias da língua, lábios e extremidades, além de convulsões eventuais. Na tabela 1 são descritos os valores de dose letal para o homem (Filho,1988), (Who,1979).

Tabela 1: Valores de dose letal para o homem de alguns pesticidas organoclorados.

| <b>Composto</b> | <b>Dose Letal<br/>g/70 kg.</b> |
|-----------------|--------------------------------|
| BHC             | 15 a 30                        |
| Dieldrin.       | 5,0 a 6,0                      |
| Heptaclor       | 4,0 a 6,0                      |
| Aldrin          | 5,0 a 6,0                      |
| Toxafeno        | 3,0 a 9,0                      |
| Clordane        | 6,0 a 8,0                      |
| Metoxiclor      | 120 a 150                      |
| Endrin          | 3,0 a 4,0                      |
| DDT             | 5,0 a 6,0                      |

Nos casos crônicos notam-se câibras, tremores que começam pela face, hemo-globinúria, arritmia, problemas intestinais, inquietude e problemas neurológicos como cefaléia, irritação, etc. Poderá ocorrer hepatomegalia, hepatite e cirrose hepática (mais rara). Também já foram diagnosticados lesão renal, supra-renal (provocados por

certos representantes como DDT e metabólicos), lesão cardíaca e lesão muscular. Os relatos de intoxicação crônica por organoclorados no tocante aos quadros neurológicos apontam quadros clínicos diversos, como: polineurite periférica com neurite óptica retrobulbar, neuropatia sensitivomotora, neuropatia sensitiva pura, neuropatia com mínima hipoestesia e neuropatia com ataxia cerebelar (Who,1984).

Nos casos crônicos, os fatores patognomônicos são a cefaléia, resistente aos analgésicos, acompanhada de náuseas e vertigens (já mencionadas), obnubilação passageira e suores frios, além da anorexia, algias diversas, reflexos pupilares lentos e ataques tipo epiléticos (Filho,1988).

Sabe-se que os compostos organoclorados são cumulativos no organismo, principalmente no tecido adiposo e centros nervosos. No fígado, rins e sangue, também pode-se encontrar apreciáveis quantidades. Estudos estão sendo feitos para apurar suas propriedades cancerígenas e teratogênicas. Alguns estudos já relacionam a contaminação por pesticidas organoclorados com o agravamento de doenças neurológicas como Parkinson (Tanner,1987), (Tsai,2002), (Rajput,1986).

Seu mecanismo de ação não está bem definido, mas parece não haver dúvidas que são neurotóxicos, interferindo com funções do SNC, particularmente do cerebelo e córtex cerebral.

Nos insetos, o DDT penetra pelos tarsos (parte mais fina das patas) e os mata, produzindo primeiro excitação e após paralisia do sistema nervoso. No homem nota-se contrações palpebrais após 8 a 12 horas, seguindo-se os tremores musculares inicialmente na cabeça e pescoço e após distalmente, observando-se contrações crônicas de extremidades (convulsões) semelhantes às observadas quando ocorre intoxicação por estricnina. A respiração de início é acelerada e após lenta. Trabalhadores e pessoas expostas a intoxicação crônica podem apresentar até  $650 \text{ mg.Kg}^{-1}$  em tecidos adiposos. O BHC é mais tóxico para o sistema respiratório que o DDT, ocasionando inflamação em todo o aparelho respiratório. Sem dúvida a necrose hepática é o fator mais importante observado nas intoxicações. Também são relatados degeneração hialina do epitélio e as alterações histológicas no cérebro, córtex e medula óssea, são alterações relatadas (Filho,1988), (Who,1979).

A sintomatologia inicia de 1 a 6 horas após exposição começando com vômitos, diarréias e convulsões. A sintomatologia observada nas intoxicações pelo aldrin, endrin, dieldrin, clordane, heptacloro, guardando-se as proporções, inicia-se em 8 a 12 horas e são similares ao DDT. Os tremores e as convulsões são as primeiras manifestações (originadas possivelmente no SNC, no córtex cerebral). As alterações patológicas incluem edema e hemorragias petequiais disseminadas nos pulmões, rins e cérebro, congestão e leve degeneração do fígado (Tanner, et al.,1987).

Os produtos comerciais que utilizam como princípio ativo o heptacloro, originam um número maior de acidentes agudos que os demais, por serem comercializados em concentração mais elevadas que os demais pesticidas organoclorados (Who,1984).

## **2.2 - Farmacodinâmica**

Os pesticidas organoclorados são absorvidos por via oral, inalatória e percutânea. São tóxicos neurotrópicos em virtude da alta solubilidade nos lipídios, o que condiciona sua acumulação ao nível dos centros nervosos, do fígado e também nos tecidos gordurosos, onde, permanecem inalteráveis. Em pessoas submetidas a regime de emagrecimento rápido, em virtude do desaparecimento das gorduras, pode haver conseqüente desprendimento de pesticidas liposolúveis (Rajput, et al.,1986).

O DDT age ao nível do SNC, sobre o cerebelo e o córtex cerebral, produzindo hiperexcitabilidade e convulsões (Who,1979).

O BHC é mais tóxico que o DDT e o isômero gama do BHC, o lindano, é o único com acentuada ação pesticida . Os isômeros alfa e gama são estimulantes do SNC (convulsivantes) enquanto o beta e o delta são depressores. O BHC, armazena-se no tecidos gordurosos como todo organoclorado e também nas supra-renais (Who,1979), (Filho,1988).

O BHC, tem maior rapidez de ação que o DDT, levando a um maior efeito em menor concentração, sendo assim mais perigoso em intoxicações agudas (Araujo,1998), (Silva,2003).

O grupo dos derivados do indeno ou ciclodienos como o aldrin, endrin, dieldrin, clordane, isodrin, heptacloro, etc, são metabolizados no organismo formando compostos mais hidrofílicos e menos tóxicos. Naturalmente após a absorção são armazenados no organismo, em maior ou menor percentagem concorrendo para isto diversos fatores, tais como: raça, idade, sexo, estrutura do composto, integridade do fígado e rins, etc. São semelhantes sintomatologicamente ao DDT (Who,1992), (Who,1989), (Filho,1988).

### **2.3 - Metabolização**

Normalmente os organoclorados são transformados no organismo, principalmente no fígado por intermédio de enzimas existentes nos microsomas e nas mitocôndrias, em produtos menos tóxicos ou inativos. Há casos porém, como o do heptacloro que se transforma em heptacloroepóxido, em que o produto de biotransformação é mais tóxico (Antonucci,2000), (Priyadarshi, 2001), (Soto,1967).

Sua eliminação ocorre principalmente pela urina, fezes, bile (DDT e dieldrin, entre outros), além de suor e leite. Pela sua acumulação no tecido adiposo, pode-se encontrar altas quantidades de inseticidas organoclorados nos produtos de excreções, após regime de emagrecimento rápido.

O HCH sofre hidrólise (perda de HCl) transformando-se em pentaclorocicloexano, o qual se degrada até o 1,2,4-triclorobenzeno. Por epoxidação transforma-se no triclorobenzeno-epóxido, o qual se hidroxila a 2,4,5-triclorofenol, eliminando-se pela urina nesta forma e também como derivado conjugado. O HCH ainda sofre hidroxilação a pentaclorocicloexanol e assim é eliminado, bem como sua forma metabolizada. Também encontramos sua eliminação na forma conjugada com o ácido mercaptúrico (Koller,1990), (Who,1992).

O clordano forma muitos metabólitos ácidos encontrados na urina. Sua excreção atinge o máximo em 2 - 3 dias, porém ainda são observados por cerca de 20 dias. Araujo (Araujo, et al.,1998) em seus estudos mostra que traços podem ser encontrados em até 6 meses após cessada a absorção (Dores,2001).

Sabe-se que o metoxiclor gera três metabólitos e são encontrados na urina. A

taxa de metabolização do metoxiclor é pequena, sendo a maior parte eliminado pelas fezes.

O endosulfan em sua via metabólica se transforma em endosulfandiolo, endosulfan hidroxíesteres, endosulfan lactona, sulfato de endosulfan e em alguns metabólitos polares (Dorough,1978).

### **3 - Validação de Metodologia Analítica**

Muitos processos decisórios administrativos, judiciais e tecnológicos são baseados em resultados de análises químicas quantitativas. Estes resultados analíticos são usados, muitas das vezes para: definir a viabilidade econômica de exploração de um recurso natural; estimar rendimentos de obtenção de um certo produto; avaliar a concentração de certas substâncias no organismo para determinar que tipo de tratamento deve ser aplicado para este ou aquele indivíduo; definir limites de segurança na manipulação de produtos etc.

Independente do objetivo a que se destina o resultado analítico, é de grande importância que esse resultado tenha um certo nível de confiabilidade. Este nível de confiabilidade, quase sempre, é definido em função da utilização ou do propósito daquele resultado. Níveis extremamente rígidos devem ser aplicados quando o resultado analítico venha a por em risco a saúde ou a vida humana. Desta forma, em alguns setores da química analítica é, atualmente, um requisito obrigatório que os laboratórios tenham implementadas as medidas que garantam esta confiabilidade para que estes dados possam ter representatividade legal.

Validar uma metodologia é determinar o grau de confiabilidade dos resultados obtidos, determinando a incerteza destes, fundamentado em padrões analíticos internacionalmente aceitos (Green,1996), (Miller,1988).

Estas medidas de confiabilidade foram definidas pela ISO 9000 e 9001, e no Brasil para atividades de laboratório pela norma ABNT ISO/IEC 17025. Estas medidas incluem:

- o uso de métodos validados;
- o uso de procedimentos internos de controle da qualidade;
- participação em esquemas de ensaio de proficiência;
- credenciamento atendendo aos requisitos da norma ISO 17025;
- estabelecimento da rastreabilidade de resultados e medições.

Há alguns anos, os métodos analíticos eram voltados para melhoria da precisão pela utilização de um método específico, dando-se pouco valor a sua rastreabilidade. Isso levou ao uso de métodos oficiais para atender a requisitos legais e comerciais. Com o rompimento das barreiras comerciais entre os países, os setores responsáveis por gerar resultados analíticos, que anteriormente encontravam-se isolados, passaram a fazer parte de uma grande rede. Desta forma, surgiu a necessidade da padronização, pois como existia agora uma exigência formal para se estabelecer confiança nos resultados, era essencial que o resultado de uma medição fosse rastreável a uma referência definida. Esta referência deveria ser padronizada como, uma unidade do Sistema Internacional de Medidas, um material de referência ou, quando aplicável, um método definido ou empírico. Procedimentos internos de controle da qualidade, ensaios de proficiência e credenciamento foram desenvolvidos para se estabelecer evidências de rastreabilidade para um dado padrão. Como consequência desses requisitos, os laboratórios passaram a sofrer uma crescente pressão por parte do mercado para demonstrarem a qualidade de seus resultados e, particularmente, para demonstrarem sua adequação ao uso, fornecendo uma medida da confiança que pudesse ser alocada ao resultado.

Nos dias atuais, já não são aceitos resultados analíticos de laboratórios que não tenham um sistema da qualidade implementado. Para tanto, a forma mais utilizada para expressar a confiabilidade de um resultado é a **medição da incerteza** associada à sua **rastreabilidade**. Embora o conceito de medição de incerteza tenha sido reconhecido pelos químicos há muitos anos, foi a publicação, em 1993, do “Guia da Expressão da Incerteza na Medição” pela ISO, que formalmente estabeleceu as regras gerais para avaliação e expressão da incerteza em medições, em um amplo espectro de medidas (ABNT,1998), (Eurachem/CITAC,2000).

A incerteza é definida como sendo um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão de valores que poderiam ser razoavelmente atribuídas ao mensurando (Eurachem/CITAC,2000).

O termo incerteza de uma medida quase sempre reporta à idéia de dúvida em relação ao resultado apresentado, porém, para garantia da qualidade, está relacionado com o grau de confiabilidade que este valor apresenta.

Hoje, devido à grande propagação da garantia da qualidade, a palavra incerteza tem sido utilizada de forma muitas vezes equivocada. Os termos: incerteza, erro, precisão e exatidão tem sido utilizados de maneira indiscriminada, porém, estas expressões apresentam significados diferentes.

- A incerteza de uma medida está relacionada com o intervalo em que encontra-se o valor do mensurando e esses valores são rastreáveis a um organismo internacional aceito. Sendo assim, a incerteza não pode ser utilizada para correção do resultado medido (Eurachem/CITAC,2000), (Spiegel,1974).
- Erro é definido como a diferença entre um resultado individual e o valor verdadeiro do mensurando. Desta forma, o erro é um valor único. A princípio, o valor de um erro conhecido pode ser aplicado como uma correção ao resultado. Este pode ser dividido em três segmentos: erro aleatório, sistemático e grosseiro (Spiegel,1974).

Erros aleatórios são oriundos de variações que não podem ser controladas e ocasiona a variação dos resultados repetidos. Estes não podem ser corrigidos mais podem ser minimizados com o aumento do número de repetição da medida. Este tipo de erro apresenta uma componente que afetará diretamente a precisão da medida (Spiegel,1974).

O erro sistemático é uma componente do erro que se propaga de forma repetitiva ou varia de forma previsível, não sendo dependente do número de repetições de medidas que venha a se fazer. Devido a isso o erro sistemático apresenta uma componente que atuará na exatidão da medida. Este tipo de erro pode ser minimizado utilizando-se material de referência ou aplicando o método de medida a



programa de controles internos e externos. Uma das formas mais utilizadas para determinação do erro sistemático é a utilização e padrões de referência de alta pureza, onde pode-se comparar os resultados obtidos com o valor real do mensurando. Este tipo de erro é observado quando: se utiliza equipamento não calibrado; não é considerado o branco das análises, quando se incorre em erro no preparo de soluções, etc.

Os erros grosseiros surgem, principalmente, da falha humana quando ocorre uma inversão de dígitos em uma leitura, erros de conta, transporte de dados, etc. Este tipo de erro é de fácil observação quando provoca valores de grande discrepância da média, porém, são quase imperceptíveis quando isso não ocorre (Spiegel,1974).

- Precisão é uma medida do quanto próximo encontram-se os valores de um certo número de determinações, em relação à média destes valores (Spiegel,1974), (Eurachem/CITAC,2000).
- Exatidão é a medida do quão próximo do valor real encontra-se a média de um certo número de determinações (Eurachem/CITAC,2000).

Na aplicação de uma metodologia analítica, a incerteza de um resultado pode estar associada a uma série de parâmetros como amostragem, efeitos da matriz e interferências, condições ambientais, incertezas das massas e equipamentos volumétricos, valores de referência, aproximações e suposições incorporadas ao método e ao procedimento de medição, variação aleatória, entre outros (Spiegel,1974).

### 3.1 - Componentes da incerteza

A incerteza de uma medida, na maioria dos casos, pode ser tratada como sendo uma representação final de um grande número de incertezas que se encontram associadas a esta, e cada incerteza intermediária é chamada de componente da incerteza da medida. Estas incertezas intermediárias quase sempre são representadas por desvio-padrão e são chamadas de **incertezas padronizadas**. Com a combinação das incertezas padronizadas é obtida a incerteza total da medição que é chamada de **incerteza padronizada combinada da medida**  $y$  ( $u_c(y)$ ). Esta incerteza padronizada combinada é dada pela

raiz quadrada da variância total após a combinação de todos os componentes da incerteza, definida pela lei de propagação das incertezas.

Entretanto, faz-se necessário a especificação do intervalo onde se acredita encontrar o valor do mensurando com um certo grau de confiança. Para tanto, calcula-se a **incerteza expandida (U)**, que é obtida multiplicando a incerteza combinada por um fator de abrangência **k**. Este fator de abrangência determinará o nível de confiabilidade da medida e será tão maior quanto maior se desejar o nível de confiabilidade. A este fator de abrangência, muitas das vezes é atribuído o valor 2 porém quando se trabalha com um universo amostral menor que 6 aplica-se o valor bi-caudal de t de Student para o número de graus de liberdade associado a essa contribuição e para o nível de confiança exigido. De forma geral, ao apresentarmos um resultado analítico, apresentamos também o fator de abrangência utilizado para que se possa obter o valor da incerteza combinada.

### **3.2 - Validação de método**

Quando nos referimos à otimização e aplicação de um método analítico, esta adequação é feita por meio de estudos de validação de metodologia. Estes estudos foram desenvolvidos para avaliar e gerar dados quanto ao desempenho total do método e quanto aos fatores de influência que podem ser aplicados à estimativa da incerteza associada aos resultados do método em uso normal.

Os estudos de validação de método dependem fundamentalmente da determinação dos parâmetros totais de desempenho do método. Esses parâmetros são obtidos durante o desenvolvimento do método e através de estudos interlaboratoriais ou seguindo protocolos de validação interna.

Apesar de um método analítico apresentar muitas fontes de incerteza padronizadas ( $u$ ), apenas as fontes de incerteza que apresentam valores significativos entram no cálculo da incerteza combinada ( $u_c$ ), e por conseguinte na incerteza combinada expandida (U). Os principais parâmetros avaliados para determinação da incerteza e validação de um método são: precisão, tendência, linearidade, limite de quantificação, robustez e seletividade. Porém, na grande maioria dos métodos analíticos utilizados não

é necessário determinar todos os parâmetros. A necessidade de determinar este ou aquele parâmetro está intimamente ligado ao tipo de método utilizado (Eurachem/CITAC,2000).

- **Precisão:** Na grande maioria dos métodos a precisão é determinada pela desvio padrão da repetitividade e da reprodutibilidade. A repetitividade indica a variabilidade observada dentro do laboratório, por um curto período, usando o mesmo operador, o mesmo equipamento, etc. O desvio padrão da reprodutibilidade pode ser determinado na participação de estudos interlaboratoriais ou na aplicação da metodologia por outros laboratório . Ele mostra a variabilidade obtida quando diferentes laboratórios analisam a mesma amostra.

- **Tendência:** A tendência de um método analítico é geralmente determinada pelo estudo de materiais de referência relevantes ou por estudos de adição padrão também denominado fortificação. A determinação da tendência total no que concerne a valores de referência apropriados é importante para o estabelecimento da rastreabilidade a padrões reconhecidos, podendo ser expressa como uma recuperação analítica (valor observado ( $V_o$ ) dividido pelo valor esperado ( $V_e$ ) -  $R = V_o/V_e$ ).

A tendência pode ser demonstrada como desprezível, ou ser corrigida, mas em ambos os casos, a incerteza associada à determinação da tendência permanece como um componente essencial da incerteza total.

- **Linearidade:** A linearidade é uma importante propriedade de métodos utilizados para fazer medições numa faixa de concentração. A linearidade de resposta a padrões puros e a amostras simuladas pode ser determinada. A linearidade geralmente não é quantificada, mas é verificada por inspeções ou pelo uso de testes de significância para não-linearidade.

- **Limite de quantificação:** Durante a validação do método, o limite de quantificação normalmente é determinado apenas para estabelecer o limite inferior da faixa de operação de quantificação do método. Embora as incertezas próximas ao limite de quantificação possam requerer consideração cuidadosa e tratamento especial, o limite de quantificação, como determinado, não é de

relevância direta na estimativa da incerteza.

- **Robustez ou rugosidade:** Muitos protocolos de desenvolvimento de métodos ou de validação exigem que a sensibilidade a parâmetros específicos seja investigada diretamente. Isso geralmente é feito através de um “teste de rugosidade” preliminar, no qual o efeito das mudanças de um ou mais parâmetros é observado. Se for significativo é feito um estudo mais detalhado para medir o tamanho do efeito e permitir a seleção de um intervalo permitido de operação aceitável.
- **Seletividade/especificidade:** Estes parâmetros são relativos ao grau com que um método responde unicamente ao analito exigido. Os estudos de seletividade podem apresentar grande variação de método para método, entretanto, a seletividade/especificidade, de forma geral, investiga os efeitos dos prováveis interferentes presentes nas amostras. Estes estudos são realizados geralmente através da adição de potenciais interferentes tanto no branco quanto nas amostras enriquecidas.

### 3.3 - Rastreabilidade

Um dos maiores desafios na definição de uma norma padrão aceita mundialmente, foi gerar mecanismos que permitissem a comparação de resultados de diferentes laboratórios de forma que estes apresentassem um nível de confiabilidade aceito por toda comunidade. Isso foi conseguido assegurando-se que todos os laboratórios estivessem trabalhando dentro da mesma escala de medida e que os resultados apresentados se reportassem a um mesmo padrão de referência. Estes padrões de referências foram estabelecidos internacionalmente e uma rede de sistema de calibração foi montada para que fosse possível levar a confiabilidade daquele padrão de referência para os padrões utilizados em cada laboratório. Esta rede passou a ser chamada de **rede de calibração**. Um padrão de referência nacional encontra-se associado a padrões de referência internacionais que por sua vez estão atrelados ao padrão primário para aquele tipo de determinação. Esta cadeia contínua de comparações, levando a valores de referência conhecidos, proporciona o que chamamos de “**rastreabilidade**” que é formalmente definida como:

“Propriedade do resultado de uma medição ou do valor de um padrão estar relacionado a referências estabelecidas, geralmente a padrões nacionais ou internacionais, através de uma cadeia contínua de comparações, todas tendo incertezas estabelecidas.” (ABNT-ISO/IEC-17025,2001), (Eurachem/CITAC,2000).

A rastreabilidade está intimamente ligada à incerteza, pois a concordância entre laboratórios é limitada, em parte, por incertezas incorridas nas cadeia que define a rastreabilidade. Desta forma a incerteza de uma medida está associada à incerteza do método utilizado para gerar a medida e a incerteza da referência adotada.

Para determinação da rastreabilidade de uma medida faz-se necessário a utilização dos seguintes procedimentos ou uma combinação deles:

- Uso de padrões rastreáveis para calibrar os equipamentos de medição;
- Pelo uso, ou por comparação dos resultados de um método primário;
- Pelo uso de um Material de Referência (MR) de substância pura;
- Pelo uso de um Material de Referência Certificado (MRC) com uma matriz apropriada e,
- Pelo uso de um procedimento aceito e rigorosamente definido ( um método já validado e com rastreabilidade definida).

## 4 - Materiais e Métodos

### 4.1 - Vidraria utilizada

Para o preparo das soluções e desenvolvimento da metodologia de análise descrita neste trabalho foram utilizados os materiais de vidro descritos na tabela 2:

Tabela 2: Vidraria utilizada na implementação da metodologia analítica.

| <b>Material</b>                  | <b>Incerteza<br/>(mL)</b> |
|----------------------------------|---------------------------|
| Pipeta Volumétrica de 1,00 mL    | 0,007                     |
| Pipeta Volumétrica de 2,00 mL    | 0,01                      |
| Pipeta Volumétrica de 3,00 mL    | 0,01                      |
| Pipeta Volumétrica de 4,00 mL    | 0,015                     |
| Pipeta Volumétrica de 5,00 mL    | 0,015                     |
| Pipeta Volumétrica de 10,00 mL   | 0,02                      |
| Balão Volumétrico de 50,00 mL    | 0,06                      |
| Balão Volumétrico de 100,00 mL   | 0,1                       |
| Tubo Concentrador 100,00/1,00 mL | 0,01 em 1,00              |
| Pipeta Pasteur                   | -                         |
| Erlenmeyer de 250 mL             | -                         |
| Becher de 250 mL                 | -                         |
| Funil de Decantação de 500 mL    | -                         |

### 4.2 - Equipamentos utilizados

Os principais equipamentos utilizados estão listados na tabela 3.

Tabela 3: Equipamentos utilizados.

| Equipamento  | Marca/Modelo                 |
|--|------------------------------|
| Cromatógrafo a gás com detector de captura de elétrons | HP/6890                      |
| Sistema de injeção automática                          | HP/7683                      |
| Balança analítica                                      | Metler/AE200                 |
| Balança técnica  | Sartorius MC1/LC2200S        |
| Evaporador Rotatório                                   | Büchi/R-144                  |
| Banho de sonificação                                   | Branson/5210                 |
| Estação de trabalho - ChemStation                      | HP/Vectra                    |
| Sistema de ultrapurificação de água                    | Millipore/Milli-Q - Academic |

### 4.3 - Limpeza de material

#### 4.3.1 - Vidraria

Para garantia da confiabilidade dos resultados obtidos, todo material de vidro utilizado neste trabalho foi submetido à metodologia de limpeza descrita abaixo:

- rinsagem com acetona PA;
- lavagem com água corrente;
- imersão em solução de detergente - Extran 5% (v/v) por um período de, no mínimo, 12 horas;
- sonificação, com detergente(Extran 5% (v/v)), por 30 minutos;
- lavagem em água corrente;
- sonificação em banho de ultra-som por 30 minutos em água (água tipo 1). Esta etapa foi repetida por mais 2 vezes;
- rinsagem com acetona PAR;
- rinsagem com hexano PAR.

Após a última rinsagem o hexano utilizado foi transferido para um tubo concentrador onde foi concentrado a 1 mL e encaminhado para análise por cromatografia para avaliação de possíveis contaminantes da vidraria. Esta análise por cromatografia foi realizada sob as mesmas condições de análise das amostras, diferindo

apenas na curva de aquecimento do forno, onde se utilizou a programação descrita na tabela 4 e ilustrada na figura 3. Esta curva difere da curva utilizada para análise das amostras pois neste ponto o interesse era observar a ausência de contaminação.

Tabela 4: Condições de aquecimento do forno para análise do hexano de rinsagem.

|                      |                                     |                 |
|----------------------|-------------------------------------|-----------------|
| Programação do Forno | Temperatura Inicial (tempo inicial) | 100 °C (1 min)  |
|                      | Taxa de aquecimento                 | 15 °C/min       |
|                      | Temperatura final (tempo final)     | 280 °C (10 min) |

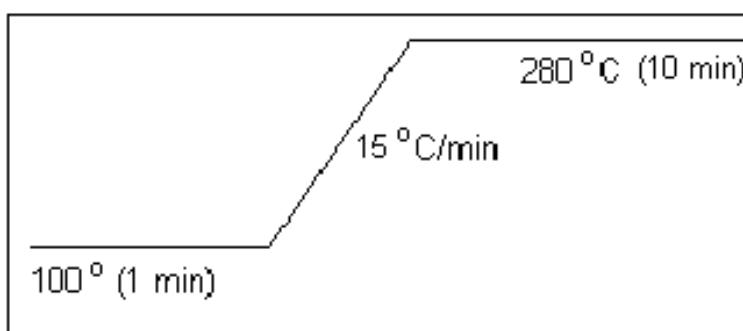


Figura 3: Programação de aquecimento do forno para análise do hexano de rinsagem.

Após a lavagem, o material seco foi protegido com papel alumínio e guardado para nova utilização.

#### 4.3.2 - Limpeza do evaporador rotatório

Devido à impossibilidade de desmontar o sistema de vácuo e condensação do evaporador rotatório para limpeza segundo os procedimentos do ítem 4.3.1, adotou-se a seguinte metodologia de limpeza após cada utilização:

- rinsagem com água;
- rinsagem com acetona PA;
- rinsagem com água ultra-pura (água tipo 1);
- rinsagem com acetona PAR (exaustivamente);



- rinsagem com hexano PAR.

Após a última rinsagem, o hexano utilizado foi transferido para um tubo concentrador onde foi concentrado a 1 mL e encaminhado para análise por cromatografia. Esta análise por cromatografia foi realizada sob as mesmas condições descritas no item 4.3.1.

#### 4.4 - Reagentes

Para desenvolvimento deste estudo foi necessário a obtenção de reagentes de alto grau de pureza e padrões certificados das substâncias de interesse. Os reagentes e padrões utilizados nesta metodologia estão listados na tabela 5. O sulfato de sódio utilizado, apesar de não apresentar um grau de pureza "Para análise de resíduo", foi tratado previamente antes da sua utilização.

Tabela 5: Reagentes e padrões utilizados neste trabalho.

| Reagente                        | Marca        |
|---------------------------------|--------------|
| Hexano para análise de resíduo  | OmniSolv     |
| Acetona para análise de resíduo | OmniSolv     |
| Sulfato de Sódio (anidro)       | Merck        |
| Água (Tipo 1)                   |              |
| Padrão de $\alpha$ -HCH         | AccuStandart |
| Padrão de $\beta$ -HCH          | AccuStandart |
| Padrão de $\gamma$ -HCH         | AccuStandart |
| Padrão de $\delta$ -HCH         | AccuStandart |
| Padrão de BHC                   | AccuStandart |
| Padrão de p,p'-DDT              | AccuStandart |
| Padrão de o,p'-DDT              | AccuStandart |
| Padrão de p,p'-DDD              | AccuStandart |
| Padrão de o,p'-DDD              | AccuStandart |
| Padrão de p,p'-DDE              | AccuStandart |
| Padrão de o,p'-DDE              | AccuStandart |
| Padrão de Endosulfan            | AccuStandart |

|                      |              |
|----------------------|--------------|
| Padrão de Dieldrin   | AccuStandart |
| Padrão de Endrin     | AccuStandart |
| Padrão de Metoxiclor | AccuStandart |
| Padrão de Alaclor    | AccuStandart |
| Padrão de Aldrin     | AccuStandart |
| Acetona PA           | Merck        |
| Extran (neutro)      | Merck        |

---

#### 4.5 - Preparo das soluções padrão

Solução 1:

Pesou-se em balança analítica 10,0 mg do padrão de interesse, transferindo quantitativamente, após solubilização, a massa obtida para balão volumétrico de 100,00 mL e avolumando como solvente adequado. Este procedimento foi realizado para cada padrão analítico descrito neste trabalho.

Solução 2:

Retirou-se 1,00 mL da solução 1 de cada padrão para balão volumétrico de 100,00 mL, obtendo-se uma solução com todos os pesticidas de interesse a uma concentração de 1 mg.L<sup>-1</sup> (solução 2). Desta solução 2 foram preparadas as soluções utilizadas na realização deste trabalho.

#### 4.6 - Otimização das condições cromatográficas

O estudo para otimização das condições cromatográficas foi realizado com uma solução de 20 µg.L<sup>-1</sup> em hexano, contendo todos os pesticidas de interesse, sendo obtidas as condições apresentadas na tabela 6:

Tabela 6: Condições cromatográficas

| Parâmetro               | Condição |
|-------------------------|----------|
| Temperatura do Injetor  | 250 °C   |
| Temperatura do Detector | 300 °C   |

Volume injetado

2  $\mu$ L

(splitless com purga de 60 mL/ min após 0,75 do minuto)

Coluna Cromatográfica: Agilent Technologies INC

HP-5 (30 m x 0,32 mm x 0,25  $\mu$ m)

|  |  |                |
|--|--|----------------|
| Programação do Forno                         | Temperatura Inicial                      | 100 °C (1 min) |
|  | Taxa de aquecimento 1                    | 5 °C/min       |
|  | Temperatura final 1                      | 240 °C         |
|  | Taxa de aquecimento 2                    | 10 °C/min      |
|  | Temperatura final 2                      | 280 °C         |
| Gás Carreador                                | Nitrogênio                               | 1 mL/ min      |
| Detetor                                      | Captura de elétrons ( $\text{Ni}^{63}$ ) |                |
| Fluxo de gás do detetor                      | 60 mL/min                                |                |
| Solvente de Lavagem da seringa (solvente 1)  | Acetona (PAR)                            |                |
| Solvente de Lavagem da seringa (solvente 2)  | Hexano(PAR)                              |                |
| Número de lavagens da seringa com solvente 1 | 10                                       |                |
| Número de lavagens da seringa com solvente 2 | 10                                       |                |
| Número de rinsagens da seringa com amostra   | 3  |                |

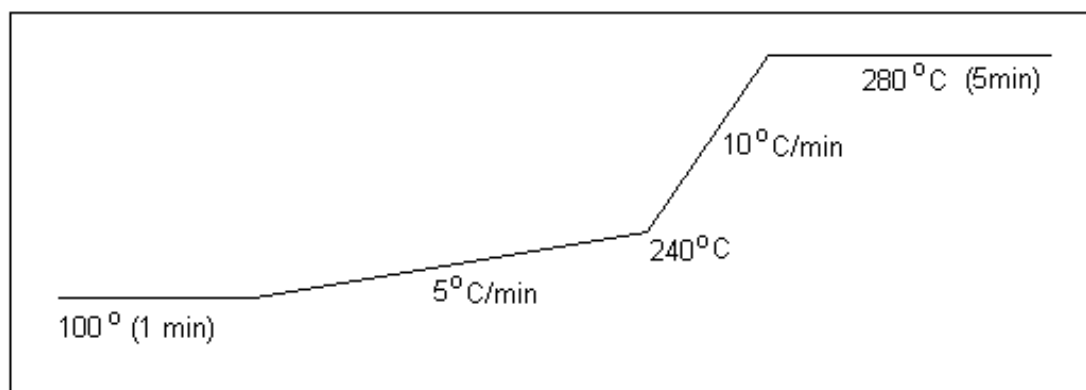


Figura 4: Programação de aquecimento do forno utilizado neste método

#### 4.7 - Método de análise

Com a intensificação dos estudos e determinação dos efeitos provocados pelos compostos organoclorados à saúde humana, um grande número de metodologias analíticas foram sendo propostas para determinação destes compostos nas mais variadas matrizes (Tolosa,1996), (Broodtmann,1979), (Whitfield,1987), (Nyström,1992), (Frébortová,1995).

A determinação do nível de contaminação da água por compostos organoclorados, com o passar dos anos, tem-se tornado de alta complexidade e extremamente onerosa. Este fato tem origem na diminuição dos níveis de concentração exigidos pela legislação. Desta forma, sistemas de maior sensibilidade e seletividade têm sido desenvolvidos para determinação destes compostos (Zenella,2000), (Zander,1992), (Picó,1994), (Picó,1995).

As metodologias analíticas aplicadas neste trabalho foram baseadas nos métodos utilizados pelo órgão de proteção ambiental dos EUA (US-EPA, série 500). Apesar desses métodos para análise de pesticidas em água já terem sido validados, foi necessário uma nova validação uma vez que não foi possível aplicar o método sem modificações.

A figura 5 descreve o fluxograma da metodologia desenvolvida neste trabalho.

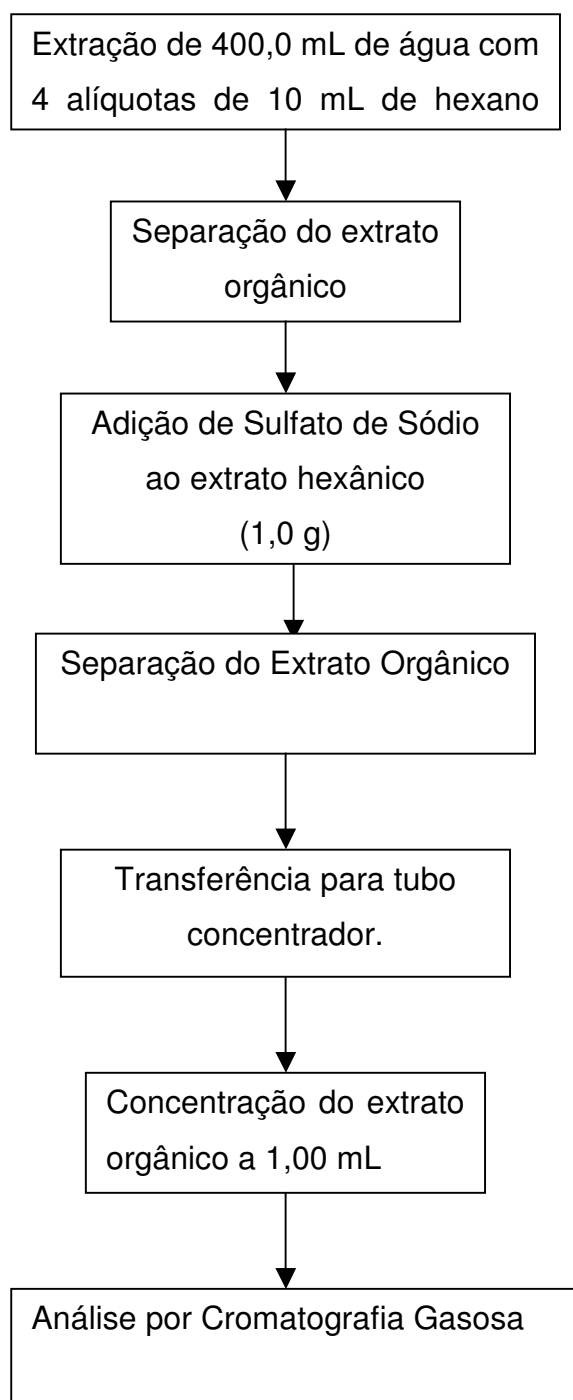


Figura 5: Fluxograma da metodologia de análise utilizada neste trabalho.

Antes da utilização do sulfato de sódio este foi extraído com hexano PAR, seguido de secagem a 120 °C por 48 horas, mantendo em atmosfera seca até sua utilização.

A etapa de concentração da amostra foi feita em evaporador rotatório a uma temperatura nunca superior a 40 °C e sob vácuo de 400 mmHg.

## **5 - Metodologia para Validação**

O estabelecimento de critérios de comparação entre resultados analíticos muitas vezes é de extrema complexidade. Esta comparação analítica se torna ainda mais difícil quando os métodos e resultados analíticos são exclusivamente avaliados por meio de ensaios sobre amostras "fortificadas" com analitos numa forma física e/ou química diferente daquela em que se apresentam nas amostras reais (Silva,2001), (Gillespie,1995).

Estas diferenças são muito marcantes quando nos referimos às metodologias aplicadas para análise de fluidos biológicos, onde na maioria dos casos, o analito encontra-se conjugado a biomoléculas. É comum encontrarmos metodologias que analisam o metabólito, fazendo assim uma determinação indireta (Hutson,1974), (Hutson,1975), (Beldford,1975). Nestes casos não existem materiais de referência certificados adequados, sendo necessário recorrer a estimativa da incerteza dos resultados (Soto, 1967), (Khan,1972).

Quando se refere a de metodologias analíticas voltadas para análise de amostras ambientais como água, solo ou ar, já não se encontra esta limitação. Porém neste tipo de análise se esbarra no problema da representatividade amostral, principalmente quando trabalhando com água ou ar. Pode-se encontrar um grande número de trabalhos voltados para validação de metodologias para as mais variadas matrizes, porém o número de metodologias voltadas para validação de amostragem é extremamente reduzido (Pinto,1999), (Zenella, et al.,2000), (Ferrer,1999), (Pinto,2000), (Ferrari,1998).

A metodologia de validação aplicada neste trabalho seguiu os seguintes passos:

- definição do mensurando;
- identificação e quantificação das fontes de incertezas;
- quantificação das componentes de incerteza;
- cálculo da incerteza combinada;
- cálculo da incerteza expandida.

### **5.1 - Definição do mensurando.**

Este método tem como objetivo implementar e validar uma metodologia analítica para determinação do grau de contaminação da água de distribuição por pesticidas organoclorado utilizando cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons. Tem também como objetivo secundário aplicar esta metodologia à água distribuída na cidade do Rio de Janeiro.

### **5.2 - Identificação e quantificação das fontes de incerteza**

O método analítico utilizado para quantificação de compostos organoclorados apresentado neste trabalho apresenta características qualitativas e quantitativas. Desta forma, faz-se necessário levar em consideração a incerteza de ambos os parâmetros. Fazendo uma análise crítica de toda metodologia chega-se a uma racionalização dos parâmetros representativos na incerteza do método. Estes parâmetros são:

- especificidade do método (parâmetro qualitativo);
- linearidade do método;
- tendência (parâmetro quantitativo);
- precisão;

- limite de quantificação.

### **5.2.1 - Especificidade do método analítico**

Para avaliação da incerteza da especificidade foram preparadas soluções dos pesticidas a uma concentração de  $40 \mu\text{g.L}^{-1}$  em hexano. Estes compostos foram analisados separadamente para identificação e caracterização do tempo de retenção (TR).

Preparou-se uma solução contendo todos os pesticidas de interesse a uma concentração de  $40 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Esta solução foi analisada 5 vezes para determinação da incerteza do TR. Na figura 6 podemos encontrar um cromatograma desta solução.

Para desenvolvimento do estudo de especificidade do método fez-se necessário a determinação do grau de pureza dos reagentes utilizados. Para tanto aplicou-se toda metodologia à uma amostra de água isenta dos compostos de interesse. Obtendo-se o cromatograma mostrado na figura 7.

Todas as análises foram realizadas sob as mesmas condições cromatográficas descritas no item 4.6. A tabela 7 apresenta os valores do TR, o valor médio e o desvio padrão para cada composto analisado. Fazendo uma análise do desvio padrão obtido podemos perceber que esta técnica analítica apresenta um pequeno desvio para o TR.

### **5.2.2 - Determinação da linearidade do método analítico**

A determinação da linearidade do método foi avaliada preparando soluções de concentração dentro da faixa de interesse e avaliando a resposta em termos de área dos picos cromatográficos.

A faixa de concentração utilizada foi de  $20 \mu\text{g.L}^{-1}$  a  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$  no extrato final. Cada solução foi analisada em triplicata para determinação da dispersão de resposta do detector em cada nível de concentração.



### **5.2.3 - Tendência da metodologia analítica**

A avaliação da tendência do método foi realizada simulando uma amostra com todos os compostos de interesse a uma concentração perfeitamente definida. Esta amostra foi preparada com água do tipo 1 e contaminada com os compostos de interesse de tal forma que, ao aplicarmos uma metodologia que levasse a uma extração completa desses compostos chegaríamos a uma solução padrão em hexano de  $60 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Os padrões utilizados foram todos padrões certificados. A amostra foi processada segundo a metodologia analítica descrita no item 4.7.

### **5.2.4 - Precisão da metodologia analítica**

A incerteza da precisão foi obtida da análise de 5 amostras idênticas processadas segundo a metodologia do item 4.7. Cada solução final obtida foi analisada em CG em triplicata obtendo-se assim uma dispersão de 15 pontos.

O grau de precisão de uma metodologia determina o intervalo de confiança que um resultado pode assumir, ou seja, determina nível de dispersão dos resultados analíticos quando aplicado a uma mesma amostra, repetidas vezes, a mesma metodologia. Esta incerteza muitas vezes é dada pelo desvio padrão entre os resultados obtidos porém a maioria dos laboratório não trabalha com repetições superiores a 5. Desta forma o valor de abrangência  $k$  utilizado foi de 2,8 para 5 graus de liberdade para 95% de precisão.

### **5.2.5 - Limite de Quantificação**

Para fins práticos adotou-se, neste trabalho, para limite de quantificação um valor que após a amostra extraída levasse a uma concentração de  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  em extrato hexânico, considerando o pior valor de tendência obtido (66,5%), O valor alcançado em água foi de  $0,008 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

## **6 - Metodologia de amostragem**

Para definição dos pontos de coleta de amostra foi necessário fazer uma avaliação de toda rede de distribuição de água da cidade do Rio de Janeiro. Após este estudo foi escolhido o bairro de Botafogo, uma vez que este é abastecido apenas pelo sistema guandu.

Não foi possível desenvolver um obter um plano de amostragem para este trabalho. Desta forma coletou-se as amostras segundo os seguintes parâmetros:

- Espaço para armazenamento;
- Permissão dos moradores;
- Possibilidade de execução das análises dentro do prazo de estocagem;
- Transporte.

As amostras foram coletadas percorrendo as ruas do Bairro de Botafogo.

### **6.1 - Análise das amostras**

Cada amostra foi dividida em duas alíquotas de 400,00 mL e analisadas segundo a metodologia descrita no item 4.7. Cada alíquota foi injetada no cromatógrafo duas vezes. Os parâmetros cromatográficos utilizados estão descritos no item 4.6.

## **7 - Resultados e Discussão**

### **7.1 - Especificidade do método analítico**

A especificidade do método determina o grau de incerteza na identificação da substância de interesse. Para determinação deste parâmetro procedeu-se como descrito no item 5.2.1. obtendo-se a incerteza dos tempos de retenção de cada composto de interesse. Os valores de TR encontrados em cada análise para os diferentes compostos analisados estão mostrados na tabela 7. Podemos encontrar na tabela 8 a relação do desvio padrão e a média dos resultados obtidos, demonstrando uma pequena dispersão dos resultados em relação à média.

Tabela 7: Valores de tempo de retenção e desvio padrão (s) dos compostos analisados para 5 injeções.

| Composto            | TR1    | TR2    | TR3    | TR4    | TR5    | Média  | Desv.       |
|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------|
|                     |        |        |        |        |        |        | Pad.<br>(s) |
| alfa-HCH            | 18,260 | 18,259 | 18,258 | 18,259 | 18,259 | 18,259 | 0,00071     |
| BHC                 | 18,559 | 18,557 | 18,555 | 18,556 | 18,557 | 18,557 | 0,0015      |
| Beta-HCH            | 19,329 | 19,329 | 19,327 | 19,328 | 19,328 | 19,328 | 0,00084     |
| Gama-HCH            | 19,567 | 19,556 | 19,564 | 19,566 | 19,566 | 19,564 | 0,0045      |
| Delta-HCH           | 20,511 | 20,500 | 20,509 | 20,511 | 20,511 | 20,508 | 0,0048      |
| Alaclor             | 22,407 | 22,407 | 22,406 | 22,408 | 22,408 | 22,407 | 0,00084     |
| Aldrin              | 23,636 | 23,635 | 23,635 | 23,636 | 23,636 | 23,636 | 0,00055     |
| o,p'-DDE            | 26,222 | 26,221 | 26,220 | 26,221 | 26,221 | 26,221 | 0,000710    |
| Endosulfan          | 26,444 | 26,443 | 26,443 | 26,444 | 26,444 | 26,444 | 0,000550    |
| p,p'-DDE + Dieldrin | 27,375 | 27,374 | 27,373 | 27,375 | 27,375 | 27,374 | 0,000890    |
| o,p'-DDD            | 27,662 | 27,662 | 27,661 | 27,663 | 27,663 | 27,662 | 0,000840    |
| Endrin              | 28,159 | 28,158 | 28,156 | 28,158 | 28,158 | 28,158 | 0,00110     |
| p,p'-DDD            | 28,849 | 28,848 | 28,848 | 28,850 | 28,850 | 28,849 | 0,00110     |
| o,p'-DDT            | 28,965 | 28,946 | 28,963 | 28,965 | 28,965 | 28,961 | 0,00830     |
| p,p'-DDT            | 30,089 | 30,089 | 30,088 | 30,090 | 30,090 | 30,089 | 0,000840    |
| Metoxiclor          | 31,754 | 31,752 | 31,752 | 31,754 | 31,754 | 31,753 | 0,00110     |

Tabela 8: Relação entre a média, desvio padrão e o valor relativo do desvio padrão em relação à média.

| Composto            | Média<br>(TR) | Desv. Pad.<br>(s)    | S/média              |
|---------------------|---------------|----------------------|----------------------|
| alfa-HCH            | 18,259        | $7,1 \times 10^{-4}$ | $3,9 \times 10^{-5}$ |
| BHC                 | 18,557        | $1,5 \times 10^{-3}$ | $8,1 \times 10^{-5}$ |
| Beta-HCH            | 19,328        | $8,4 \times 10^{-4}$ | $4,3 \times 10^{-5}$ |
| Gama-HCH            | 19,564        | $4,5 \times 10^{-3}$ | $2,3 \times 10^{-4}$ |
| Delta-HCH           | 20,508        | $4,8 \times 10^{-3}$ | $2,3 \times 10^{-5}$ |
| Alaclor             | 22,407        | $8,4 \times 10^{-4}$ | $3,7 \times 10^{-5}$ |
| Aldrin              | 23,636        | $5,5 \times 10^{-4}$ | $2,3 \times 10^{-5}$ |
| o,p'-DDE            | 26,221        | $7,1 \times 10^{-4}$ | $2,7 \times 10^{-5}$ |
| Endosulfan          | 26,444        | $5,5 \times 10^{-4}$ | $2,1 \times 10^{-5}$ |
| p,p'-DDE + Dieldrin | 27,374        | $8,9 \times 10^{-4}$ | $3,1 \times 10^{-5}$ |
| o,p'-DDD            | 27,662        | $8,4 \times 10^{-4}$ | $3,0 \times 10^{-5}$ |
| Endrin              | 28,158        | $1,1 \times 10^{-3}$ | $3,9 \times 10^{-5}$ |
| p,p'-DDD            | 28,849        | $1,1 \times 10^{-3}$ | $3,8 \times 10^{-5}$ |
| o,p'-DDT            | 28,961        | $8,3 \times 10^{-3}$ | $2,8 \times 10^{-4}$ |
| p,p'-DDT            | 30,089        | $8,4 \times 10^{-4}$ | $2,8 \times 10^{-5}$ |
| Metoxiclor          | 31,753        | $1,1 \times 10^{-3}$ | $3,5 \times 10^{-5}$ |

Como podemos perceber o método apresenta grande especificidade, onde o maior desvio padrão para as cinco injeções foi de 0,0011 para os compostos endrin, p,p'-DDT, e metoxiclor (tabela 7). Os compostos p,p'-DDE e dieldrin apresentaram sob as condições de análise uma sobreposição dos intervalos de TR. Desta forma passou-se a considerar como sendo uma única substância. Podemos perceber a grande proximidade dos resultados obtidos quando avaliamos o desvio padrão relativo à média (S/média).

Pelos valores de resolução obtidos (tabela 9) podemos observar que cada compostos pode ser identificado e quantificado sem a necessidade da utilização de técnicas de integração mais sofisticadas como a deconvolução, uma vez que a menor resolução obtida entre dois picos foi maior que 1.

Tabela 9: Média dos tempos de retenção (TR), largura da base do pico cromatográfico (Wb) e resolução entre dois picos consecutivos (R).

| Composto   | Média de TR<br>(min) | Wb (min) | R     |
|------------|----------------------|----------|-------|
| Alfa-HCH   | 18,259               | 0,0536   | 2,63  |
| BHC        | 18,557               | 0,0595   | 6,65  |
| Beta-HCH   | 19,328               | 0,0565   | 2,14  |
| Gama-HCH   | 19,564               | 0,0536   | 8,70  |
| Delta-HCH  | 20,508               | 0,0550   | 16,98 |
| Alaclor    | 22,407               | 0,0568   | 10,99 |
| Aldrin     | 23,636               | 0,0550   | 23,70 |
| o,p'-DDE   | 26,221               | 0,0541   | 1,99  |
| Endosulfan | 26,444               | 0,0577   | 7,68  |
| p,p'-DDE   | 27,374               | 0,0635   | 2,42  |
| o,p'-DDD   | 27,662               | 0,0552   | 4,45  |
| Endrin     | 28,158               | 0,0561   | 6,41  |
| p,p'-DDD   | 28,849               | 0,0518   | 1,12  |
| o,p'-DDT   | 28,961               | 0,0482   | 11,18 |
| p,p'-DDT   | 30,089               | 0,0527   | 16,93 |
| Metoxiclor | 31,753               | 0,0456   |       |

Laboratorio de Toxicologia - Agrotóxicos

Data file : C:\HPCHEM\1\DATA\DSA03042\SIG10003.D  
 Data da injeção: 4/3/2004 6:17:26 PM Seq Line : 2  
 Nome da amostra: mistura 40ppb Localizaca-> Vial 2  
 Operador: Sergio Inj. No. : 2  
 Inj. Vol. : 1

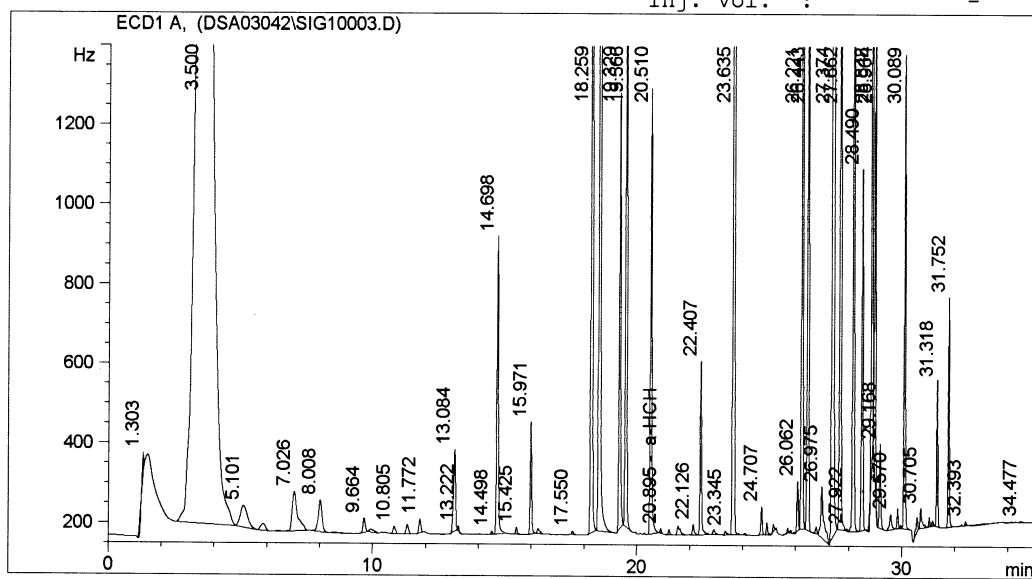


Figura 6: Cromatograma de solução padrão a 40 µg.L<sup>-1</sup> contendo todos os compostos de interesse utilizado no estudo de especificidade do método.

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\DSA17042\SIG10001.D Sample Name: Solvente hexano

```
=====
Injection Date : 4/17/2004 6:16:18 PM      Seq. Line : 1
Sample Name    : Solvente hexano           Location  : Vial 1
Acq. Operator  : Sergio                   Inj      : 1
                                           Inj Volume: 2 µl

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\DSSA.M
Last changed   : 4/17/2004 6:14:36 PM by Sergio
Analysis Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\BOANOITE.M
Last changed   : 4/19/2004 8:30:30 AM by Sergio
                (modified after loading)
```

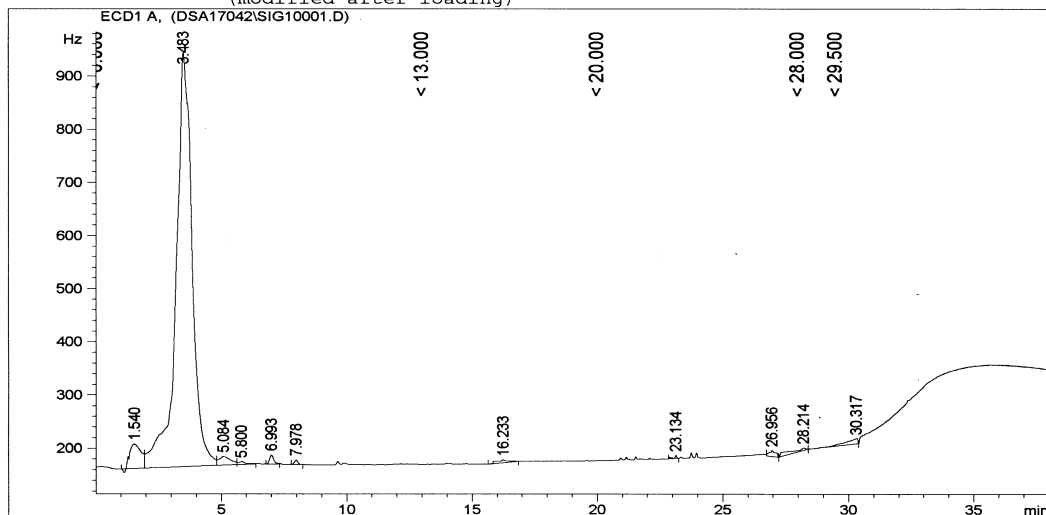


Figura 7: Cromatograma do branco utilizado no estudo de especificidade do método.

## 7.2 - Linearidade

O estudo da linearidade da resposta cromatográfica em função da concentração foi realizado obtendo-se curvas do tipo área x concentração. As tabelas de 10 a 25 apresentam os resultados encontrados das áreas em função da concentração para cada composto estudado neste trabalho. Esta análise foi feita em triplicata para avaliação da dispersão dos pontos na construção do gráfico de residual de concentração. As figuras de 8 a 23 apresentam os gráficos de regressão linear obtidos e na tabela 26 temos os valores encontrados dos coeficientes angulares, lineares e de correlação destas curvas.

Tabela 10: Áreas cromatográficas de alfa-HCH para os estudos da linearidade

| Alfa-HCH                 |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 6981   | 7138   | 7164   | 99,0   |
| 40                       | 15539  | 15665  | 15567  | 66,2   |
| 60                       | 23959  | 24115  | 24070  | 80,3   |
| 80                       | 32659  | 32604  | 32455  | 105,5  |
| 100                      | 41099  | 41260  | 41028  | 118,9  |

Tabela 11: Áreas cromatográficas de BHC para os estudos da linearidade

| BHC                      |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 8079   | 8177   | 8175   | 56,0   |
| 40                       | 16491  | 16579  | 16480  | 54,3   |
| 60                       | 24486  | 24602  | 24570  | 59,9   |
| 80                       | 32801  | 32579  | 32580  | 127,9  |
| 100                      | 40373  | 40420  | 40241  | 92,8   |

Tabela 12 : Áreas cromatográficas de beta-HCH para os estudos da linearidade.

| Beta-HCH                 |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 2057   | 2038   | 2029   | 14,3   |
| 40                       | 4022   | 4090   | 4030   | 37,2   |
| 60                       | 5983   | 6066   | 5999   | 44,0   |
| 80                       | 8001   | 7983   | 8007   | 12,5   |
| 100                      | 9925   | 9955   | 9906   | 24,7   |

Tabela 13: Áreas cromatográficas de gama-HCH para os estudos da linearidade.

| Gama-HCH                 |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 3600   | 3693   | 3703   | 56,8   |
| 40                       | 7939   | 8032   | 7971   | 47,2   |
| 60                       | 12228  | 12393  | 12337  | 83,9   |
| 80                       | 16881  | 16795  | 16833  | 43,1   |
| 100                      | 21242  | 21323  | 21189  | 67,5   |

Tabela 14: Áreas cromatográficas de delta-HCH para os estudos da linearidade.

| Delta-HCH                |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 1675   | 1760   | 1778   | 55,0   |
| 40                       | 4038   | 4076   | 4053   | 19,1   |
| 60                       | 6462   | 6547   | 6485   | 44,0   |
| 80                       | 9098   | 9084   | 9143   | 30,8   |
| 100                      | 11749  | 11908  | 11732  | 97,1   |



Tabela 15: Áreas cromatográficas de alaclor para os estudos da linearidade.

| Alaclor                                  |        |        |        |                  |
|--|--------|--------|--------|------------------|
| Concentração<br>( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Desvio<br>Padrão |
| 20                                       | 872    | 906    | 896    | 17,5             |
| 40                                       | 1667   | 1690   | 1672   | 12,1             |
| 60                                       | 2372   | 2399   | 2383   | 13,6             |
| 80                                       | 3089   | 3086   | 3089   | 1,7              |
| 100                                      | 3726   | 3746   | 3746   | 11,5             |

Tabela 16: Áreas cromatográficas de aldrin para os estudos da linearidade.

| Aldrin                                   |        |        |        |                  |
|--|--------|--------|--------|------------------|
| Concentração<br>( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Desvio<br>Padrão |
| 20                                       | 8085   | 8193   | 8180   | 59,0             |
| 40                                       | 16683  | 16872  | 16766  | 94,7             |
| 60                                       | 25093  | 25257  | 25219  | 85,8             |
| 80                                       | 33769  | 33665  | 33598  | 86,2             |
| 100                                      | 41520  | 41566  | 41611  | 45,5             |

Tabela 17: Áreas cromatográficas de o,p'-DDE+ dieldrin para os estudos da linearidade.

| o,p'-DDE                                 |        |        |        |                  |
|--|--------|--------|--------|------------------|
| Concentração<br>( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Desvio<br>Padrão |
| 20                                       | 3764   | 3803   | 3771   | 20,8             |
| 40                                       | 7564   | 7695   | 7598   | 68,0             |
| 60                                       | 11240  | 11396  | 11288  | 79,9             |
| 80                                       | 14954  | 14967  | 14904  | 33,3             |
| 100                                      | 18284  | 18331  | 18388  | 52,1             |

Tabela 18: Áreas cromatográficas de endosulfan para os estudos da linearidade.

| Endosulfan               |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 3617   | 3681   | 3665   | 33,3   |
| 40                       | 7273   | 7379   | 7322   | 53,1   |
| 60                       | 10881  | 10981  | 10937  | 50,1   |
| 80                       | 14566  | 14571  | 14507  | 35,6   |
| 100                      | 17868  | 17897  | 17973  | 54,2   |

Tabela 19: Áreas cromatográficas de p,p'-DDE para os estudos da linearidade.

| p,p'-DDE + Dieldrin      |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 12238  | 12504  | 12391  | 133,5  |
| 40                       | 25326  | 25797  | 25503  | 237,9  |
| 60                       | 37929  | 38483  | 38095  | 284,3  |
| 80                       | 50622  | 50719  | 50298  | 220,5  |
| 100                      | 61904  | 62171  | 62219  | 169,7  |

Tabela 20: Áreas cromatográficas de o,p'-DDD para os estudos da linearidade.

| o,p'-DDD                 |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 3936   | 4036   | 4006   | 51,3   |
| 40                       | 8004   | 8110   | 8048   | 53,3   |
| 60                       | 11863  | 11973  | 11913  | 55,1   |
| 80                       | 15789  | 15802  | 15681  | 66,4   |
| 100                      | 19282  | 19365  | 19447  | 82,5   |

Tabela 21: Áreas cromatográficas de endrin para os estudos da linearidade.

| Endrin                   |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 3200   | 3356   | 3353   | 89,2   |
| 40                       | 6640   | 6798   | 6758   | 82,1   |
| 60                       | 9982   | 10229  | 10068  | 125,4  |
| 80                       | 13383  | 13456  | 13519  | 68,1   |
| 100                      | 16447  | 16700  | 16568  | 126,5  |

Tabela 22: Áreas cromatográficas de p,p'-DDD para os estudos da linearidade.

| p,p'-DDD                 |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 2484   | 2379   | 2349   | 70,9   |
| 40                       | 5087   | 5114   | 5064   | 25,0   |
| 60                       | 7812   | 7884   | 7866   | 37,5   |
| 80                       | 10754  | 10738  | 10694  | 31,1   |
| 100                      | 13404  | 13585  | 13548  | 95,6   |

Tabela 23: Áreas cromatográficas de o,p'-DDT para os estudos da linearidade.

| o,p'-DDT                 |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 1687   | 1655   | 1642   | 23,2   |
| 40                       | 3484   | 3597   | 3492   | 63,1   |
| 60                       | 5413   | 5704   | 5431   | 163,1  |
| 80                       | 7444   | 7531   | 7499   | 44,0   |
| 100                      | 9410   | 9614   | 9414   | 116,6  |

Tabela 24: Áreas cromatográficas de p,p'-DDT para os estudos da linearidade.

| p,p'-DDT                 |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 1780   | 1917   | 1892   | 73,0   |
| 40                       | 3956   | 4119   | 4002   | 84,0   |
| 60                       | 6126   | 6493   | 6164   | 201,8  |
| 80                       | 8346   | 8480   | 8493   | 81,4   |
| 100                      | 10528  | 10836  | 10536  | 175,6  |

Tabela 25: Áreas cromatográficas de metoxiclor para os estudos da linearidade.

| Metoxiclor               |        |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Concentração             |        |        |        | Desvio |
| ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Padrão |
| 20                       | 885    | 945    | 941    | 33,5   |
| 40                       | 1817   | 1879   | 1846   | 31,0   |
| 60                       | 2698   | 2849   | 2698   | 87,2   |
| 80                       | 3567   | 3642   | 3632   | 40,7   |
| 100                      | 4401   | 4570   | 4405   | 96,4   |

Tabela 26: Coeficientes angulares; lineares e correlação para o estudos da linearidade de cada composto de interesse.

| Padrão     | Coeficiente Angular | Coeficiente Linear | Coeficiente Correlação |
|------------|---------------------|--------------------|------------------------|
| Alfa-HCH   | 425,26              | - 1428,6           | 0,99998                |
| BHC        | 402,69              | 280,6              | 0,9998                 |
| Beta-HCH   | 98,622              | 88,767             | 0,9999                 |
| Gama-HCH   | 220,14              | - 797,7            | 0,9999                 |
| Delta-HCH  | 125,85              | - 911,8            | 0,9989                 |
| Alaclor    | 35,538              | 223,63             | 0,9988                 |
| Aldrin     | 418,65              | - 47,1             | 0,9997                 |
| o,p'-DDE   | 182,16              | 266,67             | 0,9994                 |
| Endosulfan | 178,7               | 152,53             | 0,9997                 |
| p,p'-DDE   | 622,23              | 413,1              | 0,9993                 |
| o,p'-DDD   | 192,24              | 282,8              | 0,9995                 |
| Endrin     | 166,29              | 53,067             | 0,9994                 |
| p,p'-DDD   | 139,29              | - 439,63           | 0,9997                 |
| o,p'-DDT   | 98,015              | - 346,43           | 0,999                  |
| p,p'-DDT   | 109,77              | - 341,87           | 0,9987                 |
| Metoxiclor | 44,182              | 67,433             | 0,9979                 |

Com a equação obtida na regressão linear pôde-se calcular os valores residuais de concentração em relação à curva da regressão linear. Estes valores foram obtidos calculando a diferença entre o valor de concentração para aquele ponto e o valor de concentração esperado.

Plotou-se os valores residuais de concentração em função da concentração esperada e observando-se uma dispersão aleatória em torno do eixo horizontal, caracteriza uma resposta linear em função da concentração.

Os compostos gama-HCH, delta-HCH e p,p'-DDE+Dieldrin, apresentaram uma tendência na dispersão dos pontos da concentração residual. Isto caracteriza uma tendência na distribuição dos pontos em torno da reta obtida pela regressão linear. As figuras de 25 a 27 apresentam os gráficos de concentração residual para gama-HCH, delta-HCH e p,p'-DDE+ Dieldrin respectivamente.

Apesar da resposta do sistema apresentar uma tendência não linear para alguns compostos, esse desvio é extremamente pequeno e pode ser considerado desprezível dentro da faixa de concentração estudada.

Obteve-se um gráfico de área x concentração como mostrado nas figuras de 8 a 23 e por regressão linear determinou-se a equação da melhor reta que passa entre os pontos bem como o coeficiente de correlação entre os pontos e a reta como mostrado na tabela 26 e nas figuras de 8 a 23.

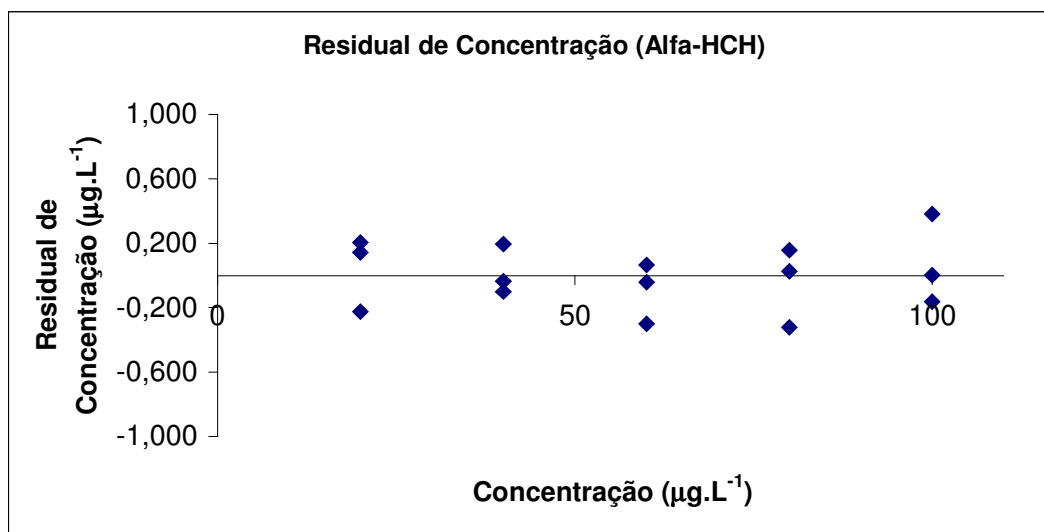


Figura 8: Gráfico de residual de concentração para alfa-HCH

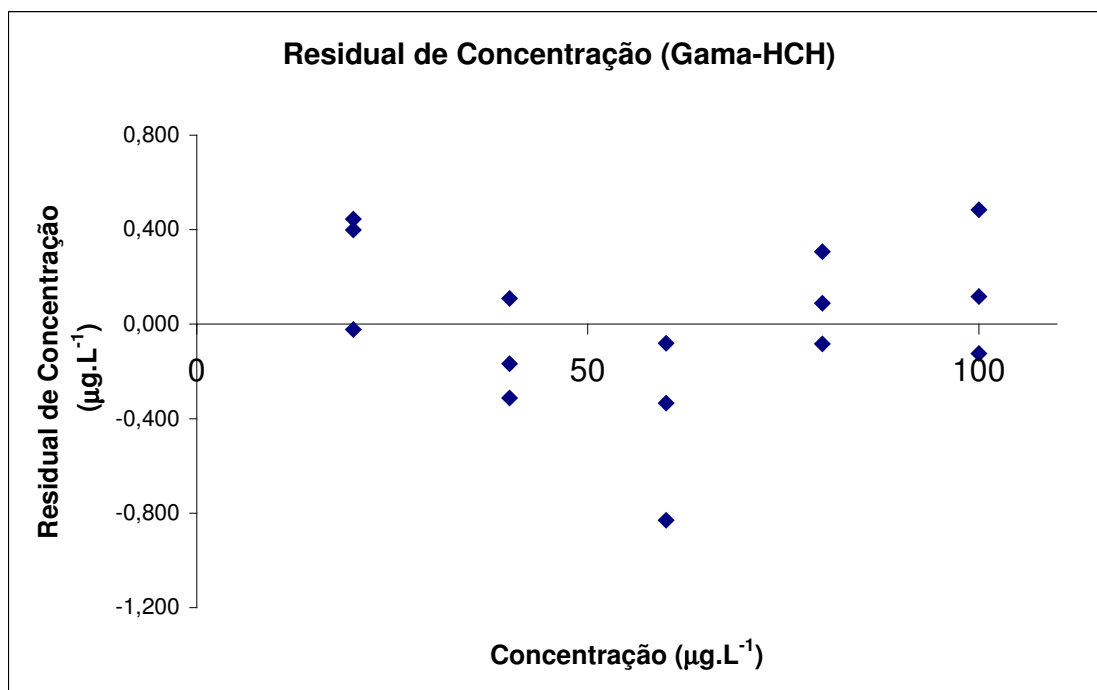


Figura 9: Gráfico de residual de concentração para gama-HCH

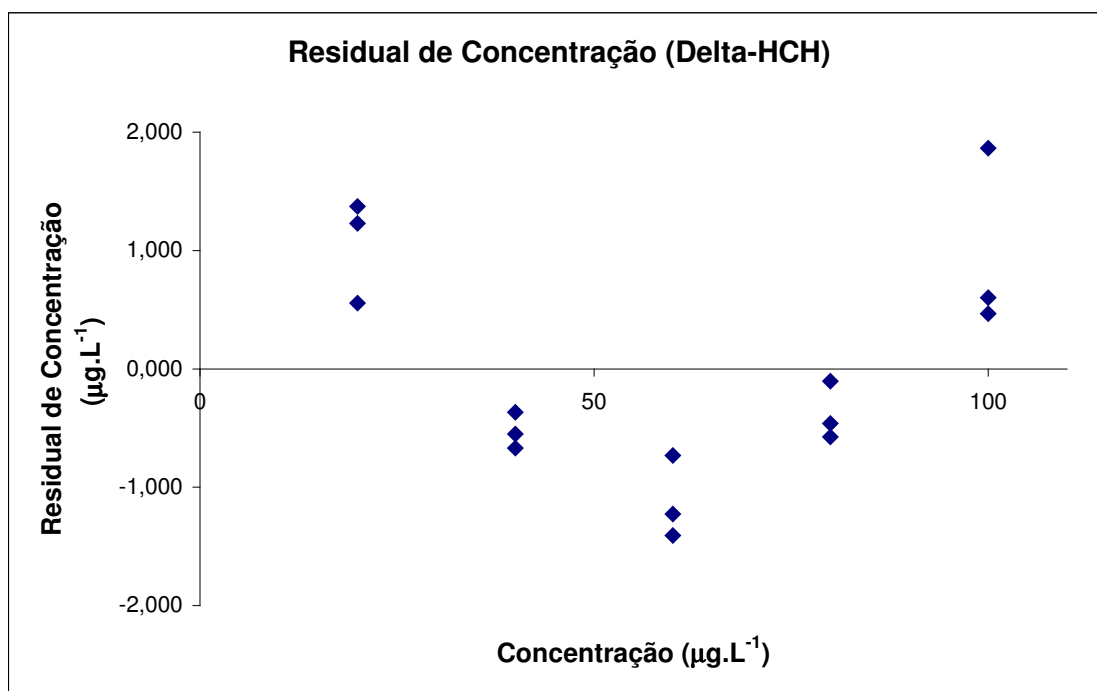


Figura 10: Gráfico de residual de concentração para delta-HCH

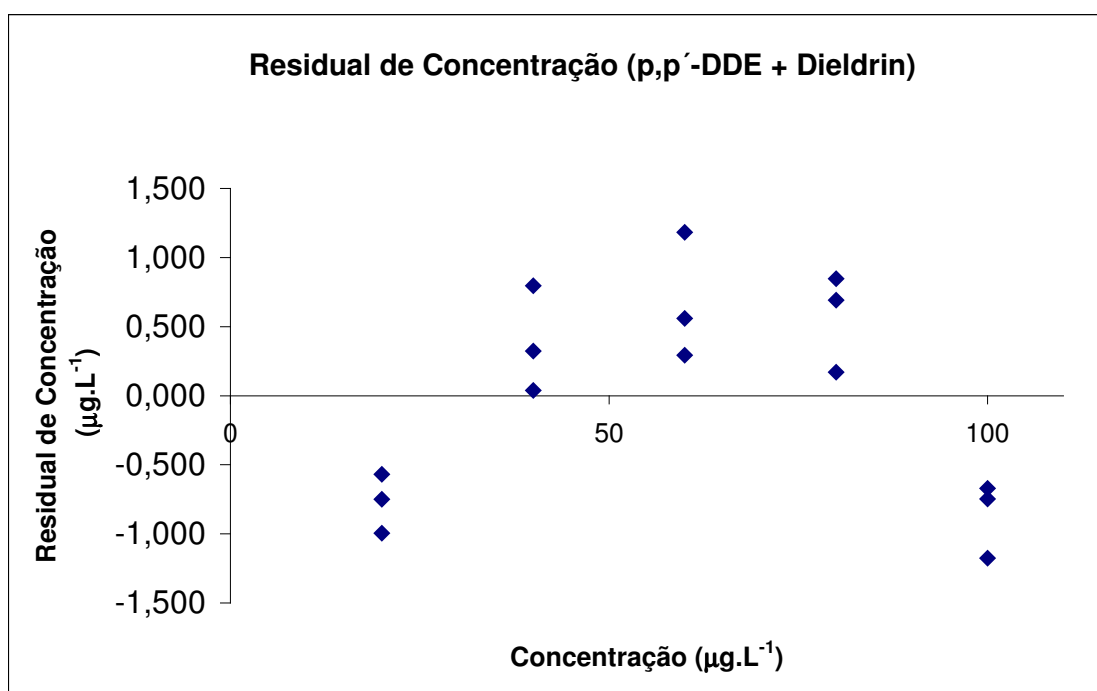


Figura 11: Gráfico de residual de concentração para p,p'-DDE + Dieldrin

### 7.3 - Tendência

A tendência do método foi obtida segundo procedimento descrito em 5.2.3 e para avaliação da incerteza este procedimento foi aplicado em triplicata nas concentrações de 20; 60 e 100 µg.L<sup>-1</sup>, chegando aos resultados apresentados na tabela 27

Tabela 27: Tendência e incerteza encontrados para os compostos de interesse.

| Composto  | Tendência% | Incerteza |
|-----------|------------|-----------|
| alfa-HCH  | 66,5       | 1,6       |
| BHC       | 68,3       | 3,5       |
| Beta-HCH  | 82,9       | 2,4       |
| Gama-HCH  | 72,7       | 2,9       |
| Delta-HCH | 95,4       | 6,2       |
| Alaclor   | 94,6       | 2,1       |
| Aldrin    | 77,1       | 4,5       |
| o,p'-DDE  | 87,2       | 5,1       |



|            |       |      |
|------------|-------|------|
| Endosulfan | 83,7  | 4,9  |
| p,p'-DDE   | 96,4  | 12,2 |
| o,p'-DDD   | 84,8  | 3,2  |
| Endrin     | 99,4  | 1,6  |
| p,p'-DDD   | 101,2 | 20,1 |
| p,p'-DDT   | 112,2 | 39,6 |
| Metoxiclor | 96,8  | 6,5  |

O baixo índice de recuperação para os compostos alfa-HCH e BHC já era esperado uma vez que este comportamento já tinha sido descrito em literatura (MELLO,1999). Os valores obtidos para p,p'-DDD e p,p'-DDT superiores a 100% estão dentro da faixa aceitável do grau de tendência para métodos de análise de resíduos.

#### 7.4 - Precisão

Para avaliação da precisão do método aplicou-se o método de análise com 5 repetições a uma mesma amostra padrão. Os resultados obtidos para todos os compostos de interesse encontram-se na tabela 28. Aplicou-se ao desvio padrão o parâmetro  $k=2,8$  obtido no t de Student para  $n=5$  com um índice de precisão de 95%, chegando aos valores na coluna Desv (k). Desta forma determinou-se o intervalo em que podemos encontrar o valor real da medida com uma precisão de 95%. Para obtermos o valor da precisão foi calculado, em porcentagem, o valor de Desv Pad em relação a média da medida chegando aos valores da coluna % Desv (média).

Como podemos observar apenas o p,p'-DDT apresentou uma porcentagem de desvio padrão superior a 5%, mostrando que o método é bastante preciso.

Tabela 28: Áreas cromatográficas para determinação da precisão metodológica.

| Composto          | Área 1 | Área 2 | Área 3 | Área 4 | Área 5 | Média   | Desv. Pad. | Desv. (k) | % Desv (média) |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|------------|-----------|----------------|
| Alfa-HCH          | 15108  | 15275  | 15351  | 15301  | 15435  | 15294   | 121        | 338       | 0,79           |
| BHC               | 16238  | 16264  | 16287  | 16169  | 16260  | 16243,6 | 45         | 126       | 0,28           |
| Beta-HCH          | 4067   | 4086   | 4130   | 4090   | 4111   | 4096,8  | 24         | 67        | 0,59           |
| Gama-HCH          | 7739   | 7816   | 7905   | 7867   | 7937   | 7852,8  | 78         | 218       | 0,99           |
| Delta-HCH         | 4044   | 4216   | 4294   | 4308   | 4364   | 4245,2  | 124        | 347       | 2,92           |
| Alaclor           | 1633   | 1648   | 1660   | 1648   | 1655   | 1648,8  | 10         | 28        | 0,61           |
| Aldrin            | 17075  | 17143  | 17103  | 16972  | 17068  | 17072,2 | 63         | 176       | 0,37           |
| o,p'-DDE          | 7612   | 7670   | 7724   | 7639   | 7709   | 7670,8  | 47         | 131       | 0,61           |
| Endosulfan        | 6646   | 6702   | 6725   | 6671   | 6738   | 6696,4  | 38         | 106       | 0,57           |
| p,p'-DDE+Dieldrin | 24416  | 24586  | 24758  | 24415  | 24743  | 24583,6 | 168        | 470       | 0,68           |
| o,p'-DDD          | 8137   | 8251   | 8317   | 8227   | 8354   | 8257,2  | 84         | 235       | 1,02           |
| Endrin            | 6570   | 6755   | 6898   | 6794   | 6929   | 6789,2  | 142        | 397       | 2,09           |
| p,p'-DDD          | 5676   | 5793   | 5884   | 5811   | 5939   | 5820,6  | 100        | 280       | 1,72           |
| o,p'-DDT          | 3421   | 3464   | 3632   | 3504   | 3577   | 3519,6  | 85         | 238       | 2,42           |
| p,p'-DDT          | 3744   | 3843   | 4304   | 4185   | 4270   | 4069,2  | 258        | 722       | 6,34           |
| Metoxiclor        | 1679   | 1728   | 1792   | 1758   | 1796   | 1750,6  | 49         | 137       | 2,80           |

## 7.5 - Limite de quantificação.

Para obtenção do limite de quantificação do método aplicou-se o menor valor obtido no estudo de tendência ( $66,6 \pm 1,6$ )% ao menor valor utilizado no estudo da linearidade ( $20,0 \pm 0,1$ )  $\mu\text{g.L}^{-1}$  aplicando-se o fator de concentração do método ( $400 \pm 0,001$ ) e um fator de  $m = 0,1$ , chegando a um valor de limite de quantificação de  $0,008 \mu\text{g.L}^{-1}$  em água. Este fator **m** advém do valor mínimo admitido como detectável pela cromatografia.

## 7.6 - Resultados das amostras.

Na tabela 29 temos os resultados de concentração em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  das amostras analisadas. As amostras que não se encontram listadas nesta tabela apresentaram valores inferiores ao limite de quantificação do método.

Tabela 29: Valores de concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) encontrados nas amostras.

| Nº da Amostra | Beta-HCH<br>( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) | Gama-HCH<br>( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) |
|---------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1             |                                      | ( $0,009 \pm 0,009$ )                |
| 3             |                                      | ( $0,017 \pm 0,011$ )                |
| 4             | ( $0,016 \pm 0,010$ )                | ( $0,015 \pm 0,010$ )                |
| 7             | ( $0,043 \pm 0,022$ )                | ( $0,057 \pm 0,022$ )                |
| 17            |                                      | ( $0,013 \pm 0,010$ )                |

Como podemos perceber, 5 amostras apresentaram algum nível de contaminação. As amostras 4 e 7 apresentaram contaminação de beta e gama-HCH e as amostras 1,3 e 17 apresentaram contaminação apenas de gama-HCH, entretanto ainda com valores inferiores aos exigidos pela portaria 518 do Ministério da Saúde que define o valor máximo de gama-HCH em água de distribuição de  $2,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Porém na resolução do CONAMA 20 o limite encontra-se muito abaixo deste valor  $0,02 \mu\text{g.L}^{-1}$

para gama-HCH. Neste caso considerando os valores de incerteza teremos as amostras 3,4,7e 17 fora dos limites estabelecidos.

## 8 - Considerações Finais

Após a realização deste trabalho podemos concluir que:

- Devido aos valores do desvio padrão dos TR para cada composto estudado o método adotado apresenta uma grande especificidade, sendo capaz de distinguir compostos que apresentam uma diferença de tempo de retenção muito pequena.
- O método não é capaz de distinguir os compostos p,p'-DDE e o Dieldrin que apresentam o mesmo TR. Desta forma os resultados analíticos que envolvam estes compostos devem ser apresentados deixando claro que pode se tratar de uma mistura.
- O método analítico adotado não apresenta o mesmo grau da linearidade para todos os compostos, mostrando que o sistema não apresenta o mesmo comportamento para todos os compostos analisados.
- Mesmo o sistema apresentando um ligeiro desvio da linearidade para alguns compostos analisados, este desvio não é significativo, podendo ser considerado um método linear dentro da faixa de concentração final de 20  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ .
- Observou-se que o coeficiente de correlação não foi um bom parâmetro para avaliar a linearidade de uma metodologia.
- O método apresenta uma tendência diferenciada em relação aos compostos estudados, se mostrando mais eficiente para analisar delta-HCH; Alaclor, p,p'-DDE, endrin, p,p'-DDD e p,p'-DDT.
- O método apresenta uma grande precisão em relação á repetibilidade analítica, levando a valores de percentagem de desvio padrão inferiores a 5% para quase todos os compostos, excluindo o p,p'-DDT que apresentou um valor da ordem de 8%, que ainda podemos considerar extremamente baixo.

- O método apresenta um limite de quantificação de  $0,008 \mu\text{g.L}^{-1}$  em água podendo chegar a valores ainda mais baixos se devidamente otimizado.
- 5 amostras das 18 coletadas apresentaram algum nível de contaminação, porém os valores definidos pela legislação são conflitantes chegando a diferenças na ordem de cem vezes.

## 9 - Referências Bibliográficas

BUREAU, U. S. C.; 2004 Total Midyear Population for the World: 1950-2050 <http://www.census.gov/ipc/www/worldpop.html>; Vol. 2004.

BATALHA, B. H. L.; 2003 Água Potável: O imperativo da atualização [on line]. Disponível: [http://profcupido.hpg.if.com.br/agua\\_potavel.htm](http://profcupido.hpg.if.com.br/agua_potavel.htm).

WHO, 1979. Principles and methods for evaluating the toxicity of chemicals, Part 1, *Environmental Health Criteria*, 6: 15-35.

D'AMATO, C., TORRES, J. P. M. and MALM, O., 2002. DDT (Dicloro difenil Tricloroetano): Toxicidade e Contaminação Ambiental - Uma revisão, *Química Nova*, 25: 995-1002.

WHO, 1979. DDT and its Derivatives, *Environmental Health Criteria*, 9: 14-191.

CARSON, R.; 1962. *Silent spring*. New York: Houghton Mifflin Company.

WHO, 1992. Alpha- and beta-hexachlorocyclohexanes, *Environmental Health Criteria*, 123: 30-60.

BRITO, N. M., NAVICKINE, S., POLESE, L., JARDIM, E. F. G., ABAKERLI, R. B. and RIBIRO, M. L., 2002. Determination of pesticide residues in coconut water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture plus thermionic specific detection and solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection, *Journal of chromatography A*, 957: 201-209.

U. S. E. P. A., 2002 History. DDT Ban Takes Effect. Washington, D. C. <<http://www.epa.gov/history/topics/ddt/01.htm>>

ZHANG, M., GENG, S., USTIN, S. L. and TANJI, K. K.,1997. Pesticide occurrence in groundwater in Tulare Country, California, *Environmental Monitoring and Assessment*,45: 101-127.

KLEIVANE, L., SKAARE, J. U., BJORGE, A., RUITER, E. D. and REIJNDERS, P. J. H.,1995. Organochlorine pesticide residue and PCBs in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) incidentally caught in scandinavian waters, *Environmental Pollution*,89: 137-146.

WATANABE, I., KASHIMOTO, T. and TATSUKAWA, R.,1985. Brominated phenols and anisoles in river and marine sediments in japan, *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*,35: 272-278.

SOLÉ, M., PORTE, C., BARCELO, D. and ALBAIGES, J.,2000. Bivalves residue analysis for the assessment of coastal pollution in the Ebro Delta (NW Mediterranean), *Marine Pollution Bulletin*,40: 746-753.

HERNÁNDEZ, L. M., FERNÁNDEZ, M. A. and GONZÁLEZ, M. J.,1992. Organochlorine pollutants in water, soils, and earthworms in the Guadalquivir River, Spain, *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*,49: 192-198.

SIRIWONG, C., BOONYATUMANOND, R., TABUCANON, M. S. and PRINYATANAKUN, P.,1997. Distribution of organochlorine pesticides in the Chao Phraya River, Thailand, *Environmental Monitoring and Assessment*,44: 315-325.

YANHONG, Y., GUOYING, S., JIMO, F. and YUSHUN, M.,1997. Organochlorinated Compounds in Waters of the Pearl River Delta Region, *Environmental Monitoring and Assessment*,44: 569-575.

LUO, X. W., ONG, H. Y., TAN, C., FOO, S. C. and ONG, C. N.,1997. Environmental and biological monitoring of organochlorine residues after the plague epidemic in Surat, India - A preliminary study, *Environmental Monitoring and Assessment*,44: 369-374.



PARKINSON, R. W., WANG, T. C., WHITE, J. R., DAVID, J. R. and HOFFMAN, M. E.,1993. Distribution and Migration of Pesticide-Residues in Mosquito-Control Impoundments St-Lucie County, Florida, Usa, *Environmental Geology*,22: 26-32.

LENOIR, J. S., McCONNELL, L. L., FELLERS, G. M., CAHILL, T. M. and SEIBER, T. M.,1999. Summertime transport of current-use pesticides from California's Central Valley to the Sierra Nevada Mountain Range, USA, *Environmental Toxicology and Chemistry*,18: 2715-2722.

IWATA, H., TANABE, S. and TATSUKAWA, R.,1993. A New View on the Divergence of HCH Isomer Composition in Oceanic Air, *Marine Pollution Bulletin*,26: 302–305.

LI, Y. F.,1999. Global technical hexachlorocyclohexane usage and its contamination consequences in Environment: from 1948 to 1997, *Science of the Total Environment*,232: 123–160.

MACDONALD, R. W., BARRIE, L. A., BIDLEMAN, T. F., DIAMOND, M. L., GREGOR, D. J., SEMKIN, R. G., STRACHAN, W. M. J., LI, Y. F., WANIA, F., ALAEE, M., ALEXEEVA, L. B., BACKUS, S. M., BAILEY, R., BEWERS, J. M., GOBEIL, C., HALSALL, C. J., HARNER, T., HOFF, J. T., JANTUNEN, L. M., LOCKHART, W. L., MACKAY, D., MUIR, D. C. G., PUDYKIEWICZ, J., REIMER, K. J., SMITH, J. N., STERN, G. A., SCHROEDER, W. H., WAGEMANN, R. and YUNKER, M. B.,2000. Sources, occurrence and pathways of contaminants in the Canadian Arctic: a review, *Science of the Total Environment*,254: 93–236.

JURACEK, K. E. and MAU, D. P.,2003. Metals, trace elements, and organochlorine compounds in bottom sediment of Tuttle Creek Lake, Kansas, USA, *Hydrobiologia*,494: 277-282.

HALE, R. C., GUARDIA, M. J. L., HARVEY, E. P., MAIONOR, T. M., DUFF, W. H. and GAYLOR, M. O.,2001. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in virginia freshwater fishes (USA), *Environmental Science & Technology*,35: 4585-4591.

DOMAGALSKI, J. L. and DUBROVSKY, N. M.,1992. Pesticide residues in ground water of the San Joaquin Valley, California, *Journal of Hydrology*,130: 299-338.

PICKETT, C. H., HAWKINS, L. S., PEHRSON, J. E. and O`CONNELL, N. V.,1992. Irrigation practices, herbicides use and groundwater contamination in citrus production: A case study in California, *Agriculture, Ecosystems and Environment*,41: 1-17.

LAABS, V., AMELUNG, W., FENT, G., ZECH, W. and KUBIAK, R.,2002. Fate of C-14-labeled soybean and corn pesticides in tropical soils of Brazil under laboratory conditions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,50: 4619-4627.

BARCELLOS, C., COUTINHO, K., PINA, M. F., MAGALHÃES, M. M. A. F., PAOLA, J. C. M. D. and SANTOS, S. M.,1998. Inter-relacionamento de dados ambientais e de saúde: análise de risco à saúde aplicada ao abastecimento de água no Rio de Janeiro utilizando Sistemas de Informações Geográficas, *Cadernos de Saúde Pública*,14: 597-605.

STEPHERSON, T.,1992. Environmental biotechnology group meeting biotechnology in the clean water industries, *Journal Chem Tech. Biotech.*,54: 183-200.

BASTOS, V. L. F. C., BASTOS, J. C., LIMA, J. S. and FARIA, M. V. C.,1991. Brain Acetylcholinesterase As an Invitro Detector of Organophosphorus and Carbamate Insecticides in Water, *Water Research*,25: 835-840.

MALBY, L. and CALOW, P.,1989. The Application of Bioassays in the Resolution of Environmental Problems; Past, Present and Future., *Hydrobiology*,188: 65-76.

MATSUSHITA, M. and SOUZA, N. E.,1994. Resíduo de pesticidas organoclorado em algumas espécies de peixe comercial da planície de inundação do alto rio Paraná, região de Porto Rico (PR), Brasil., *Arquivos de Biologia Tecnológica*,37: 637-644.

OLIVEIRA, R. M.; 1994 *Estudo da contaminação do solo e pasto causada por hexaclorociclohexano (HCH) na Cidade dos Meninos em Duque de Caxias, R. J.* Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz.

TORRES, J. P. M., MALM, O., VIEIRA, E. D. R., JAPENGA, J. and KOOPMANS, G. F.,2002. Organic micropollutants on river sediments from Rio de Janeiro State, Southeast Brazil, *Caderno de Saúde Pública*,18: 477-488.

MS.,2004. Portaria 518 de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde.

FILHO, D. B.; E. ATHNEU, 1988 Inseticidas Organoclorados; 2a edição ed.; : São Paulo, pp 261-285.

WHO,1984. Endosulfan, *Environmental Health Criteria*,40: 12-46.

TANNER, C. M., CHEN, B., WANG, W. Z., PENG, M. L., LIU, Z. L., LIANG, X. L., KAO, L. C., GILLEY, D. W. and SCHOENBERG, B. S.,1987. Environmental factors in the etiology of Parkinson's disease, *Canadian Journal Neurological Science*,14: 419-423.

TSAI, C. H., LO, S. K., SEE, L. C., CHEN, H. Z., CHEN, R. S., WENG, Y. H., CHANG, F. C. and LU, C. S.,2002. Environmental risk factors of young onset Parkinson's disease: a case-control study, *Clinical Neurology and Neurosurgery*,104: 328-333.

RAJPUT, A. H., UTTI, R. J., STERN, W. and LAVERTY, W.,1986. Early onset of parkinson's disease in saskatchewan-environmental considerations for etiology., *Canadian Journal Neurological Science*,13: 312-316.

WHO,1984. Heptachloro, *Environmental Health Criteria*,38: 9-61.

ARAUJO, A. C. P., TELLES, D. L., GOMI, R. and LIMA, L. L. A.,1998. Organochlorine pesticide contamination in the Ipojuca basin, Brazil, *Environmental Technology*,19: 109-113.

SILVA, S. A., CARVALHO, T. B. H., CASSANHA, G. L. A., MENDES, R., FROES, A. C. I., FRANCO, N., FINKELMAN, J., ABREU, E., AZEVEDO, E., ELUF, N. J.,

FERNANDES, A. S., ESCAMILLA, J. A., PALACIOS, C. E. M. D. M., CRUZ, G. N., KOIFMAN, S. F., WUNSCH, F. V. F., MAGALHAES, C. V. F. and ANDRADE, C. W. F.,2003. Human exposure to organochlorine compounds at Cidade dos Meninos, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil, *Epidemiology*,14: S110-S111.

WHO,1992. Endrin, *Environmental Health Criteria*,130: 13-235.

WHO,1989. Aldrin and Dieldrin, *Environmental Health Criteria*,91: 15-84.

ANTONUCCI, G. A. and COLUS, I. M. D.,2000. Chromosomal aberrations analysis in a Brazilian population exposed to pesticides, *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*,20: 265-272.

SOTO, A. R. and DEICHMANN, W. B.,1967. Major metabolism and acute toxicity of aldrin, dieldrin and endrin, *Environmental Research*,1: 307-322.

KOLLER, W., VETTERE-OVERFIELD, B., GRAY, C., ALEXANDER, C., CHIN, T., DOLEZAL, J., HASSANEIN, R. and TANNER, C.,1990. Environmental risk factors in Parkinson's disease., *Neurology*,40: 1218-21.

DORES, E. F. G. D. and FREIRE, E. M. L.,2001. Aquatic environment contamination by pesticides. Case study: Water used for human consumption in Primavera do Leste, Mato Grosso - Preliminary analyses, *Quimica Nova*,24: 27-36.

DOROUGH, H. W., HUHTANEN, K., MARSHALL, T. C. and BRYANT, H. E.,1978. Fate of endosulfan rats and toxicological consideration of apolar metabolites., *Pesticide Biochemistry Physiological*,8: 241-252.

GREEN, J. M.,1996. A practical guide to analytical method validation., *Analytical Chemistry*,68: 305-309.

MILLER, J. C. and MILLER, J. N.,1988. Basic statistical methods for analytical chemistry. part I. Statistics of repeated measurements. A review, *Analyst*,113: 1351-1356.

ABNT - BRASIL,1998. Guia para a expressão da incerteza de medição, 2a edição brasileira, *ABNT-INMETRO*.

EURACHEM/CITAC; S. L. R. Ellinson, M. Rosslein and A. Williams, 2000 Quantifying uncertainty in analytical measurement; Second Edition ed.; .

SPIEGEL, M. R.; 1974 Estatística McGraw-Hill do Brasil: São Paulo.

ABNT-ISO/IEC-17025,2001. Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaios e de Calibração, *ABNT*,.

TOLOSA, I., READMAM, J. W. and MEE, L. D.,1996. Comparison of performance of solid-phase extraction techniques in recovering organophosphorus and organochlorine compounds from water., *Journal of Chromatography A*,725: 93-106.

BROODTMANN, N. V. and KOFFSKEY, W. W.,1979. Use of high resolution glass capillary columns for the analysis of pesticides in river and drinking water, *Journal of Chromatographic Science*,17: 97-110.

WHITFIELD, F. B., MCBRIDE, R. L. and NGUYEN, T. H. L.,1987. Flavour perception of chloroanisoles in water and selected processed foods, *Journal Science of Food and Agriculture*,40: 357-365.

NYSTRÖM, A., GRIMVALL, A., KRANTZ-RÜLCKER, C., SÄVENHED, R. and AKERSTRAND, K.,1992. Drinking water off-flavour caused by 2,4,6-trichloroanisole, *Water Science Technology*,25: 241-249.

FRÉBORTOVÁ, J.,1995. Simultaneous determination of chlorophenols and chlorophenoxyacids in drinking water by solid phase extraction and high performance liquid chromatography, *Fresenius Environmental Bulletin*,4: 209-214.

ZENELLA, R., PRIMEL, E. G., GONCALVES, F. F. and MARTINS, A. F.,2000. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method for

the determination of clomazone residues in surface water, *Journal of Chromatography A*,904: 257-262.

ZANDER, A. K., CHEN, J. S. and SEMMENS, M. J.,1992. Removal of hexachlorocyclohexane isomers from water by membrane extraction into oil, *Water Resourch*,26: 129-137.

PICÓ, Y., MOLTÓ, J. C., MAÑES, J. and FONT, G.,1994. Solid phase techniques in the extraction of pesticides and related compounds from foods and soils, *Journal of Microcloums Separations*,6: 331-359.

PICÓ, Y., VIANA, E., FONT, G. and 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.

SILVA, R. J. N. B., SANTOS, J. R. and CAMÕES, M. F. G. F. C.,2001. Avaliação do desempenho de um método analítico em função da origem do analito, *Analítica*,: 47-50.

GILLESPIE, A., DALY, S. L., GILVYDIS, D. M., SCHENEIDER, F. and WALTERS, S. M.,1995. Multicolumn solid - phase extraction cleanup of organochlorine pesticide residues in vegetable oils and butter fat, *Journal of AOAC International*,78: 431-437.

HUTSON, D. H. and HOADLEY, E. C.,1974. The oxidation of a cyclic alcohol (12-hydroxyendrin) to a ketone (12-ketoendrin) by microsomal mono-oxygenation., *Chemosphere*,5: 205-210.

PRIYADARSHI, A., KHUDER, S. A., SCHAUB, E. A. and PRIYADARSHI, S. S.,2001. Environmental risk factors and parkinson's disease: a metaanalysis., *Environmental Research*,86: 122-127.

HUTSON, D. H., BALDWIN, M. K. and HADLEY, E. C.,1975. Detoxication and bioactivation of endrin in the rat., *Xenobiotica*,5: 697-714.

BELDFORD, C. T., HARROD, R. K., HOADLEY, E. C. and HUTSON, D. H.,1975. The metabolic fate of endrin in teh rabbit., *Xenobiotica*,5: 485-500.

KHAN, M. A. Q., KAMAL, A., WOLIN, R. J. and RUNNELS, J.,1972. In vivo and in vitro epoxidation of aldrin by aquatic food chain organisms., *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*,8: 219-228.

PINTO, G. M. F. and JARDIM, I. C. S. F.,1999. Determination of bentazon residues in water by high-performance liquid chromatography - Validation of the method, *Journal of Chromatography A*,846: 369-374.

FERRER, I. and BARCELÓ, D.,1999. Validation of new solid-phase extraction materials for the selective enrichment of organic contaminants from environmental samples, *Trends in Analyticals Chemistry*,18: 180-192.

PINTO, G. M. F. and JARDIM, I. C. S. F.,2000. Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine of residues in water: Validation of the method, *Journal of Chromatography A*,869: 463-469.

FERRARI, R., NILSSON, T., ARENA, R., ARLATI, P., BARTOLUCCI, G., BASLA, R., CIONE, F., CARLO, G. D., DELLAVEDOVA, P., FATTORE, E., FUNGI, M., GROTE, C., GUIDOTTI, M., MORGILLO, S., MÜLLER, L. and VOLANTE, M.,1998. Inter-laboratory validation of solid-phase microextraction for the determination of triazine herbicides and their degradation products at ng/L level in water samples., *Journal of Chromatography A*,795: 371-376.

MELLO, J. L. D., 1999 *Avaliação da contaminação por HCH e DDT, dos leites de vaca e humano, provenientes da Cidade dos Meninos, Duque de Caxias - RJ*. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro. Escola Nacional de Saúde Pública,Fundação Oswaldo Cruz.