

Faz. Urupi  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
Faz. Nova Conquista  
Faz. Coqueiro

**AVALIAÇÃO DE ALGUNS ASPECTOS DO  
PASSIVO AMBIENTAL DE UMA METALURGIA  
DE CHUMBO EM SANTO AMARO DA  
PURIFICAÇÃO, BAHIA.**

**ANGELA CRISTINA ANDRADE COSTA**  
Patronato São José

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Tania Mascarenhas Tavares**

**Dissertação apresentada ao Instituto de Química da  
Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em Química Analítica**

Salvador - Bahia  
Julho de 2001

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DE ALGUNS ASPECTOS DO  
PASSIVO AMBIENTAL DE UMA METALURGIA  
DE CHUMBO EM SANTO AMARO DA  
PURIFICAÇÃO, BAHIA.**

ANGELA CRISTINA ANDRADE COSTA

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Tania Mascarenhas Tavares

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da  
Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em Química Analítica

Salvador – Bahia  
Julho de 2001

*À memória de minha mãe **Noélia**,  
Meu exemplo de dignidade.  
Muitas saudades...*

*“Não basta ensinar ao homem uma especialidade, porque se tornará assim uma máquina utilizável e não uma personalidade.*

*É necessário que adquira um sentimento, um senso prático daquilo que vale a pena ser empreendido, daquilo que é belo, do que é moralmente correto”.*

Albert Einstein

## Agradecimentos

A **DEUS**, pela minha vida, pela família que me acolheu e pelos desafios que me estão sendo apresentados diariamente.

Aos meus pais, Noélia (*in memorium*) e José Lopes que, menos com palavras e muito com atitudes, sempre demonstraram sua confiança e seu amor por mim.

Aos meus irmãos e sobrinhas pelos momentos de companheirismo e alegria em casa. A minha sobrinha lule por me substituir, administrando tão bem a nossa casa, quando das minhas constantes ausências em função da conclusão desta dissertação.

A Prof<sup>a</sup>. Dra. Tania M. Tavares pela orientação na execução e leitura criteriosa deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Fernando Martins Carvalho, do Depto. de Medicina Preventiva da UFBA e à sua equipe, pela coleta de todas as amostras de sangue e urina utilizadas e à Prof. Dra. Neli de A. Melo, do Depto. de Ginecologia, Obstetrícia e Reprodução Humana da UFBA e equipe, pela coordenação na realização dos exames citogenéticos.

A amiga Prof<sup>a</sup> Dra. Magda Beretta (*General*) que, com sua amizade soube me estimular nos momentos em que me senti desencorajada com as dificuldades que se apresentaram e, com competência me orientou em relação ao tratamento dos dados. Agradeço também pela paciente e valiosa leitura final desta dissertação.

A Prof<sup>a</sup>. Aldy M<sup>a</sup> de M. Brandão que pacientemente me ensinou os primeiros passos em direção ao nosso velho espectrômetro.

A Prof<sup>a</sup> Dra. Maria de Lourdes Botelho pela disponibilidade em dividir seus conhecimentos.

A amiga Prof<sup>a</sup>. Dra. Vânia P. Campos pela leitura crítica de parte deste trabalho.

Ao querido amigo Prof. Dr. William J. Harrington Jr., do “Center for the Blood Disease” da Universidade de Miami (EUA), pelas palavras de carinho e estímulo e pelo envio de vários artigos utilizados nesta dissertação.

Ao Sr. Dorivaldo B. Paiva, técnico da COPENE e um *mágico* da eletrônica que prontamente atendia aos meus inúmeros pedidos de socorro sempre que eu achava que *nosso bom e velho* espectrofotômetro estava dando seu último suspiro...

A amiga Jaqueline P. Santos, nossa então bolsista e quase colega de Mestrado, pelas várias vezes em que me acompanhou durante as análises no nosso espectrofotômetro.

Ao amigo José Jorge B. Vitória, nosso *Rei Lele*, auxiliar de laboratório e *dublê* de *faz-tudo*, pelo auxílio nas coletas e na descontaminação de todo material utilizado.

Ao amigo Jussival de A.P. Novaes por disponibilizar seu talento na montagem das estruturas presentes neste trabalho e bem como na apresentação final do mesmo.

A amiga Maria Alice Ribeiro, chefe da Biblioteca Setorial do Instituto de Química da UFBA, que ao facilitar meu acesso a artigos, periódicos e livros, mesmo aqueles disponíveis apenas para consulta, ajudou imensamente no preparo dessa dissertação.

A amiga de infância e colega de trabalho Ana Lúcia S. Costa que, com sua amizade e dedicação, por várias vezes privou-se da companhia dos próprios filhos para me auxiliar nas coletas e nas análises no nosso espectrofotômetro.

Ao querido amigo/irmão/confidente Prof. Dr. Luis Sergio S. Nunes (*Zé, Zezinho, Zé Trovão*), meu exemplo de superação. O primeiro a quem mostrei os meus *rabiscos de dissertação*. Uma constante fonte de incentivo, carinho, amizade, entusiasmo e bom humor, sempre me fazendo rir das dificuldades que se apresentavam.

Ao amigo Cristiano R. Monteiro, *expert* em informática do LAQUAM sempre presente, pelos inúmeros *helps* quando dos constantes *tilts* decorrentes dos frequentes *bugs do Windows...* ☺

A minha amiga/afilhada Sara Vieira, nossa competente secretária do LAQUAM, pela grande ajuda na impressão final desta dissertação, abrindo mão de seus finais de semana e pelo estímulo e alegria constantes, contribuindo sempre para o bom astral do nosso laboratório. A Bárbara Rodrigues (*Barbie, Barbarella*), nossa ex-secretária, amiga querida, pelo incentivo.

A nossa geógrafa Aucimaia Tourinho, por disponibilizar seu talento na confecção dos mapas apresentados neste trabalho.

Aos queridos colegas e amigos *laquanenses*: Sonilda Teixeira, Clara Couto, Roberto Márcio, Lícia P. dos Santos, Adriana Moreno, Rui Oliveira e *agregados*: Edna Nogueira, Luciene de Carvalho, Rosângela Rêgo, Carlos Magno e Ivana Cerqueira pelo apoio, incentivo, companheirismo e alegria imprescindíveis em vários momentos.

Aos demais colegas do Instituto de Química.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

## Sumário

|   | Página    |
|---|-----------|
| Lista de Figuras .....  | xi        |
| Lista de Tabelas .....  | xv        |
| Lista de Siglas e Abreviaturas .....  | xix       |
| Lista de Anexos .....   | xx        |
| Resumo .....  | xxi       |
| Abstract .....  | xxii      |
| <b>1. Introdução</b> .....  | <b>1</b>  |
| <b>1.1. Chumbo no ambiente</b> .....  | <b>1</b>  |
| 1.1.1. Chumbo no meio físico .....  | 1         |
| 1.1.1.1. Fonte naturais .....   | 2         |
| 1.1.1.2. Fontes antropogênicas .....  | 4         |
| <b>1.2. Chumbo em humanos</b> .....   | <b>5</b>  |
| 1.2.1. Aspectos toxicológicos .....   | 7         |
| 1.2.1.1. Absorção e distribuição de Pb no organismo.....                          | 7         |
| 1.2.1.2. Efeitos sobre a saúde .....  | 10        |
| 1.2.2. Aspectos citogenéticos .....   | 18        |
| <b>1.3. Análises de chumbo e cádmio em amostras biológicas e ambientais</b> ..... | <b>19</b> |
| 1.3.1. Controle e garantia de qualidade .....                                     | 21        |
| <b>1.4. Testes citogenéticos</b> .....  | <b>21</b> |
| <b>1.5. O problema do chumbo em Santo Amaro</b> .....                             | <b>23</b> |
| <b>2. Objetivos</b> .....   | <b>28</b> |
| <b>3. Metodologia</b> .....   | <b>29</b> |
| <b>3.1. Desenho Amostral</b> .....  | <b>29</b> |
| 3.1.1. Amostras ambientais .....  | 29        |
| 3.1.2. Amostras biológicas .....  | 31        |
| 3.1.2.1. População bovina para avaliação de efeitos mutagênicos .....             | 31        |
| 3.1.2.2. População infantil para avaliação de risco .....                         | 32        |



|  | <b>Página</b> |
|--|---------------|
| 3.1.2.3. População adulta feminina .....   | 34            |
| <b>3.2. Amostragem</b> .....   | <b>35</b>     |
| 3.2.1. Amostras de sangue e urina humanos e sangue bovino .....                                  | 35            |
| 3.2.2. Amostras de gramínea (capim) .....  | 35            |
| 3.2.3. Amostras de solo .....  | 36            |
| <b>3.3. Determinações de chumbo e cádmio</b> .....   | <b>37</b>     |
| 3.3.1. Extrações de Pb e Cd em amostras de sangue humano e bovino .....                          | 37            |
| 3.3.2. Metodologia analítica para determinações de Cd em amostras de urina humana .....          | 45            |
| 3.3.3. Metodologia analítica para determinações de Pb e Cd em amostras de gramínea (capim) ..... | 46            |
| 3.3.3.1. Determinação de umidade .....   | 46            |
| 3.3.3.2. Determinações de Pb e Cd .....  | 47            |
| 3.3.4. Metodologia analítica para as determinações de Pb e Cd em amostras de solo .....          | 50            |
| <b>3.4. Controle e garantia de qualidade das análises</b> .....                                  | <b>52</b>     |
| 3.4.1. Análises de Pb em amostras de sangue humano .....   | 52            |
| 3.4.2. Análises de Cd em amostras de sangue humano .....   | 52            |
| 3.4.3. Análises de Cd em amostras de urina humana .....  | 53            |
| 3.4.4. Análises de Pb em amostras de sangue bovino .....   | 53            |
| 3.4.5. Análises de Cd em amostras de sangue bovino .....   | 55            |
| 3.4.6. Análises de Pb e Cd em amostras de solo e gramínea .....                                  | 56            |
| <b>4. Resultados e discussão</b> .....   | <b>57</b>     |
| <b>4.1. Chumbo e cádmio em sangue de crianças</b> .....  | <b>57</b>     |
| 4.1.1. Testes de significância .....   | 57            |
| <b>4.1.2. Chumbo em sangue de crianças</b> .....   | <b>58</b>     |

|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| 4.1.2.1. Crianças pertencentes aos grupos <b>Controle</b> (crianças de Salvador) e <b>Exposto</b> (crianças de Santo Amaro) .....                               | 58            |
| 4.1.2.2. Comparação de resultados de Pb no sangue com dados da literatura .....   | 58            |
| <b>4.1.3. Cádmio em sangue de crianças</b> .....  | 69            |
| 4.1.3.1 Crianças pertencentes aos grupos <b>Controle</b> (crianças de Salvador) e <b>Exposto</b> (crianças de Santo Amaro) .....                                | 69            |
| <b>4.2. Chumbo e cádmio em amostras de sangue bovino</b> .....  | 71            |
| 4.2.1. Chumbo e cádmio em amostras de sangue bovino pertencente aos grupos <b>Controle</b> (frigorífico Frimasa, Salvador) e <b>Exposto</b> (Santo Amaro) ..... | 71            |
| <b>4.3. Testes citogenéticos</b> .....  | 74            |
| 4.3.1. Amostras de sangue bovino .....  | 74            |
| 4.5.2. Amostras de sangue e urina de mulheres adultas ..  | 76            |
| <b>4.4. Chumbo e cádmio em amostras de solo</b> .....   | 78            |
| 4.4.1. Chumbo em amostras de solo .....   | 78            |
| 4.4.2. Cádmio em amostras de solo .....   | 81            |
| <b>4.5. Chumbo e cádmio em amostras de gramínea</b> .....   | 83            |
| 4.5.1. Chumbo em amostras de gramínea .....   | 83            |
| 4.5.2. Cádmio em amostras de gramínea .....   | 85            |
| <b>5. Conclusões</b> .....  | 88            |
| <b>5.1. Conclusões gerais</b> .....   | 94            |
| <b>6. Sugestões</b> .....   | 95            |
| <b>7. Referências Bibliográficas</b> .....  | 96            |
| <b>8. Anexos</b> .....  | 104           |

## Lista de Figuras

|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| <b>Figura 1:</b> Fontes e caminhos do chumbo do ambiente até os humanos ..  | 6             |
| <b>Figura 2 :</b> Modelo simplificado do metabolismo do chumbo no homem ...   | 8             |
| <b>Figura 3:</b> Etapas da biossíntese da heme e as possíveis interferências do chumbo em vários níveis .....   | 10            |
| <b>Figura 4:</b> Reação de desidratação da ALA-D no citoplasma .....  | 11            |
| <b>Figura 5:</b> Reação de formação da heme na mitocôndria através da adição de Fe (II) a protoporfirina IX catalisada pela ferroquelatase .....  | 11            |
| <b>Figura 6:</b> Como o chumbo afeta a saúde do homem adulto e de crianças .....  | 16            |
| <b>Figura 7:</b> Vista geral da antiga COBRAC (Companhia Brasileira de Chumbo), posteriormente PLUMBUM S.A. em Santo Amaro da Purificação, BA .....   | 23            |
| <b>Figura 8:</b> Resíduo da fundição de chumbo (escória) depositada no pátio da antiga PLUMBUM .....  | 26            |
| <b>Figura 9:</b> Bovino pastando na área da PLUMBUM .....   | 26            |
| <b>Figura 10:</b> Tanque de contenção da PLUMBUM .....  | 26            |
| <b>Figura 11:</b> Mapa do Brasil mostrando, no estado da Bahia, a localização dos pontos de amostragem em relação a PLUMBUM na cidade de Santo Amaro da Purificação .....   | 31            |
| <b>Figura 12:</b> Vista geral do frigorífico FRIMASA (BR 324, trecho Salvador-CIA)  | 32            |
| <b>Figura 13a:</b> Coleta dos perfis de solo através da utilização de um cavador de ferro .....   | 36            |
| <b>Figura 13b:</b> Buraco no solo feito com o cavador após a raspagem com faca plástica para remoção da camada que entrou em contato como metal do cavador .....  | 36            |
| <b>Figura 14:</b> Curva analítica típica de Pb, a partir de amostras de sangue padrão do CDC em HNO <sub>3</sub> 6,5%, por espectrometria de absorção (AAS Perkin Elmer 460) com forno de grafite (HGA Perkin Elmer 400) .....                              | 39            |
| <b>Figura 15:</b> Curva analítica típica de Pb (a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO <sub>3</sub> 6,5 %) por espectrometria de absorção (AAS Perkin Elmer 460) com forno de grafite (HGA Perkin Elmer 400) ..... | 40            |

|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| <b>Figura 16:</b> Curva analítica típica de Pb utilizada para o cálculo do valor intrínseco ( $\mu_0$ ) do analito, feita a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO <sub>3</sub> 6,5% por espectrometria de absorção (AAS Perkin Elmer 460) com forno de grafite (HGA Perkin Elmer 400) ..... | 41            |
| <b>Figura 17:</b> Curva analítica típica de Cd, a partir de diluições de solução 1000 mg/L de Cd (Titrisol Merck) em HNO <sub>3</sub> 6,5% por espectrometria de absorção (AAS Perkin Elmer 460) com forno de grafite (HGA Perkin Elmer 400) .....  | 43            |
| <b>Figura 18:</b> Curva analítica típica de Cd (a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO <sub>3</sub> 6,5 %) por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400) .....  | 43            |
| <b>Figura 19:</b> Curva de analítica típica de Cd utilizada para o cálculo do valor intrínseco ( $\mu_0$ ) do analito, feita a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO <sub>3</sub> 6,5 %, por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400) ..... | 43            |
| <b>Figura 20:</b> Curva analítica típica de Pb a partir de diluições de solução 1000 mg/L de Pb (Titrisol Merck) em HNO <sub>3</sub> 6,5 % por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400) .....   | 48            |
| <b>Figura 21:</b> Curva analítica típica de Cd a partir de diluições de solução 1000 mg/L de Cd (Titrisol Merck) em HNO <sub>3</sub> 6,5 % por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400) .....   | 48            |
| <b>Figura 22:</b> Gráfico do CDC mostrando o valor certificado da amostra <b>nº 296</b> e os resultados obtidos pelos laboratórios participantes do exercício de intercalibração. Em destaque, o resultado obtido pelo LAQUAM .....   | 54            |
| <b>Figura 23:</b> Gráfico do CDC mostrando o valor certificado da amostra <b>nº 596</b> e os resultados obtidos pelos laboratórios participantes do exercício de intercalibração. Em destaque, o resultado obtido pelo LAQUAM .....   | 54            |
| <b>Figura 24:</b> Gráfico do CDC mostrando o valor certificado da amostra <b>nº 696</b> e os resultados obtidos pelos laboratórios participantes do exercício de intercalibração. Em destaque, o resultado obtido pelo LAQUAM .....   | 55            |

|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| <b>Figura 25:</b> Média aritmética, média geométrica, mediana, LI e LS de Pb em amostras de sangue de crianças dos sexos feminino e masculino (grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> ) .....                                    | 60            |
| <b>Figura 26:</b> Comparação entre níveis de Pb em sangues de crianças dos sexos feminino e masculino em Santo Amaro (média aritmética) e em outras quatro localidades no mundo .....   | 62            |
| <b>Figura 27:</b> Médias geométricas de Pb no sangue de crianças e idade nos estudos de 1980, 1985 e 1998 em Santo Amaro da Purificação, Bahia .....  | 64            |
| <b>Figura 28:</b> Valores individuais de Pb ( g/dL) no sangue e idade de crianças de ambos os sexos nos grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> .....   | 64            |
| <b>Figura 29:</b> Comparação entre os níveis de Pb em sangue de crianças (ambos os sexos) de Santo Amaro e de vários locais no mundo  | 65            |
| <b>Figura 30:</b> Distribuição de frequência das médias dos níveis de Pb em amostras de sangue de crianças de ambos os sexos de Santo Amaro (1980, 1985 e 1998) de acordo com as classes de crianças estabelecidas pelo CDC ..... | 67            |
| <b>Figura 31:</b> Média aritmética, média geométrica, mediana, LI e LS de Cd ( <b>mg/dL</b> ) em amostras de sangue de crianças dos sexos feminino e masculino (grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> ) .....                   | 69            |
| <b>Figura 32:</b> Média aritmética, média geométrica, mediana, LI e LS de Pb ( <b>mg/dL</b> ) em amostras de sangue bovino dos grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> .....  | 72            |
| <b>Figura 33:</b> Média aritmética, média geométrica, mediana, LI e LS de Cd em amostras de sangue bovino dos grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b>   | 73            |
| <b>Figura 34:</b> Níveis de Pb em amostras de solo (líoofilizadas) em Santo Amaro da Purificação, Bahia .....   | 79            |
| <b>Figura 35:</b> Cádmio em amostras de solo (líoofilizadas) em Santo Amaro da Purificação, Bahia .....   | 82            |
| <b>Figura 36:</b> Chumbo em amostras de gramínea (peso seco) nas cinco estações em Santo Amaro da Purificação, Bahia .....  | 84            |
| <b>Figura 37:</b> Cádmio em amostras de gramínea (peso seco) nas cinco estações em Santo Amaro da Purificação, Bahia .....  | 85            |
| <b>Figura 38:</b> Alguns gráficos de correlações encontradas entre Pb e Cd em amostras de solo e gramínea de Santo Amaro da Purificação, Bahia .....  | 87            |

## Lista de Tabelas

|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| <b>Tabela 1:</b> Algumas propriedades químicas e físicas do elemento chumbo (Pb) .....  | 1             |
| <b>Tabela 2:</b> Níveis de Pb em vários compartimentos ambientais de áreas não contaminadas .....   | 3             |
| <b>Tabela 3:</b> Concentrações críticas de chumbo no sangue associadas a efeitos adversos em adultos e crianças .....   | 12            |
| <b>Tabela 4:</b> Índices biológicos considerados normais e de tolerância na exposição ocupacional ao chumbo .....   | 14            |
| <b>Tabela 5:</b> Interpretação de resultados de chumbo em sangue e recomendações: Classes de crianças baseadas na concentração de chumbo no sangue .....  | 15            |
| <b>Tabela 6:</b> Principais técnicas analíticas utilizadas na análise de chumbo e cádmio em amostras biológicas e ambientais e seus respectivos limites de detecção .....   | 20            |
| <b>Tabela 7:</b> Valores máximos e mínimos de Pb ou Cd encontrados pelo PEER-UFBA em Santo Amaro, entre 1975 e 1980 em vários compartimentos ambientais .....   | 24            |
| <b>Tabela 8:</b> Estações de coleta e suas distâncias em relação à antiga fundição .....  | 30            |
| <b>Tabela 9:</b> Parâmetros instrumentais usados nas determinações de Pb .....  | 38            |
| <b>Tabela 10:</b> Programação do forno de grafite (Perkin Elmer-HGA 400) para as análises de Pb .....   | 39            |
| <b>Tabela 11:</b> Características de desempenho para determinação de chumbo em sangue humano e bovino utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério) ..... | 41            |
| <b>Tabela 12:</b> Parâmetros instrumentais usados nas determinações de Cd .....   | 42            |
| <b>Tabela 13:</b> Programação do forno de grafite (Perkin Elmer-HGA 400) para as análises de Cd .....   | 42            |
| <b>Tabela 14:</b> Características de desempenho para determinação de cádmio em sangue humano e bovino utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério) ..... | 45            |

|   | Página |
|---|--------|
| <b>Tabela 15:</b> Características de desempenho para determinação de cádmio em urina humana utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério) .....         | 46     |
| <b>Tabela 16:</b> Características de desempenho para determinação de chumbo em amostras de gramínea utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério) ..... | 49     |
| <b>Tabela 17:</b> Características de desempenho para determinação de cádmio em amostras de gramínea utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério) ..... | 49     |
| <b>Tabela 18:</b> Características de desempenho para determinação de chumbo em amostras de solo utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério) .....     | 51     |
| <b>Tabela 19:</b> Características de desempenho para determinação de cádmio em amostras de solo utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério) .....     | 51     |
| <b>Tabela 20:</b> Concentração de Pb na amostra de sangue certificada (CDC-596) usada no controle de qualidade das análises de sangue humano .....  | 52     |
| <b>Tabela 21:</b> Concentração de Cd na amostra de sangue certificado (Biological Control Material AMI B1003) usada no controle de qualidade das análises de sangue humano .....  | 52     |
| <b>Tabela 22:</b> Concentração de Cd na amostra de fígado bovino certificada (Bovine Liver 1577 - NIST) usada no controle de qualidade das análises de urina humana .....   | 53     |
| <b>Tabela 23:</b> Resultados das amostras de sangues certificadas obtidas através da participação no exercício de intercalibração laboratorial promovido pelo CDC.....  | 53     |
| <b>Tabela 24:</b> Concentração de Cd na amostra de sangue certificado (Biological Control Material AMI B1003) usada como referência na análise de sangue humano .....   | 56     |
| <b>Tabela 25:</b> Concentração de Cd na amostra certificada (NIST - Orchard Leaves 1571) usada como referência na análise de sangue humano .....  | 56     |

|   | Página |
|---|--------|
| <b>Tabela 26:</b> Concentração de Cd e Pb na amostra certificada (NIST - Orchard Leaves 1571) usada como referência nas análises de solo e gramínea .....   | 56     |
| <b>Tabela 27:</b> Resultados dos testes de significância (teste <i>t</i> ) para amostras de sangue de crianças dos grupos Controle e Exposto .....  | 57     |
| <b>Tabela 28:</b> Dados de média aritmética, média geométrica, mediana e limites inferior e superior dos níveis de Pb ( <b>mg/dL</b> ) em sangue de crianças de ambos os sexos dos grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> .....  | 59     |
| <b>Tabela 29:</b> Dados da literatura de Pb ( <b>mg/dL</b> ) em sangue de crianças .....  | 61     |
| <b>Tabela 30:</b> Variação temporal dos níveis de Pb no sangue de crianças (ambos os sexos) de Santo Amaro de 1980 a 1998 .....   | 65     |
| <b>Tabela 31:</b> Distribuição de frequência das médias dos níveis de Pb em amostras de sangue de crianças de ambos os sexos de Santo Amaro da Purificação, Bahia (grupo <b>Exposto</b> ) em 1980, 1985 e 1998 em relação às classes de crianças estabelecidas pelo CDC ..... | 66     |
| <b>Tabela 32:</b> Média aritmética, média geométrica, mediana e limites inferior e superior dos níveis de Cd ( <b>mg/dL</b> ) em sangue de crianças de ambos os sexos nos grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> .....   | 69     |
| <b>Tabela 33:</b> Correlações encontradas entre os níveis de chumbo (PbB) e cádmio (CdB) no sangue das crianças pertencentes aos grupo <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> .....   | 70     |
| <b>Tabela 34:</b> Média aritmética, média geométrica, mediana, limites inferior e superior dos níveis de Pb e Cd nas amostras de sangue bovino dos grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> .....  | 72     |
| <b>Tabela 35:</b> Distribuição de frequência das metáfases analisadas em amostras de sangue bovino ( <i>Bos indicus</i> ) pertencentes aos grupos <b>Controle</b> e <b>Exposto</b> .....  | 75     |
| <b>Tabela 36:</b> Média aritmética, média geométrica, mediana, e limites inferior (LI) e superior (LS) dos níveis de Pb e Cd no sangue (PbB e CdB) de mulheres de Jequié (grupo <b>Controle</b> ) e de Santo Amaro (grupo <b>Exposto</b> ) .....                              | 76     |
| <b>Tabela 37:</b> Média aritmética, média geométrica, mediana, e limites inferior (LI) e superior (LS) dos níveis de Cd em urina (CdU) de mulheres de Jequié (grupo <b>Controle</b> ) e de Santo Amaro (grupo <b>Controle</b> ) .....   | 77     |



|  | <b>Página</b> |
|--|---------------|
| <b>Tabela 38:</b> Resultados de Pb em amostras de solo coletadas a distâncias crescentes em relação à PLUMBUM em Santo Amaro da Purificação, Bahia .....     | 78            |
| <b>Tabela 39:</b> Níveis máximos de Pb no solo de acordo com a relação dose/resposta de Pb no solo e no sangue de crianças .....                             | 80            |
| <b>Tabela 40:</b> Resultados de Cd em amostras de solo coletadas a distâncias crescentes em relação à PLUMBUM em Santo Amaro da Purificação, Bahia .....     | 81            |
| <b>Tabela 41:</b> Resultados de Pb em amostras de gramínea coletadas a distâncias crescentes em relação a PLUMBUM em Santo Amaro da Purificação, Bahia ..... | 83            |
| <b>Tabela 42:</b> Resultados de Cd em amostras de gramínea coletadas a distâncias crescentes em relação a PLUMBUM em Santo Amaro da Purificação, Bahia ..... | 85            |
| <b>Tabela 43:</b> Correlações estatísticas entre chumbo e cádmio em amostras de solo e gramínea .....  | 86            |

## Lista de Tabelas

|               |   |
|---------------|---|
| <b>AA</b>     | Absorção Atômica  |
| <b>ALA-D</b>  | Delta-Aminolevulinic Acid<br>(Ácido delta-Aminolevulinico Dehidratase)  |
| <b>ALA-U</b>  | Delta-Aminolevulinic Acid<br>(Ácido delta-Aminolevulinico Urinário)   |
| <b>CdB</b>    | Cadmium in Blood<br>(Cádmio no Sangue)  |
| <b>CDC</b>    | Center for Disease Control and Prevention<br>(Centro para Controle e Prevenção de Doenças)  |
| <b>CdS</b>    | Cádmio no Solo  |
| <b>CdU</b>    | Cádmio na Urina   |
| <b>CEPED</b>  | Centro de Pesquisa e Desenvolvimento do Estado da Bahia   |
| <b>COBRAC</b> | Companhia Brasileira de Chumbo  |
| <b>DNA</b>    | Deoxyribose Nucleic Acid (Ácido Desoxiribonucléico)   |
| <b>DOU</b>    | Diário Oficial da União   |
| <b>EDTA</b>   | Ethylene diamine tetracetic acid<br>(Ácido etileno diamino tetra acético)   |
| <b>EPA</b>    | Environmental Protection Agency, USA<br>(Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América)   |
| <b>FAO</b>    | Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação)                          |
| <b>FC</b>     | Ferroquelatase  |
| <b>GPS</b>    | Global Positioning System<br>(Sistema de Posicionamento Global)   |
| <b>HT</b>     | Hematócrito   |
| <b>IBMP</b>   | Índice Biológico Máximo Permitido   |
| <b>LAQUAM</b> | Laboratório de Química Analítica Ambiental do Instituto de Química, UFBA  |
| <b>MARC</b>   | Monitoring and Assessment Research Center, Imperial College, London<br>(Centro de Pesquisa, Monitoramento e Avaliação, Imperial College, Londres) |
| <b>NHMRC</b>  | National Health and Medical Research Council of Australia<br>(Conselho Nacional de Saúde e Pesquisas Médicas da Austrália)                        |
| <b>NIST</b>   | National Institute of Standard and Technology   |
| <b>PEER</b>   | Projeto Estudos Ecológicos do Recôncavo   |
| <b>PbB</b>    | Lead in Blood<br>(Chumbo no Sangue)   |
| <b>PbS</b>    | Chumbo no Solo  |
| <b>QI</b>     | Quociente de Inteligência   |
| <b>RNA</b>    | Ribonucleic Acid<br>(Ácido Ribonucléico)  |
| <b>WHO</b>    | World Health Organization<br>(Organização Mundial de Saúde)   |
| <b>ZPP</b>    | Zincoprotoporfirina   |

## Lista de Anexos

|  | <i>Página</i> |
|--|---------------|
| <b>A. Questionários de Avaliação</b>   | <b>105</b>    |
| Questionários das Crianças .....   | 105           |
| <b>B. Memórias de Cálculo</b>  | <b>108</b>    |
| B1. Cálculo da concentração de Pb ou Cd em amostras de sangue .....  | 108           |
| B2. Cálculo da concentração de Pb ou Cd em amostra de solo ou gramínea em base seca .....  | 108           |
| B3. Cálculo do limite de detecção por amostra (LD <sub>a</sub> )* em µg/g de Pb ou Cd em amostra de solo ou gramínea em base seca .....  | 109           |
| B4. Fatores de conversão .....   | 109           |
| <b>C. Tabelas de Resultados</b>  | <b>110</b>    |
| C1 a C7. Resultados dos questionários de avaliação das crianças de Santo Amaro .....   | 110           |
| C8. Hábitos e características das populações de mulheres de Jequié e Santo Amaro .....   | 112           |
| C9 e C10. Resultados de Pb em amostras de sangue de crianças dos sexos feminino e masculino do grupo Controle .....  | 113           |
| C11 e C12. Resultados de Pb em amostras de sangue de crianças dos sexos feminino e masculino do grupo Exposto .....  | 115           |
| C13 e C14. Resultados de Cd em amostras de sangue de crianças dos sexos feminino e masculino do grupo Controle .....   | 117           |
| C15 e C16. Resultados de Cd em amostras de sangue de crianças dos sexos feminino e masculino do grupo Exposto .....  | 119           |
| C17. Resultados de Pb em amostras de sangue bovino do frigorífico Frimasa (grupo Controle) e de Santo Amaro da Purificação (grupo Exposto) .....   | 121           |
| C18. Resultados de Cd em amostras de sangue bovino do frigorífico Frimasa (grupo Controle) e de Santo Amaro da Purificação (grupo Exposto) .....   | 122           |
| C19. Distribuição do número de alterações cromossômicas encontradas nas amostras de sangue dos animais dos grupos Exposto e Controle .....   | 123           |
| C20. Resultados de Pb e Cd em amostras de sangue de mulheres do grupo Controle (Jequié) .....  | 124           |
| C21. Resultados de Pb e Cd em amostras de sangue de mulheres do grupo Exposto (Santo Amaro) .....  | 125           |
| C22. Resultados de Cd em amostras de urina de mulheres do grupo Controle (Jequié) .....  | 126           |
| C23. Resultados de Cd em amostras de urina de mulheres do grupo Exposto (Santo Amaro) .....  | 127           |
| C24. Distribuição de frequência (número absoluto e percentual acumulado) de alterações cromossômicas em mulheres de Jequié e Santo Amaro .....   | 128           |
| C25. Distribuição de frequências (número absoluto e percentual acumulado) de alterações cromossômicas com a técnica de adição de Mitomycina C (MMC) em sangue de mulheres de Jequié e de Santo Amaro .....   | 128           |
| C26. Média e desvio padrão da proporção de alterações cromossômicas segundo dois métodos em 30 mulheres do Jequié e em 30 mulheres de Santo Amaro .....  | 129           |
| C27. Média e desvio padrão da proporção de alterações cromossômicas com a técnica de adição de Mitomycina C (MMC) segundo dois métodos em sangue de 30 mulheres de Jequié e 30 mulheres de Santo Amaro ..... | 129           |
| C28. Coeficientes de regressão linear e de correlação linear bivariadas e respectivo nível de significância para variáveis selecionadas, em 30 mulheres de Santo Amaro e em 30 mulheres de Jequié .....      | 130           |
| <b>D. Testes Citogenéticos</b>   | <b>131</b>    |
| D1. Sangue bovino .....  | 131           |
| D2. Sangue humano .....  | 134           |

## Resumo

Este estudo teve como objetivos: (a) a avaliação de alguns efeitos da contaminação resultante do passivo ambiental de uma fundição desativada de chumbo (Pb) na cidade de Santo Amaro da Purificação na Bahia, verificando-se a possível correlação de exposição/absorção de chumbo e cádmio (Cd) a estudos citogenéticos utilizando populações de bois e de mulheres da vizinhança da fundição e, (b) fazer uma avaliação de risco sobre a população infantil através da dosagem das concentrações do chumbo e do cádmio no sangue de crianças.

Todas as análises de Pb e Cd nas diferentes matrizes (sangue bovino e humano, urina humana, solo e gramínea) foram realizadas por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Os valores médios de Pb encontrados nos animais do grupo **Exposto** encontram-se entre os mais elevados dentre os dados obtidos. Os testes citogenéticos efetuados nestes animais mostraram alterações cromossômicas em 18,9 % das células analisadas contra apenas 2,3 % das células do grupo **Controle**. Foram também determinados níveis de Pb e Cd em gramínea e solo (perfil), coletados segundo a direção predominante dos ventos, até 14 Km da antiga fundição. Foi constatado que, à medida que diminui a distância da fundição, aumentam os níveis de Pb nestas matrizes.

Os níveis de Cd na urina das mulheres do grupo **Exposto** apresentaram-se mais elevados que no grupo **Controle**, não sendo observado o mesmo em relação ao Pb e Cd no sangue, sendo que 6,5 % das mulheres deste grupo apresentam alterações cromossômicas contra 1,5 % no grupo **Controle**, que se encontra dentro da faixa de frequência de alterações cromossômicas esperada para populações humanas normais, que varia de 1 a 4 %.

Os valores médios de Pb (média aritmética:  $17,1 \pm 7,2$  µg/dL e média geométrica:  $15,4 \pm 1,64$  µg/dL) e Cd (média aritmética:  $1,50 \pm 1,54$  µg/dL e média geométrica:  $1,00 \pm 2,57$  µg/dL) no sangue das crianças do grupo **Exposto** encontram-se entre os mais elevados em relação a outros locais no mundo. Mais de 87 % das crianças deste grupo apresentaram níveis de Pb superiores ao limite recomendado pelo CDC (10 µg/dL).

Os valores médios de Pb (média aritmética:  $9,70 \pm 5,70$  e média geométrica:  $8,52 \pm 1,62$  µg/dL) e Cd (média aritmética:  $0,258 \pm 0,246$  µg/dL e média geométrica:  $0,221 \pm 1,58$  µg/dL) encontrados nas amostras do grupo **Controle** são os primeiros dados locais de crianças não expostas ao Pb.

## Abstract

The aim of this study was: (a) to evaluate some contaminants effects from the environmental passive of a deactivated lead smelter at the city of Santo Amaro da Purificação in Bahia, verifying the possible exposition/absorption correlation of lead and cadmium in respect to mutagenic studies using cattle and women populations from the neighborhood of this smelter and (b) to evaluate the risks on infantile population as well by the dosage of the lead and cadmium concentrations on children's blood.

All the lead and cadmium analysis from the different matrices (cattle and human blood, human urine, soil and grass) were carried out using graphite furnace absorption atomic spectroscopy. The averaged Pb values found in animals of the **Exposed** group were among the highest in the obtained data where the mutagenic tests applied showed chromosomic alterations in 18.9 % of the analyzed cells. On the other hand, the **Control** group showed only 2.3 % of these chromosomic alterations. Pb and Cd levels were also determined in grass and soil (profile) and were collected following the predominant wind direction until 14 km from the smelter. It was observed the direct dependence between the decreasing of the distance from the smelter and the increasing of the Pb levels in these matrices.

The Cd urine women levels of the **Exposed** group showed higher than the **Control** group. Such observation was not found in relation to Pb and Cd blood, where 6,5 % of women of this first group showed chromosomic alterations; the **Control** group only 1,5 %, which is in the expected frequency of chromosomic alterations for normal human populations, varying from 1 to 4 %.

The average values of Pb (arithmetic media:  $17.1 \pm 7.2$   $\mu\text{g/dL}$  and geometric media:  $15.4 \pm 1.64$   $\mu\text{g/dL}$ ) and Cd (arithmetic media:  $1.50 \pm 1.54$   $\mu\text{g/dL}$  and geometric media:  $1.00 \pm 2.57$   $\mu\text{g/dL}$ ) of children's blood of the **Exposed** group are situated among the highest values in relation to other places in the world. More than 87 % children of this group showed Pb levels higher than the maximum limit recommended by CDC (10  $\mu\text{g/dL}$ ).

The average Pb values (arithmetic media:  $9.70 \pm 5.70$   $\mu\text{g/dL}$  and geometric media:  $8.52 \pm 1.62$   $\mu\text{g/dL}$ ) and Cd (arithmetic media:  $0.258 \pm 0.246$   $\mu\text{g/dL}$  and geometric media:  $0.221 \pm 1.58$   $\mu\text{g/dL}$ ) found in **Control** group samples were the first local Pb non-exposed children data.

## 1. Introdução

### 1.1. Chumbo no Ambiente

#### 1.1.1. Chumbo no Meio Físico

O chumbo, elemento químico de símbolo Pb, é um metal de coloração cinza prateado, macio, muito maleável, dúctil e pouco condutor de eletricidade (Bowen, 1979; Emsley, 1997).

A utilização deste elemento pelo homem data de 3800 A.C. (Nriagu, 1978; Baird, 1995). Características como alta resistência à corrosão e ponto de fusão relativamente baixo (327,5 °C) quando comparado a outros metais, fizeram deste metal um dos mais utilizados desde os tempos mais remotos. Os Romanos já o utilizavam na fabricação de utensílios para conter alimentos, dutos e tubulações para transportar água (Chisolm, 1971; Baird, 1995; Emsley, 1997).

Na **Tabela 1** são mostradas algumas propriedades do metal chumbo.

**Tabela 1:** Algumas propriedades químicas e físicas do elemento chumbo (Pb).

| *CAS registry number  | 7439-92-1  |
|---|--|
| Número atômico  | 82   |
| Massa atômica   | 207,2 g/mol  |
| Estados de valência   | + 2 ou + 4   |
| Ponto de fusão  | 327,5° C   |
| Ponto de ebulição   | 1740° C  |
| Calor latente de fusão  | 5,5 cal/g  |
| Calor latente de vaporização  | 204,6 cal/g  |
| Calor específico médio  | 0,031cal/g/°C (25°C); 0,028 cal/g/°C (100°C);<br>0,033 cal/g/°C (líquido a 1727°C) |
| Pressão de vapor 970° C / 1160° C<br>1420° C / 1740° C<br>2140° C / 2620° C | 1 mm / 10 mm<br>100 mm / 760 mm<br>5 atm / 20 atm                                  |
| Condutividade térmica   | 0,346 W/cm/°C (25°C); 0,396 W/cm/°C (100°C)  |
| Densidade   | 11,342 g/ cm <sup>3</sup> (25°C)   |
| Volume molar  | 18,267 cm <sup>3</sup>   |
| Coefficiente de absorção (para a luz)                                       | 3,48   |
| Resistividade elétrica  | 20,65 μΩ-cm (20°C)<br>94,6 μΩ-cm (líquido, 327,5°C)                                |
| Refletividade   | 62 %   |
| Propriedades termodinâmicas (25°C)  |  |
| Calor de formação (ΔH <sub>f</sub> <sup>o</sup> )                           | 0,000 (sólido); 46,6 Kcal/mol (gasoso)   |
| Energia livre de formação (ΔG <sub>f</sub> <sup>o</sup> )                   | 0,000 (sólido); 38,7 Kcal/mol (gasoso)   |
| Entropia (S°)   | 15,49 cal/deg mol (sólido); 41,89 cal/deg mol (gasoso)                             |

\* Número de registro no Chemical Abstract Service (Calabrese & Kenyon, 1991). Adaptado de Nriagu (1978) e Hsu (1996).

O chumbo, além do estado de oxidação (0) como sólido puro, ocorre tanto no estado de oxidação divalente (+2) quanto no tetravalente (+4). O estado de oxidação +2 é o mais estável para os elementos do grupo IVB e usualmente predomina nos compostos inorgânicos do chumbo, como na galena (PbS), enquanto que o estado de oxidação mais alto predomina nos seus compostos orgânicos (Moore, 1991; Baird, 1995; Flegal et al, 1995).

#### 1.1.1.1. Fontes Naturais

O chumbo é o 36º elemento mais abundante na crosta terrestre, apresentando uma concentração média entre 16 e 20 µg/g em solos e rochas (O'Brien et al., 1980; Piotrowsky et al., 1980). É encontrado na forma de minérios associados a outros metais como cádmio (normalmente uma impureza em minérios de chumbo e zinco), zinco, cobre, etc. Minérios como a galena (PbS), a anglesita (PbSO<sub>4</sub>) e a cerusita (PbCO<sub>3</sub>) são as formas mais comuns deste elemento (O'Brien, 1980; Piotrowsky, 1980; Moore, 1991).

Segundo Piotrowsky et al. (1980), Tsalev et al. (1985), Alloway et al. (1993) e DETR (1998), as atividades vulcânicas e a erosão do solo são as duas principais fontes naturais de chumbo para o meio ambiente, contribuindo com a emissão de aproximadamente 25.000 ton/ano deste elemento para a atmosfera. Nriagu (1978) acrescenta ainda que a exudação<sup>1</sup> de plantas e as queimadas em florestas contribuem, respectivamente com 10 % e 3 % do total do chumbo derivado de fontes naturais. Na **Tabela 2** são mostrados os níveis de Pb em vários compartimentos ambientais de áreas não contaminadas.

<sup>1</sup> Transpiração; líquido que exuda dos poros de uma árvore ou de um corpo e de ordinário se espessa ao contato do ar. (Nascentes, 1976)

**Tabela 2** Níveis de Pb em vários compartimentos ambientais de áreas não contaminadas.

| Meio                            | Concentração              | Observações   |
|---------------------------------|---------------------------|---|
| <b>Litosfera<sup>2</sup></b>    |                           |   |
|                                 | <b>(mg/g)</b>             |   |
| Rochas <sup>a</sup>             | 22                        | <sup>a</sup> Certos sulfetos: 200-500 µg/g  |
| Abundância na crosta            | 16                        |   |
| Solo                            | 17                        |   |
| Solo                            | 2-200                     |   |
| Sedimento (mar aberto)          | 150                       |   |
| Sedimento (próximo à praia)     | 40                        |   |
| <b>Hidrosfera</b>               |                           |   |
|                                 | <b>(mg/L)</b>             |   |
| Superfície da água <sup>b</sup> | 1-10                      | <sup>b</sup> Alguns valores até 50 µg/L<br><sup>c</sup> Poucos dados disponíveis, muitos deles pouco confiáveis ou inexatos. Concentração sugerida no fundo do mar: 0,002 µg/L  |
| Águas subterrâneas              | 1-500                     |   |
| Água do mar <sup>c</sup>        | n.d. - 5                  |   |
| <b>Atmosfera</b>                |                           |   |
|                                 | <b>(ng/m<sup>3</sup>)</b> |   |
| Remota continental <sup>d</sup> | 0,1 - 10                  | <sup>d</sup> Fatores de enriquecimento frequentemente > 1000<br><sup>e</sup> Fatores de enriquecimento frequentemente <10 (mais baixo valor reportado: 0,04 ng/m <sup>3</sup> ) |
| Remota oceânica <sup>e</sup>    | 0,1                       |   |
| <b>Plantas</b>                  |                           |   |
|                                 | <b>(mg/g)</b>             |   |
| Folhas/ramos de plantas         | 2,5                       | <sup>f</sup> Níveis mais altos em vegetais folhosos   |
| Gramínea                        | 1                         |   |
| Vegetais e cereais <sup>f</sup> | 0,1 - 1                   |   |

n.d. = não detectado

(Fonte da Tabela: Piotrowsky, 1980)

<sup>2</sup> A litosfera inclui sedimentos e rochas da superfície terrestre. (Cullis & Hirschler, 1980)



### 1.1.1.2. Fontes Antropogênicas

Aproximadamente 96 % de todas as emissões de Pb para atmosfera são de origem antropogênica, estimadas em torno de 450.000 ton/ano (Moore, 1991; Tsalev, 1985; Piotrowsky, 1980).

Uma das principais fontes antropogênicas de Pb para a atmosfera é a combustão do chumbo tetraetila<sup>3</sup> adicionado à gasolina (Tsalev, 1985; Emsley, 1997). Segundo recentes estudos norte-americanos, a frota automotiva mundial é responsável por 67 % do total das emissões deste para a atmosfera (Vieira, 1999). A partir de 1976 e em 1986, regulamentações federais nos Estados Unidos reduziram drasticamente a quantidade de Pb adicionado à gasolina. Atualmente, devido a redução de  $\approx 90$  % no seu uso, o chumbo tetraetila não mais é considerado um problema ambiental nos Estados Unidos, como ainda o é em outros países (ATSDR, 1998; EPA, 1999). Segundo Macedo et al. (1999), o Brasil foi o primeiro país do mundo a eliminar completamente o chumbo tetraetila da gasolina, em 1989, substituindo-o pelo álcool anidro.

Outras fontes antropogênicas de Pb e, não menos importantes, são a sua utilização na indústria de baterias, como solda em produtos metálicos (ex: solda em recipientes metálicos para conter alimentos), pigmento na indústria de tintas<sup>4</sup> e, de uma forma mais intensa e localizada, a mineração, que afeta de forma direta também as águas; além das indústrias de fundição de chumbo, que influenciam mais intensamente a qualidade do ar, liberando compostos de Pb. Tais atividades são consideradas responsáveis pelo rápido aumento da carga de chumbo nos vários componentes de um ecossistema, contribuindo na sua transferência para a vegetação e alimentos que venham

<sup>3</sup> Durante a combustão, o chumbo orgânico (chumbo tetraetila) é convertido ao chumbo inorgânico sendo emitido para a atmosfera quase na sua totalidade nesta forma.

<sup>4</sup> Sais de chumbo como o  $PbCrO_4$ , um pigmento amarelo muito utilizado na pintura de ônibus escolares (EUA) e faixas em rodovias, o  $Pb_3O_4$  (chumbo vermelho), usado em tintas anticorrosivas, o  $Pb_3(CO_3)(OH)_2$  (chumbo branco), principal componente das tintas brancas,

a ser produzidos em áreas próximas, o que os torna fontes secundárias deste elemento para animais e para o homem.

## 1.2. Chumbo em Humanos

Segundo Howson (1996), de acordo com a população afetada, as fontes de exposição humana ao chumbo podem ser classificadas em dois grupos distintos: uma decorrente de fontes ocupacionais e industriais e outra de fontes domésticas, onde estão aí incluídas as crianças e os adultos não trabalhadores como as principais populações expostas.

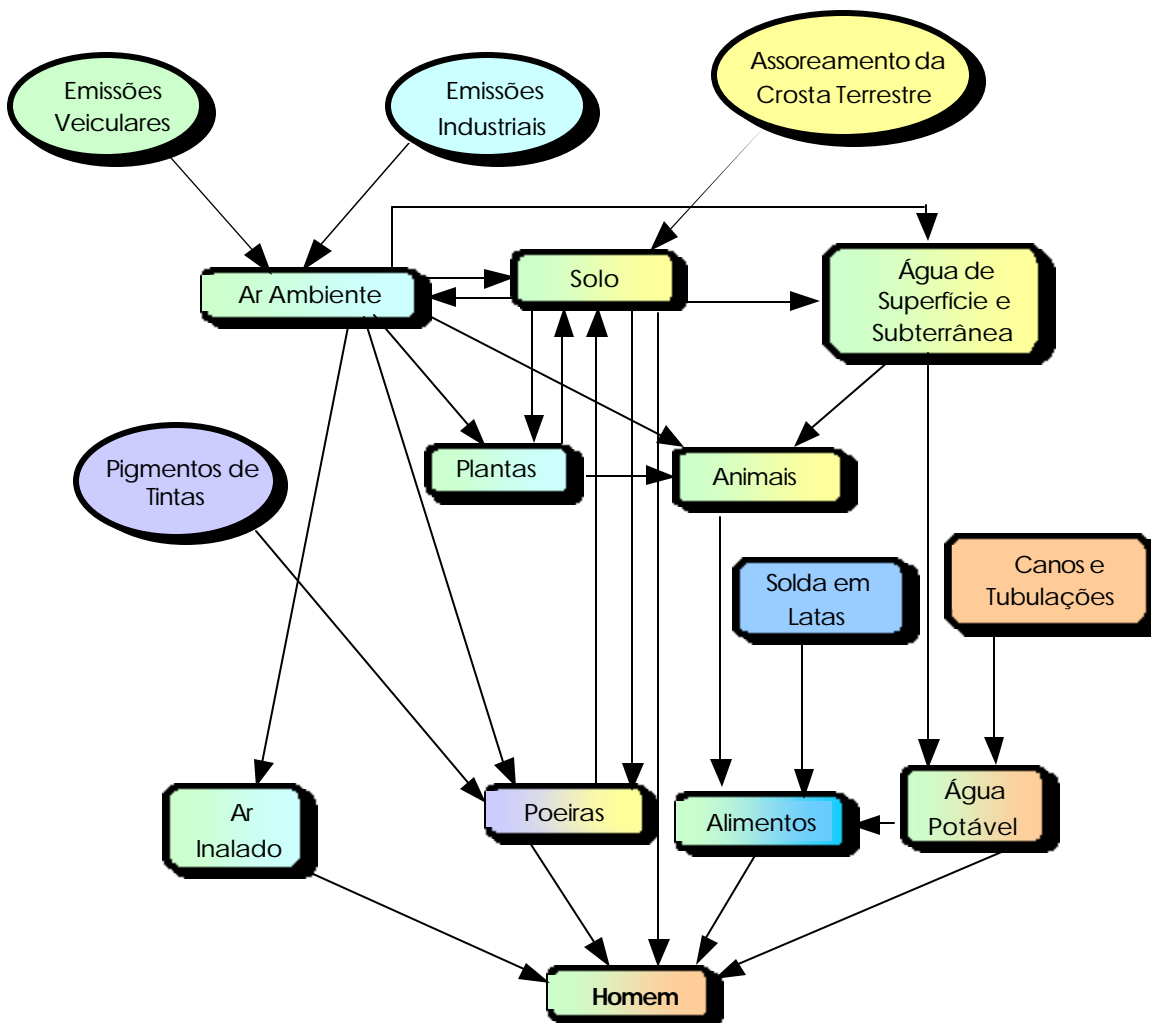
Nesta segunda classificação, os níveis de exposição são influenciados pelo ambiente, costumes e hábitos da população (Chisolm, 1971). Poeiras de rua e de casa podem conter altos níveis de chumbo (Skerfving, 1988).

Particularmente, no caso das crianças, o hábito de levar objetos à boca constitui um fator importante nesta avaliação (Chisolm, 1971; Skerfving, 1988; Howson, 1996).

Uma vez no ambiente, o chumbo pode ser transferido ao homem através do aerossol atmosférico<sup>5</sup>, das poeiras e solos, da água e dos alimentos (Piotrowsky, 1980; Moore, 1991; Flegal, 1995). Na **Figura 1** é mostrado um fluxograma com as principais fontes e os caminhos do chumbo do ambiente até os humanos.

---

<sup>5</sup> Sistema constituído de finas partículas sólidas, líquidas ou heterogêneas suspensas (dispersas) em uma matriz gasosa. Faixa de tamanho: ~0,002 - ~100µm (Cullis & Hirschler, 1980) .



**Figura 1:** Fontes e caminhos do chumbo do ambiente até os humanos.  
(Howson, 1993, adaptado do EPA, 1986)

## 1.2.1. Aspectos Toxicológicos

### 1.2.1.1. Absorção e Distribuição de Pb no Organismo

Os tratos respiratório e gastrointestinal são considerados as principais rotas de absorção do chumbo, pois o ar inalado e a ingestão de alimentos são os principais caminhos da transferência deste elemento do ambiente ao homem (O'Brien, 1980; Tsalev, 1985; Boeckx, 1986; Góes, 1991; Howson, 1996).

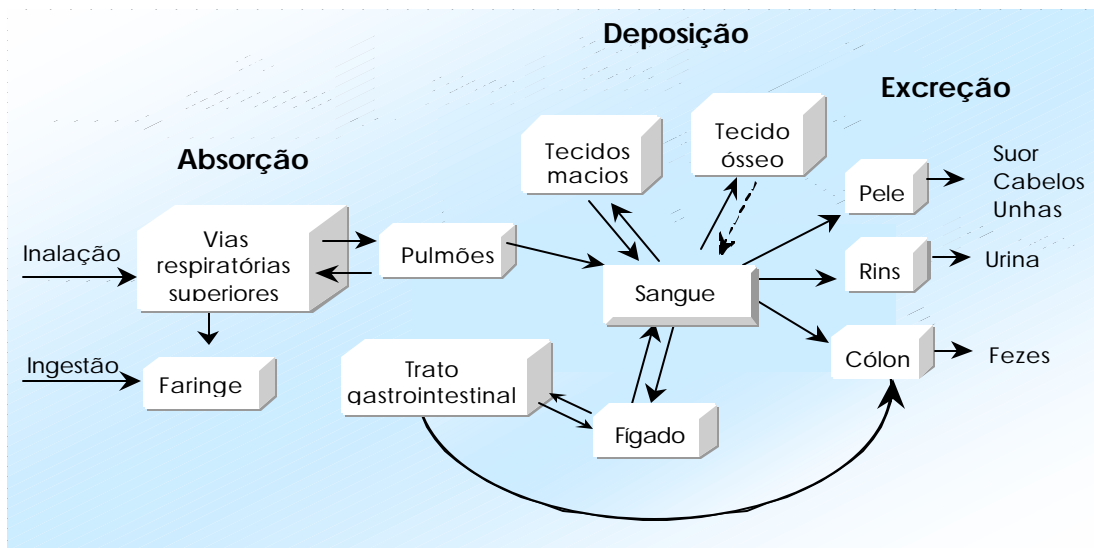
Fatores como carga corpórea e estado nutricional (deficiência de cálcio, ferro, potássio e zinco) contribuem de forma significativa na absorção do chumbo pelo organismo. Em adultos, aproximadamente 10 a 15 % do chumbo presente em alimentos contaminados (incluindo aí comidas e bebidas) é absorvido no trato gastrointestinal, sendo que este percentual pode atingir até 50 % em se tratando de crianças (Tsalev, 1985; Olson, 1990; Casarett & Doull's, 1996; Howson, 1996; EPA, 1997). Isto pode ser explicado através do hábito infantil de explorar o ambiente com as mãos e levar tudo à boca, resultando num maior consumo de itens não comestíveis que podem vir a conter chumbo, tais como tintas (de parede e de materiais como berços, cercados, etc.), poeira e solos e, conseqüentemente, numa taxa de absorção do chumbo superior a dos adultos.

Com exceção dos casos de exposição ocupacional ao chumbo, a absorção a nível cutâneo, em menor escala no caso do chumbo inorgânico, é geralmente insignificante. Recentes pesquisas laboratoriais sugerem que compostos inorgânicos de chumbo (como nitrato e óxido) podem ser absorvidos em quantidades muito pequenas através da pele (EPA, 1997).

Cerca de 25 a 30 % da quantidade total do chumbo presente no ar inalado é retida nos pulmões. Este percentual depende dos níveis de chumbo no ar e do volume de ar inalado pelo indivíduo, ou seja, está diretamente relacionado ao tamanho das partículas e à capacidade respiratória

individual (Piotrowsky, 1980; EPA, 1997). Em média, adultos inalam diariamente 15 m<sup>3</sup> de ar, enquanto que crianças de dois anos, de um modo geral, inalam em torno de 6 m<sup>3</sup> diários (EPA, 1997). Uma vez inalado e, de acordo com o tamanho das partículas, o chumbo é então depositado nos tratos respiratório superior e inferior. Segundo Piotrowsky (1980) e EPA (1997), apenas as partículas de chumbo menores que 1 µm de diâmetro e os fumos<sup>6</sup> alcançam o trato respiratório inferior, ou seja, os alvéolos pulmonares. O restante, correspondente às partículas de tamanho superior a 5 µm, é expelido por mecanismos mucociliares, sendo que parte deste chumbo é então absorvido pelo trato gastrointestinal (EPA, 1997).

A **Figura 2** ilustra, de forma simplificada, o metabolismo do chumbo no organismo humano.



**Figura 2 :** Modelo simplificado do metabolismo do chumbo no homem. (Howson, 1996, adaptado de Hemberg, 1988)

<sup>6</sup> Partículas sólidas, geralmente resultantes de reações químicas como oxidação ou processos de sublimação ou destilação, seguido por condensação. Faixa de tamanho mais comumente encontrada (indústria metalúrgica): 0,01 – 1µm (Calvert, 1990).

<sup>7</sup> Entre os tecidos macios estão fígado, rins, pulmões, coração, cérebro, etc.. (Skerfving, 1988; EPA, 1997).

Dentro do organismo, o chumbo é distribuído entre todos os tecidos e fluidos corpóreos. O sangue e os tecidos macios<sup>7</sup> representam um compartimento de troca rápida. Uma vez absorvido na corrente sangüínea, parte do chumbo é filtrada e excretada [segundo Boeckx (1986) e Howson (1996), o tempo de meia-vida do chumbo é estimado entre 28 e 36 dias no sangue e 46 dias nos tecidos macios] e o restante é armazenado em diversos órgãos e particularmente no esqueleto, que tem importante papel na acumulação do chumbo, constituindo um compartimento de troca lenta. Em condições normais, o tempo de meia-vida biológico do chumbo no osso humano é de aproximadamente 10 anos (Piotrowsky, 1980; Boeckx, 1986; AECLP & EDF, 1994). Hutchinson (1980) e Howson (1996), estimam que este tempo é superior a 20 anos.

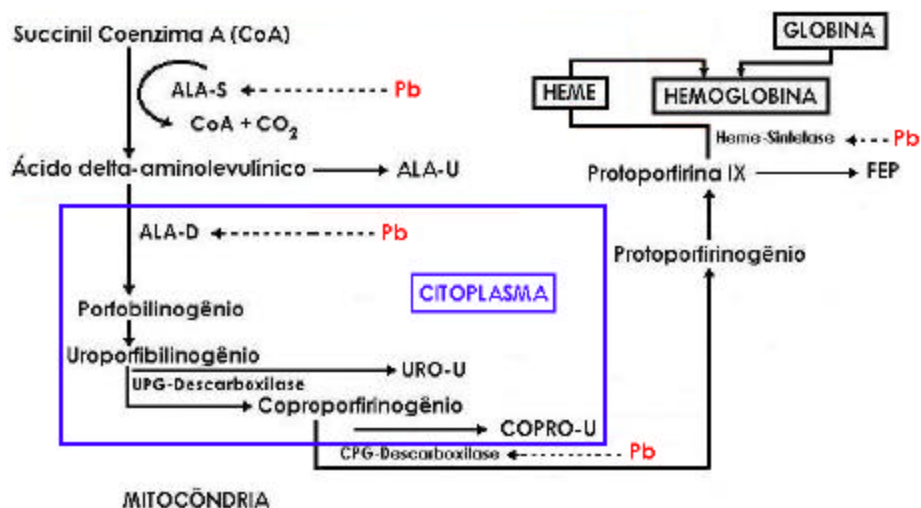
O sangue se constitui no principal indicador biológico usado nos casos de exposição ao chumbo, uma vez que qualquer aumento significativo na exposição a este elemento é refletido nos seus níveis no sangue (Piotrowsky & O'Brien, 1980; Skerfving, 1988; CDC, 1991; Howson, 1996). Aproximadamente 3 % da carga corpórea total do chumbo circulam no sangue. Mais de 50 % deste percentual estão associados à hemoglobina (glóbulos vermelhos) e apenas uma pequena e variável fração está livre no plasma. Esta pequena fração é considerada como a que representa a toxicidade recente (Tsalev, 1985; Skerfving, 1988; Howson, 1996).

Nos humanos, a principal via de excreção do chumbo ingerido no organismo é através da urina (76 %), em seguida as fezes (16 %) e, em menor escala, a descamação da pele, o suor, os cabelos, as unhas e também o leite materno (Piotrowsky, 1980; Tsalev, 1985).

### 1.2.1.2. Efeitos sobre a Saúde

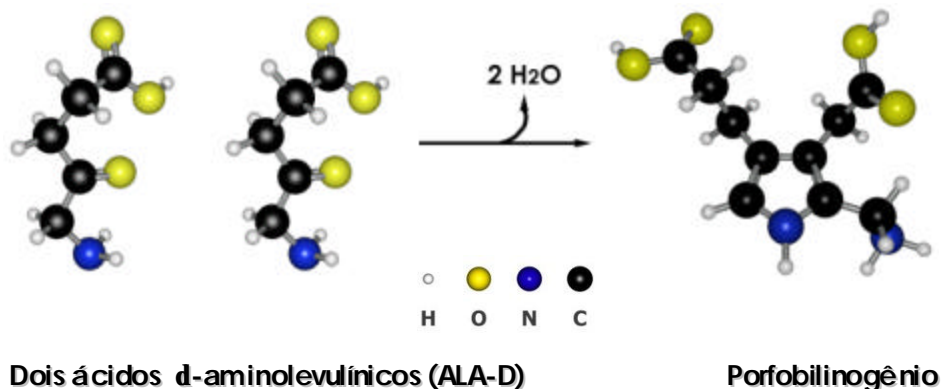
O chumbo inorgânico produz vários efeitos adversos no metabolismo humano. Estes estão diretamente ligados às concentrações de chumbo nos tecidos moles. Em relação ao metabolismo celular, efeitos como a diminuição na quantidade das células vermelhas do sangue e a inibição da síntese da heme (um constituinte da hemoglobina), são os mais pronunciados (Piotrowsky & Coleman, 1980; Boeckx, 1986; Hutchinson, 1987). Tais efeitos são decorrentes da interferência do chumbo no funcionamento da membrana celular e de importantes enzimas, levando à formação de complexos entre o Pb e ligantes contendo enxofre (S), fósforo (P), nitrogênio (N) e oxigênio (O), tais como grupos  $-H_3PO_3$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$  e  $-SH$  (considerada a interação de maior importância do ponto de vista toxicológico devido à afinidade do chumbo com o enxofre), (Chisolm, 1971; Tsalev, 1985).

O esquema com as várias etapas da biossíntese da heme e as interferências do chumbo nos vários níveis é mostrado na **Figura 3**.



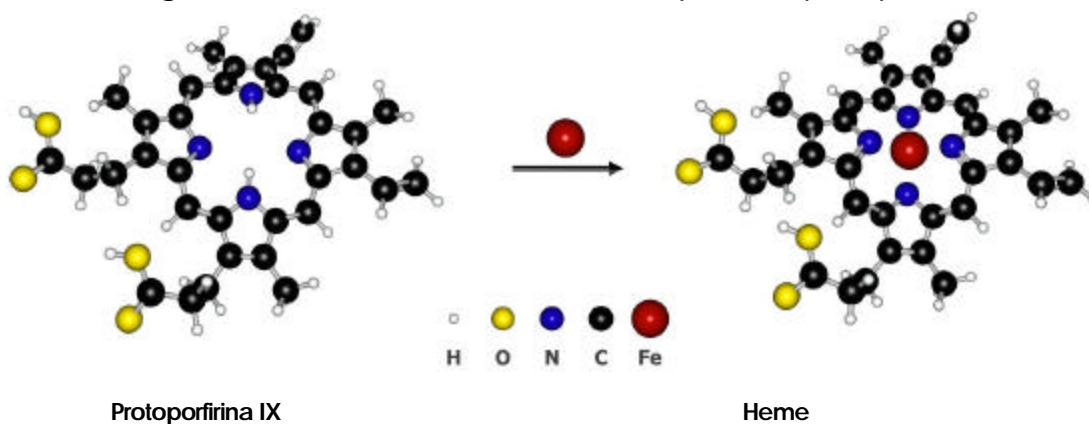
**Figura 3:** Etapas da biossíntese da heme e as possíveis interferências do chumbo em vários níveis. (Adaptado de Larini, 1993)

A ferroquelatase (FC) e o ácido  $\delta$ -aminolevulínico desidratase (ALA-D) são duas enzimas na síntese da heme e, conseqüentemente, importantes na formação da hemoglobina. A **Figura 4** ilustra a formação do porfobilinogênio a partir da ALA-D.



**Figura 4:** Reação de desidratação da ALA-D no citoplasma.

A ferroquelatase pode ter sua ação inibida pelo chumbo, o que provoca um aumento nos níveis de zinco protoporfirina (ZPP). A ZPP é uma molécula formada quando o íon ferro (um elemento essencial ao organismo humano) é impedido de ser fixado ao anel da protoporfirina para posterior formação da heme. A **Figura 5** ilustra a formação da heme a partir da protoporfirina IX.



**Figura 5:** Reação de formação da heme na mitocôndria através da adição de Fe (II) a protoporfirina IX catalisada pela ferroquelatase.

Num organismo deficiente de ferro, ocorre a ligação entre o zinco e a protoporfirina (o zinco apresenta maior afinidade que o ferro). Assim, altos



níveis de ZPP podem ocorrer nos casos de anemia por deficiência de ferro provocada pela intoxicação por chumbo (Chisolm, 1971; Boeckx, 1986; Carvalho et al., 1986). Portanto, as alterações nos níveis de ZPP no sangue, bem como na atividade do ácido  $\delta$ -aminolevulínico desidratase (ALA-D) são estabelecidas como biomarcadores específicos da toxicidade do chumbo no sangue.

Até 1985, o CDC<sup>8</sup> (Center for Disease Control and Prevention) estabelecia em 25  $\mu\text{g}/\text{dL}$  o nível de chumbo no sangue a partir do qual poderiam ser observados efeitos na saúde de crianças, associados à toxicidade deste elemento. Entretanto, evidências mostravam que alguns efeitos danosos ocorriam em níveis inferiores ao estabelecido, como pode ser visto na **Tabela 3**.

**Tabela 3:** Concentrações críticas de chumbo no sangue associadas a efeitos adversos em adultos e crianças.

| Efeitos  | Pb no sangue (mg/dL) |        |          |        |
|--|----------------------|--------|----------|--------|
|  | Homens Adultos       |        | Crianças |        |
|  | WHO                  | MARC   | WHO      | MARC   |
| Inibição da ALA-D  | 10                   | 9      | 10       | 11 (t) |
| Inibição da incorporação do Fe à protoporfirina <b>P</b> Aumento nos níveis do eritrócito protoporfirina livre | 30                   | 19     | 20       | 21     |
| Aumento da ALA-U   | 40                   | 34     | 40       | 38     |
| Aumento da coprotoporfirina na urina   | -                    | 37     | -        | 41 (t) |
| Anemia   | 50-100 (f)           | 63     | 40       | 25     |
| Sistema nervoso central  | 60-70 (f)            | -      | 50 (t)   | 40 (t) |
| Sistema nervoso periférico   | 40-50 (t)            | 37 (t) | -        | -      |

WHO: World Health Organization - MARC: Monitoring and Assessment Research Center ALA-D: Ácido  $\delta$ -aminolevulínico desidratase - ALAU: Ácido  $\delta$ -aminolevulínico urinário (f) - faixa de incerteza assumida (t) tentativa estimada. (Piotrowsky, 1980).

<sup>8</sup> O CDC é a principal agência nacional de prevenção e controle de doenças do governo americano. (Howson, 1996)

Boeckx (1986) observou que, quando concentrações de chumbo no sangue atingiam 15  $\mu\text{g}/\text{dL}$ , ocorria uma diminuição da atividade do ALA-D. Os mais baixos níveis de chumbo no sangue estabelecidos pelo WHO e pelo MARC (**Tabela 3**) como indicadores da inibição da ALA-D por exposição de crianças ao chumbo eram ainda inferiores ao valor indicado por Boeckx (1986).

A legislação brasileira dispõe de normas apenas para a exposição ocupacional ao chumbo, as quais são estabelecidas através da Portaria nº 3214/78 do Ministério do Trabalho. Nesta portaria, o limite de tolerância de exposição ao chumbo no ar é estabelecido em 100  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . A partir de normas vigentes desde 23 de novembro de 1999, através da Norma Técnica sobre Saturnismo<sup>9</sup>, do Ministério da Previdência e Assistência Social, para a exposição ocupacional ao chumbo, foram também definidos índices biológicos. Nesta norma técnica, o Índice Biológico Máximo Permitido (IBMP) de chumbo no sangue é estabelecido em 60  $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$  (60  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ). A utilização de índices de exposição, tais como os níveis de absorção (chumbo no sangue e na urina) e as alterações relacionadas à síntese da heme, permitem o controle biológico. Na **Tabela 4** são apresentados os valores dos índices biológicos regulamentados pela Portaria nº 12, de 06/06/1983, da Secretaria de Segurança e Medicina do Trabalho (Larini, 1993) e por esta norma técnica.

<sup>9</sup> Norma técnica sobre Saturnismo (envenenamento agudo ou crônico produzido pelo chumbo ou por algum dos seus compostos): sob fundamentação legal da lei nº 8213, de 24 de julho de 1991, decreto nº 3048, de 6 de maio de 1999. Revista CIPA, 2000.

**Tabela 4:** Índices biológicos considerados normais e de tolerância na exposição ocupacional ao chumbo.

| Índices Biológicos de Exposição (IBE) | Valores Normais | Limites de Tolerância Biológicos (LTB) |
|---------------------------------------|-----------------|--|
| Chumbo no sangue                      | Até 40 µg/dL    | 60 µg/dL                               |
| Chumbo na urina                       | Até 60 µg/dL    | 150 µg/L                               |
| ALA-D                                 | 30 - 60 U/L*    | 10 U/L*                                |
| Zinco protoporfirina                  | Até 75 µg/dL    | 200 µg/dL                              |
| Protoporfirinas livres                | Até 60 µg/dL    | 300 µg/dL                              |
| ALA - U                               | Até 4,5 mg/L    | 15 mg/L                                |
| Coproporfirina urinária               | Até 150 µg/L    | 200 µg/L                               |

\* U/L = micromoles de ALA-D utilizado/minuto/L de eritrócitos.  
(Revista CIPA, 2000; Larini, 1993)

A conscientização crescente dos efeitos nocivos do chumbo e a utilização de testes cada vez mais sensíveis levaram a uma redução, de forma gradual, nos limites ou índices permitidos ou tolerados de chumbo no sangue que não provocavam sintomas característicos. Assim, em 1990, o mais alto valor aceitável de chumbo no sangue em crianças foi estabelecido pelo CDC em 15 µg/dL. Resultados de estudos clínicos e epidemiológicos realizados nos Estados Unidos e Europa a partir de 1990 demonstraram efeitos neurotóxicos em crianças expostas à níveis inferiores a 15 µg/dL. A partir de 1991, o CDC estabeleceu em 10 µg/dL o limite de chumbo no sangue em crianças, sob o qual são observados efeitos adversos, apesar dos sintomas pouco característicos e elaborou novos critérios de avaliação e recomendações a serem tomadas em relação aos níveis de chumbo no sangue. Estes critérios e recomendações estão listados na **Tabela 5**.

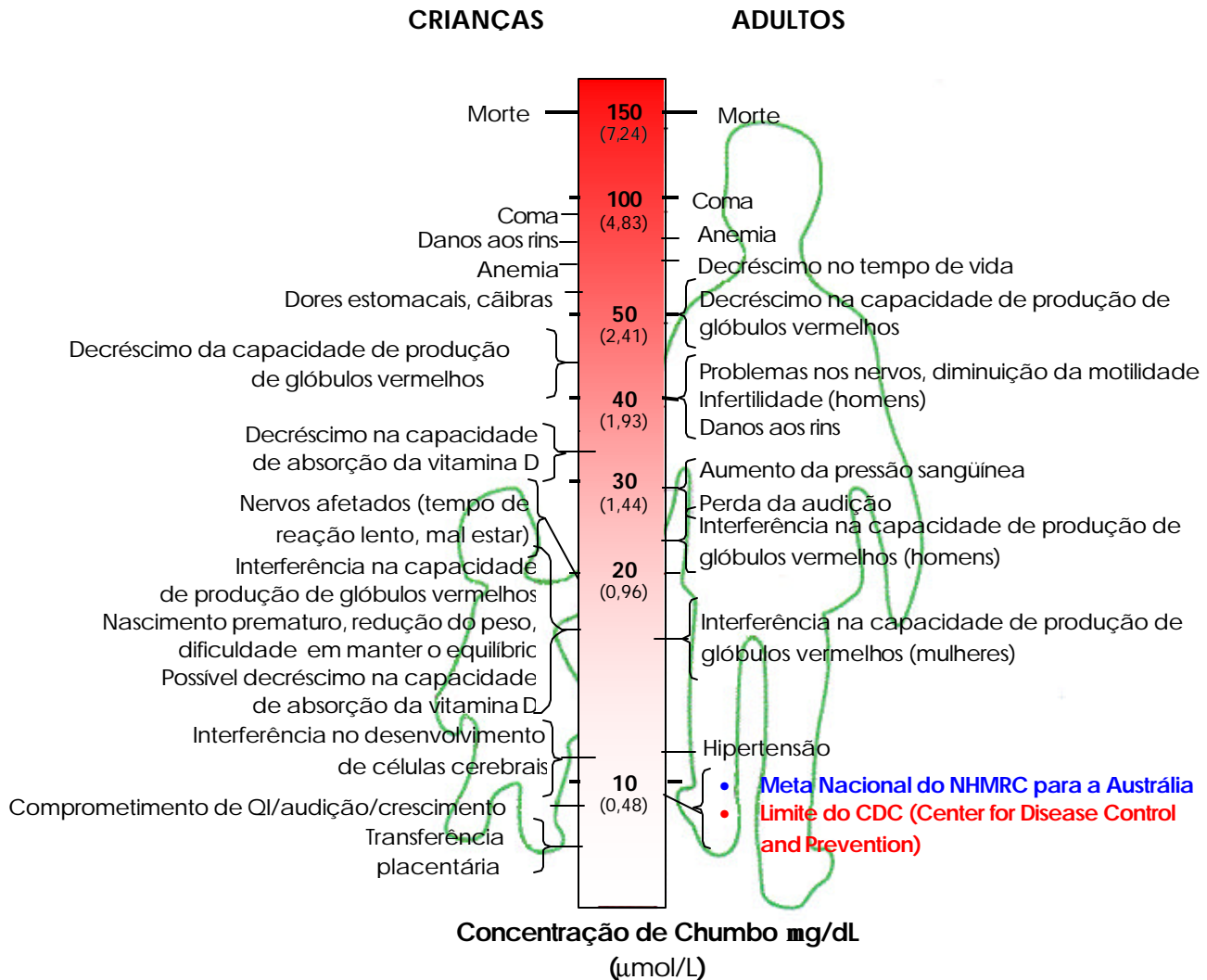
**Tabela 5:** Interpretação de resultados de chumbo no sangue e recomendações: Classes de crianças baseadas na concentração de chumbo no sangue.

| Classe | Pb no Sangue (mg/dL) | Recomendação   |
|--------|----------------------|--|
| I      | ≤ 9                  | Criança desta classe não é considerada intoxicada pelo Pb  |
| II A   | 10 - 14              | Muitas crianças com níveis de Pb nesta faixa <b>P</b> Iniciar atividades de prevenção à intoxicação causada pelo chumbo na comunidade. Crianças nesta faixa podem necessitar de avaliações frequentes                                    |
| II B   | 15 - 19              | Recomendada orientação nutricional e preventiva. A criança deve ser reexaminada frequentemente. Se o nível de chumbo no sangue persistir nesta faixa, o ambiente deve ser investigado e deve ser iniciada a intervenção do mesmo.        |
| III    | 20 - 44              | Uma avaliação médica é indicada e a criança pode necessitar de tratamento farmacológico para a desintoxicação pelo chumbo. O ambiente deve ser avaliado e as fontes de intoxicação devem ser eliminadas.                                 |
| IV     | 45 - 69<br>≥ 70      | Necessidade de intervenção médica, incluindo quelação <sup>10</sup> . O ambiente deverá ser interditado<br>Criança com estes níveis constitui uma emergência médica. Gerenciamento médico e ambiental devem ser iniciados imediatamente. |

Adaptado de CDC, 1991.

<sup>10</sup> Tratamento com agentes quelantes (como CaNa<sub>2</sub>EDTA ou Dimercaprol (BAL)) para facilitar a excreção ou eliminação de elementos tóxicos como o Pb do organismo.

A **Figura 6** ilustra a relação entre as concentrações do chumbo e os seus efeitos danosos no organismo de crianças e do homem adulto.



**Figura 6** : Como o chumbo afeta a saúde do homem adulto e de crianças. (<http://www.epa.nsw.gov.au/leadsafe/health.htm>. Original adaptado de CDC, 1991 e NHMRC<sup>11</sup>, 1994)

<sup>11</sup> National Health and Medical Research Council (Conselho Nacional de Saúde e Pesquisas Médicas da Austrália).

Segundo CDC (1991) e representado na **Figura 6**, níveis de chumbo no sangue inferiores a 10 µg/dL em crianças são associados à diminuição da inteligência, verificada através de comprometimento nos testes de QI, e a prejuízos no desenvolvimento neurocomportamental, apesar de não causarem sintomas característicos. Também estão associadas a esses níveis as diminuições do crescimento e da capacidade auditiva.

O chumbo pode também causar encefalopatia<sup>12</sup> em crianças. Segundo Grant (1989), estudos indicam que níveis de chumbo no sangue entre 90 e 400 µg/dL produzem sinais de encefalopatia aguda como hiperatividade, ataxia<sup>13</sup>, convulsões e coma (Chisolm, 1971; Clarkson, 1988). Para Boeckx (1986), crianças que sobreviveram à exposição a elevados níveis de chumbo apresentaram efeitos irreversíveis como mudanças de comportamento e retardo mental.

O chumbo passa através da membrana placentária chegando até o feto, o que pode levar a nascimentos prematuros, a redução do peso dos bebês, defeitos no nascimento, distúrbios no desenvolvimento e até a um aumento da mortalidade perinatal<sup>14</sup>. Estudos mostram que os níveis de Pb no sangue fetal são quase os mesmos encontrados no sangue materno (Tsalev, 1985; CDC, 1991).

### 1.2.2. Aspectos Citogénéticos

Há evidências de que a exposição a certos compostos químicos, especialmente certos compostos metálicos, pode induzir a alterações, inclusive, do ponto de vista cromossômico. Metais como chumbo e cádmio têm sido estudados neste aspecto. Friberg et al. (1980) apontam que, mesmo com evidências sugerindo que o chumbo pode vir a causar aberrações

<sup>12</sup> Mudanças subclínicas tóxicas nas funções senso-perceptual e psicomotora detectáveis através de testes psicológicos e psicofisiológicos, como as disfunções da inteligência visual-verbal e visual-motora, lenta performance em testes, comprometimento nas funções da memória, distúrbios psicomotores, mudanças na personalidade, etc. (Tsalev, 1985).

<sup>13</sup> Falta ou irregularidade na coordenação motora (de Garcia, 1970); Maneira vacilante ou irregular de caminhar ou movimento causado pela perda ou falha da coordenação motora (Duffus, 1993).

<sup>14</sup> Período imediatamente anterior e posterior ao parto. (Ferreira, 1999).

cromossômicas, há ainda uma discordância entre autores, gerando dificuldades na formação de conclusões definitivas sobre como e em que condições de exposição esses danos possam ser causados ao homem. Apesar dos estudos pouco conclusivos acerca dos efeitos carcinogênicos e teratogênicos<sup>15</sup> do chumbo, a exposição a altos níveis deste elemento pode produzir efeitos gonadotóxicos e fetotóxicos<sup>16</sup>.

Segundo o EPA, o chumbo e seus compostos inorgânicos são classificados no grupo B2<sup>17</sup>, como prováveis carcinógenos humanos por via oral. Esta classificação foi baseada em experimentos feitos com cobaias expostas a sais solúveis de chumbo na dieta ou por injeção subcutânea, nos quais foram observados aumentos estatisticamente significativos de tumores renais (Calabrese & Kenyon, 1991). Casarett & Doull's (1996) citam alguns estudos clínicos onde foram observadas defeitos cromossômicos em trabalhadores expostos com níveis de chumbo no sangue superiores a 60 µg/dL. Num outro estudo também citado por Casarett & Doull's (1996), trabalhadores de uma indústria de baterias de chumbo com níveis de 40 µg/dL deste elemento em amostras sangue, apresentaram, além de uma redução na quantidade, anormalidades na morfologia e mobilidade dos espermatozóides em amostras de sêmen. Segundo Calabrese & Kenyon (1991), o chumbo é apontado como um agente capaz de induzir a transformações celulares e afetar a transcrição<sup>18</sup> DNA a DNA e DNA a RNA.

<sup>15</sup> Efeitos **carcinogênicos** são aqueles provocados por substâncias xenobióticas (substâncias estranhas ao organismo) e caracterizados pela replicação descontrolada das células. Efeitos **teratogênicos** são aqueles defeitos de nascença provocados a partir de danos ao embrião ou às células fetais; mutações no ovo ou em células do esperma a partir de inibição enzimática causada por xenobióticos, de privação de nutrientes essenciais ou ainda por alteração da membrana placentária. (Duffus, 1993).

<sup>16</sup> Efeitos **fetotóxicos** são aqueles efeitos tóxicos que afetam o feto. Os efeitos **gonadotóxicos** são aqueles tóxicos às glândulas genitais (masculina ou feminina) responsáveis pela formação das células reprodutoras animais. (Duffus, 1993).

<sup>17</sup> Categoria geralmente usada quando a evidência é inadequada da carcinogenicidade em humanos ou quando dados em humanos são inexistentes, mas há evidência suficiente da carcinogenicidade em cobaias. (Duffus, 1993).

<sup>18</sup> A transcrição do DNA é um processo enzimático onde a síntese dos diferentes tipos de RNA [RNA mensageiro (mRNA), RNA transportador (tRNA) e RNA ribossômico (rRNA)] que participam do processo de síntese protéica ocorre a partir de um molde de DNA, usando as regras da complementaridade. No processo de transcrição, a informação genética contida num segmento do DNA, é reescrita em uma fita simples de RNA que apresenta uma sequência de ribonucleotídeos complementar a uma das fitas da dupla hélice de DNA (fita molde) e idêntica a sequência da outra fita (fita codificadora), com substituição de T (Timina) por U (Uracil). (Bonato, 2001)

### 1.3. Determinações de Chumbo e Cádmio em Amostras Biológicas e Ambientais

Existe uma grande variedade de técnicas analíticas utilizadas na determinação de metais, como o cádmio e o chumbo, em amostras biológicas e ambientais. Tais técnicas apresentam variações na sensibilidade, exatidão, precisão e aplicação, sendo que a escolha de uma em particular envolve várias etapas, desde o desenvolvimento da metodologia analítica até a determinação da concentração do metal na amostra.

As técnicas analíticas mais comumente utilizadas, considerando-se a necessidade da quantificação de níveis cada vez mais baixos, em se tratando das amostras biológicas e ambientais, são as espectrométricas, englobando a espectrometria de absorção molecular e a espectrometria de absorção atômica (chama ou forno). Couto (1996) desenvolveu uma metodologia analítica de baixo custo para determinação de chumbo em sangue através da espectrofotometria molecular, utilizando o quelante 5-Br-PADAP<sup>19</sup>, com a qual foi possível alcançar o limite de quantificação (LQ) de 11,2 µg/dL, característica que permite a aplicabilidade da metodologia no controle de exposição ocupacional e também a estudos epidemiológicos infantis, seguindo as aspirações do CDC.

Outra técnica espectrométrica também utilizada nas determinações de metais como o Pb e o Cd é a espectrometria de emissão atômica (EEA), similar à espectrofotometria de absorção atômica, com exceção de que o metal é medido através de um espectro resultante de íons excitados (linha iônica) ou de átomos excitados (linha atômica) do analito.

Na **Tabela 6** são apresentadas as principais técnicas analíticas utilizados nas análises de chumbo e cádmio em amostras biológicas e ambientais.

---

<sup>19</sup> PADAP: 2-(2-piridilazo)-5-dietilaminofenol



**Tabela 6:** Principais técnicas analíticas utilizadas na análise de chumbo e cádmio em amostras biológicas e ambientais e seus respectivos limites de detecção.

| Técnica Analítica  | Limites de Detecção (mg/L)        |          |
|--|-----------------------------------|----------|
|  | Pb                                | Cd       |
| Espectrometria de Absorção Atômica<br>Forno de grafite<br>Chama<br>Geração de hidretos | 0,02 <sup>a</sup>                 | 0,01     |
|  | 10 <sup>a,b</sup>                 | 0,7      |
|  | 10 <sup>a</sup>                   | -        |
| Espectrometria Molecular   | 18,7 <sup>c</sup>                 | -        |
| Espectrometria Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES)                     | 20                                | 0,7      |
| Análise de Ativação por Nêutrons ou Análise de Ativação Neutrônica (NAA)               | 10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup> | ≤ 1,5    |
| Voltametria Anódica  | 0,01                              | < 0,0005 |

(Stoeppler, 1986; Clarkson et al, 1988; <sup>a</sup>Stoeppler, 1992; <sup>b</sup>Skoog et al., 1992, <sup>c</sup>Couto, 1996)

### 1.3.1. Controle e Garantia de Qualidade

Segundo Friberg (1988), a garantia da qualidade de uma metodologia analítica refere-se a todas as etapas (coleta, manuseio e estocagem das amostras, análise, registro e interpretação dos resultados) que devem ser seguidas para se assegurar que os dados gerados sejam confiáveis. Já o controle de qualidade refere-se mais especificamente à qualidade dos resultados laboratoriais, podendo ser feito de forma intra ou interlaboratorial (muito comumente usado, através de programas de intercalibração com outros laboratórios).

A determinação de elementos-traço em amostras biológicas e ambientais requer, em função dos níveis geralmente baixos dos analitos, o controle da qualidade e a validação da metodologia utilizada.

#### 1.4. Testes Citogenéticos

Os testes relacionados à atividade mutagênica de poluentes ambientais, sobretudo os metais pesados, têm se tornando importantes do ponto de vista da química ambiental atual, bem como da medicina profilática. Os estudos cromossômicos em células somáticas<sup>20</sup>, que incluem a observação de micronúcleo (núcleo da célula responsável pelas funções genéticas de hereditariedade e reprodução) e as aberrações cromossômicas em metáfases<sup>21</sup> de populações expostas, demonstram ser os ensaios mais adequados para verificação de efeitos mutagênicos em curto prazo no homem e em mamíferos (Merian et al, 1985; Braga, 1995).

Amostras de sangue de um grupo de mulheres de Santo Amaro (grupo **Exposto**) e de Jequié (grupo **Controle**) foram usadas neste trabalho. Também amostras de sangue bovino foram escolhidas para a realização dos testes mutagênicos neste estudo, pois, além destes bois serem animais domésticos que vivem em áreas expostas, são de importância econômica, sendo utilizados pela população local no consumo de carne e leite. Nestes casos, o monitoramento citogenético destes animais é recomendado de forma sistemática (Popescu, 1989). A descrição dos testes citogenéticos efetuados nas amostras de sangue humano e bovino é apresentada no item Testes Citogenéticos em Anexos.

---

<sup>20</sup> Células que mantêm e transmitem o germe, elemento de perpetuação da espécie. (Ferreira, 1975)

<sup>21</sup> Fases da ordenação dos cromossomos. (Ferreira, 1999).

## 1.5. O Problema do Chumbo em Santo Amaro

Em 1960 foi instalada, a 2,5 km na direção noroeste da cidade de Santo Amaro da Purificação, a COBRAC (Companhia Brasileira de Chumbo), uma fundição primária de chumbo. Inicialmente a empresa era subsidiária do grupo multinacional Penarroya sendo vendida ao Grupo Brasil em 1989, passando a ser chamada PLUMBUM S. A. (**Figura 7**). Desde a sua instalação e funcionamento, até o período de dezembro de 1993, produziu entre 11.000 e 32.000 ton. de chumbo/ano (Oliveira, 1977; Carvalho et al, 1999).



(Foto: Jaqueline R.M. Braga)

**Figura 7:** Vista geral da antiga COBRAC (Companhia Brasileira de Chumbo), posteriormente PLUMBUM S.A. em Santo Amaro da Purificação, BA.

Tal atividade foi responsável direta pela poluição intensa causada pelo chumbo na cidade de Santo Amaro. Também o cádmio (Cd), outro importante metal pesado sob ponto de vista toxicológico, causou poluição, uma vez que o minério processado pela indústria, a galena (PbS), proveniente do município de Boquira, localizada a 440 Km de Salvador, continha elevado teor deste elemento, como impureza (Piotrowsky, 1980; Carvalho et al. 1987; Tavares, 1990 e Alloway, 1993). Isto foi verificado a partir de 1975, quando estudos começaram a ser feitos na região pela equipe do PEER-UFBA (Projeto Estudos Ecológicos do Recôncavo - UFBA), atual LAQUAM (Laboratório de Química Analítica Ambiental), constatando altos níveis de chumbo (Pb) e cádmio (Cd) em vários compartimentos ambientais. Na **Tabela 7** estão

resumidos os resultados registrados entre 1975 e 1980 destes dois metais em Santo Amaro, a maior parte deles gerados pelo PEER-UFBA ou pelo PEER em cooperação com o CEPED, na época o órgão executor da política ambiental do governo.

**Tabela 7:** Valores máximos, mínimos e médios de Pb e/ou Cd encontrados pelo PEER-UFBA em Santo Amaro, entre 1975 e 1980 em vários compartimentos ambientais.

| Compartimento Ambiental   | Concentração de metal (Pb ou Cd) encontrado na região |  |                                   | Valores de Referência  |
|---|---|--|-----------------------------------|--|
|   | Mínimo  | Máximo                                     | Média                             |  |
| Águas do rio Subaé  | -   | -  | Pb: 1,6 mg/L                      | <sup>(b)</sup> 0,1 mg/L  |
| Águas de locais próximos a COBRAC                                     | -   | Pb: 6,0 mg/L                               |                                   |  |
| <sup>(a)</sup> Sedimentos coletados ao longo do rio Subaé (peso seco) | Cd: 0,5 µg /g   | Cd: 120 µg/g                               | Cd: 23,7 µg/g                     | -  |
| Pescados (peso seco):<br>Ostras<br>Siris<br>Sururus                   | Cd: 80 µg/g<br>Cd: 13 µg/g<br>Cd: 40 µg/g             | Cd: 135 µg/g<br>Cd: 40 µg/g<br>Cd: 60 µg/g | Pb: 4 µg/g<br>(nos três bivalves) | <sup>(c)</sup> Cd: 70 µg/dia<br><sup>(d)</sup> Pb: 3 mg/semana |
| <sup>(e)</sup> Frutas e verduras locais:<br>Banana e laranja          | Cd: 0,004 µg/g<br>Pb: 0,010 µg/g                      | -<br>-                                     | -<br>-                            | <sup>(c)</sup> Cd: 70 µg/dia<br><sup>(d)</sup> Pb: 3 mg/semana |
| Vegetais folhosos   | -<br>-  | Cd: 11,8 µg/g<br>Pb: 215 µg/g              | -<br>-                            |  |

(Adaptado de Tavares, 1991)

- (a) Amostras de sedimento coletadas pelo CEPED
- (b) Valor para água potável recomendado pela WHO (World Health Organization). Piotrowsky, 1980
- (c) Recomendado pelo FAO/WHO em 1972 como consumo diário tolerável. Nordberg & Nordberg, 1988
- (d) Recomendado pelo FAO/WHO Committee on Food Additives em 1972 como consumo semanal tolerável (Piotrowsky, 1980)
- (e) Petersen, 1982.

Na época, o consumo de pescados contaminados parecia ser a principal via de exposição, de modo que a equipe do PEER-UFBA procedeu a uma investigação nos consumidores de pescados da região, indicando um processo de absorção de chumbo crescente à proporção que a distância da fábrica diminuía, sem que, no entanto, casos de intoxicação fossem detectados.

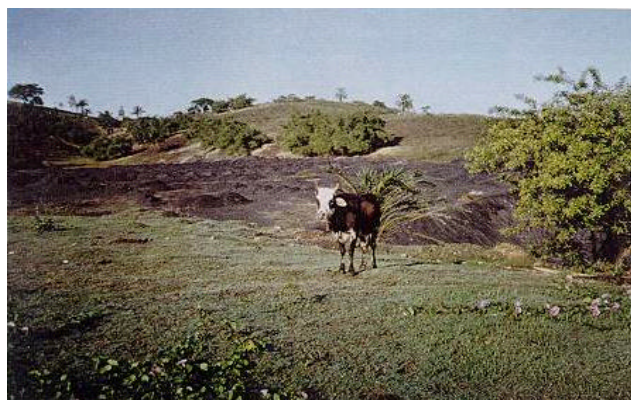
A partir de 1980, a equipe do PEER iniciou os estudos na população residente nas proximidades da fundição, procedendo as determinações dos níveis de chumbo e cádmio em amostras de sangue e cabelos de crianças, por serem estas mais sujeitas aos danos causados pelo primeiro (Carvalho et al. 1989; Tavares, 1990). Verificou-se que os níveis de cádmio no sangue estavam muito acima dos níveis de referência e que, à medida que aumentavam as concentrações destes metais no solo, aumentavam também os níveis de chumbo e cádmio encontrados nos cabelos das crianças (Carvalho et al., 1989; Tavares et al, 1989).

Hoje, apesar da fábrica estar desativada, seus efeitos não cessaram. O resíduo do processo da fundição, a escória, que contém cerca de 2 a 3 % de chumbo e aproximadamente 20 % de cádmio (CRA, 1985), ainda está presente na área externa da fábrica, a céu aberto (**Figura 8**), se espalhando pelo solo e corpos d'água superficiais, sendo levado pelas chuvas ao leito do rio Subaé e águas subterrâneas. Como a área não esteve cercada durante os quatro primeiros anos de desativação da metalurgia, o gado pastava (**Figura 9**) e bebia água contaminada livremente e os vales eram ocupados pelos pequenos agricultores desavisados.



(Foto: Jaqueline R. M. Braga)

**Figura 8:** Resíduo da fundição de chumbo (escória) depositada no pátio da PLUMBUM.



(Foto: Fernando M. Carvalho)

**Figura 9:** Bovino pastando na área da PLUMBUM.

A população local passou a se queixar de que seu rebanho vinha adoecendo, e alguns até chegando a morrer, após ingestão da água vinda dos tanques de contenção da fundição (**Figura 10**).



(Foto: Jaqueline R.M. Braga)

**Figura 10:** Tanque de contenção da PLUMBUM.

Esta mesma escória teria sido utilizada pela população na pavimentação das vias de acesso, bem como de suas casas, até 1980, uma vez que era doada livremente pela indústria e, por ser facilmente compactada e absorver pouca água, impermeabilizava bem o solo massapé, predominante na região. Até mesmo a Prefeitura local utilizou-se desse material na pavimentação de escolas, como lastro de pavimentação de ruas e de outros locais públicos da região. O efeito sobre os níveis de chumbo da população de Santo Amaro foi amplamente estudado por Silvano Neto et al. (1984).

Em janeiro de 1998, através de obras de saneamento básico iniciadas pelo Programa Bahia Azul do Governo do Estado da Bahia, as ruas próximas à fundição foram escavadas e revolvidas, expondo as camadas de escória utilizadas como lastro na pavimentação daquele local. Este material escavado foi estocado durante semanas na forma de pequenos "montes" em frente às casas, aumentando ainda mais os riscos de contaminação da população, principalmente a infantil, principalmente a infantil, pelo Pb e também pelo Cd (Carvalho et al., 1999).

A situação da contaminação ambiental de Santo Amaro permite uma avaliação de alguns efeitos da contaminação por chumbo e cádmio decorrentes do passivo ambiental da PLUMBUM S.A. através de:

- 1º. Absorção do Pb e Cd pelos humanos decorrentes da exposição ambiental;
- 2º. Efeitos mutagênicos encontrados associados à exposição ao Pb e ao Cd.



## 2. Objetivos

1. Avaliar a contaminação em humanos, bovinos, solo e gramínea resultante do passivo ambiental da área pertencente a uma fundição desativada de chumbo;
2. Verificar a correlação entre a exposição/absorção de chumbo e cádmio e alterações cromossômicas em populações de bois e de mulheres da vizinhança de uma fundição;
3. Dosar as concentrações do chumbo e do cádmio no sangue de crianças, fazendo uma avaliação do risco na população infantil.



### 3. Metodologia

Fizeram parte deste estudo amostras biológicas (sangues de bois, mulheres e crianças expostos e não-expostos ao chumbo e urina de mulheres) e amostras ambientais (solo e capim). As amostras de sangue bovino, provenientes de animais que utilizavam a área da PLUMBUM para pastar e se alimentar (grupo **Exposto**) e de animais provenientes do frigorífico Frimasa (grupo **Controle**), bem como as amostras de sangue humano das mulheres de Santo Amaro (grupo **Exposto**) e Jequié (grupo **Controle**), além das análises dos níveis de chumbo e cádmio, foram também submetidas a ensaios para avaliação do efeito mutagênico, através de análises de possíveis alterações cromossômicas, decorrentes da exposição a estes metais.

Nas amostras de urina das mulheres de Santo Amaro e Jequié foram determinadas apenas as concentrações de Cd. Nas amostras obtidas de crianças residentes na cidade Santo Amaro (crianças do grupo **Exposto**), da creche Manjedoura, do bairro de Pau da Lima em Salvador (crianças do **Controle**), foram determinados os níveis de Pb e Cd, o mesmo acontecendo com as amostras de solo e capim que foram coletadas em cinco pontos de amostragem distando de -1 a 14 Km da antiga fundição. O sinal (-) refere-se a um ponto de amostragem localizado a 1 Km antes da chaminé da fundição e os valores positivos são relativos aos pontos de coleta localizados após a fundição, seguindo a *direção predominante dos ventos* (**Figura 11**).

#### 3.1. Desenho Amostral

##### 3.1.1 Amostras Ambientais

Para localização exata dos pontos de amostragem de solo e capim, foi utilizado um sistema de localização por satélite, o GPS (Global Positioning System) MAGELLAN 2000. Com este equipamento, foi possível determinar com precisão dados de latitude e longitude dos pontos de coleta (**Tabela 8**).

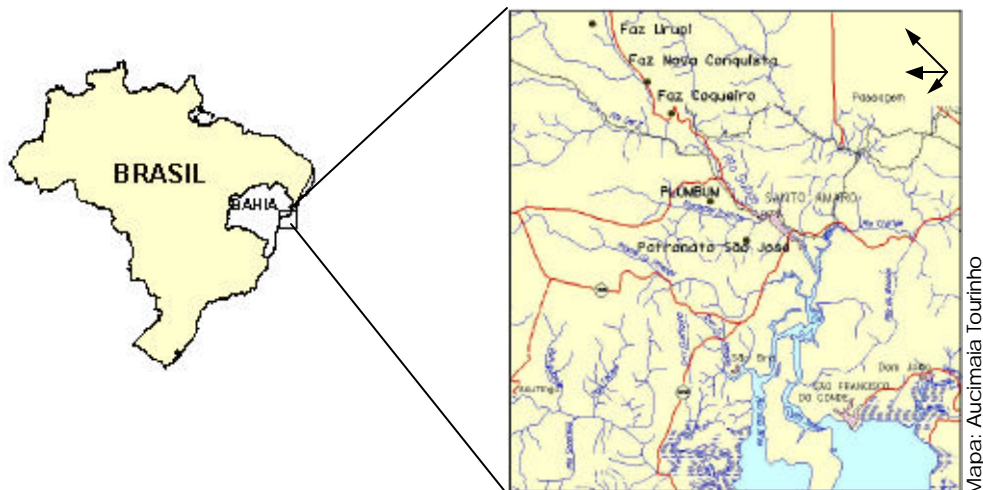
O desenho amostral escolhido para as amostras ambientais visava caracterizar sumariamente o passivo ambiental deixado pela PLUMBUM e avaliar a exposição da população bovina ao chumbo, em regiões distando até 14 Km da antiga fundição, de acordo com a direção dos ventos predominantes.

Em novembro de 1995 foram coletadas amostras de solo em perfis de até 60 cm (visando verificar a mobilidade do Pb e do Cd em relação à profundidade) e de gramínea (considerando o capim como o principal alimento do gado da região), em pontos de coleta distando de -1 a 14 Km da antiga fundição (**Tabela 8** e **Figura 11**). Amostras de água foram também coletadas, mas deixaram de ser analisadas para evitar dados falsos negativos, já que ocorreram inundações posteriores na região, impossibilitando a obtenção de informações em fase temporal com as demais amostras.

**Tabela 8:** Estações de coleta e suas distâncias em relação à antiga fundição.

| Estação (nº)             | Distância da PLUMBUM | Coordenadas GPS                   | Amostras Coletadas                  |       |
|--------------------------|----------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------|
| ① Patronato São José     | - 1* Km              | Lat. 12°32'75"<br>Long. 38°43'28" | Solo<br>(Perfis de 15 e 30 e 45 cm) | Capim |
| ② PLUMBUM                | 300 m                | Lat. 12°32'18"<br>Long. 38°43'82" | Solo<br>(Perfis de 15 e 30 e 45 cm) | Capim |
| ③ Fazenda Coqueiro       | + 6 Km               | Lat. 12°30'10"<br>Long. 38°45'22" | Solo<br>(Perfis de 15, 30 e 60 cm)  | Capim |
| ④ Fazenda Nova Conquista | + 10 Km              | Lat. 12°29'25"<br>Long. 38°46'0"  | Solo<br>(Perfis de 15 e 30 cm)      | Capim |
| ⑤ Fazenda Urupi          | + 14 Km              | Lat. 12°27'62"<br>Long. 38°46'84" | Solo<br>(Perfis de 15 e 30 e 45 cm) | Capim |

A **Figura 11** mostra a localização da antiga PLUMBUM na cidade de Santo Amaro, bem como as estações de amostragem.



**Figura 11:** Mapa do Brasil mostrando, no estado da Bahia, a localização dos pontos de amostragem em relação a PLUMBUM, na cidade de Santo Amaro da Purificação.

### 3.1.2. Amostras Biológicas

#### 3.1.2.1. População Bovina para Avaliação de Efeitos Mutagênicos em Bois

Em 1995 foram estudadas 28 amostras de sangue de animais pertencentes à raça Nelore, da espécie *Bos Indicus*, predominantes na região. Tais amostras foram coletadas pela equipe da Prof<sup>a</sup>. Dra. Neli de Almeida Melo. Deste total, 18 amostras, provenientes dos animais de Santo Amaro que pastavam na área da PLUMBUM, foram classificadas como amostras do grupo **Exposto**. As 10 amostras restantes, obtidas de animais do frigorífico FRIMASA (**Figura 12**), foram classificadas como amostras do grupo **Controle**. Foi confirmado, através de documentação apresentada pelo frigorífico, que as amostras do grupo **Controle** não provinham de Santo Amaro nem de regiões próximas.



(Foto: Jaqueline R.M.)

**Figura 12:** Vista geral do frigorífico Frimasa (BR 324, trecho Salvador-CIA).

Como a população local utiliza a carne e o leite dos animais estudados, as queixas constantes de que seu rebanho vinha se apresentando doente e que utilizavam as dependências da antiga fundição para pastar e beber serviram de alerta para a realização de um monitoramento citogenético, através de testes mutagênicos, utilizando as amostras de sangue destes animais, além da determinação dos níveis de Pb e Cd, na tentativa de verificar a existência de uma associação entre estes níveis e os resultados de tais testes.

### 3.1.2.2. População Infantil para Avaliação de Risco

Em maio de 1995, foi realizado um estudo pela equipe do Prof. Dr. Fernando M. Carvalho em 130 crianças de 2 a 35 meses de idade da creche Manjedoura, situada no bairro de Pau da Lima, em Salvador. Tal estudo teve como objetivo determinar os níveis de chumbo e cádmio no sangue destas crianças e correlacioná-los à anemia por deficiência de ferro, constituindo a segunda parte de um estudo feito em dois pontos no tempo (na primeira parte do trabalho, realizada em agosto de 1993, não foram feitas dosagens de chumbo e cádmio no sangue das crianças). As amostras deste grupo foram coletadas por punção venosa ou arterial (quando necessário) e classificadas como amostras pertencentes do grupo **Controle** para estudos comparativos com as amostras de sangue oriundas de crianças da cidade de Santo Amaro, constituindo o grupo não exposto à intoxicação pelo chumbo (Carvalho et al., 1998).

A partir de um censo realizado pela equipe do Prof. Dr. Fernando Carvalho nas 131 famílias residentes à margem da Av. Ruy Barbosa (numa área de 1 Km de extensão a partir da antiga PLUMBUM) em setembro de 1998, foram identificadas 52 crianças de 1 a 5 anos de idade e, em 48 destas, foram coletadas amostras de sangue venoso, com a intenção de se determinar a prevalência e fatores associados à intoxicação com chumbo. Tais amostras foram classificadas como pertencentes ao grupo **Exposto**.

Em relação aos questionários de avaliação, dados como idade, sexo, total de residentes em cada domicílio, vínculo empregatício do pai, informações sobre diagnóstico e tratamento anterior para intoxicação pelo chumbo em familiares, e hábito de comer barro, reboco e outros materiais foram registrados neste censo [Itens Questionários de Avaliação e Tabelas de Resultados (C1 a C7) em Anexos].

### 3.1.2.3. População Adulta Feminina

Este estudo, realizado em novembro de 1999, teve como objetivos a determinação da prevalência de alterações cromossômicas em mulheres de Santo Amaro expostas ao chumbo e ao cádmio, comparando-os com os dados de mulheres residentes em uma área controle (grupo **Controle**) e investigar se a prevalência de tais alterações cromossômicas estava associada aos níveis de Pb no sangue e/ou Cd na urina.

O grupo **Exposto** foi constituído de 30 mulheres de Santo Amaro entre 30 e 45 anos, residentes à Av. Rui Barbosa, localizada a menos de 500 m da chaminé da antiga PLUMBUM. Na seleção das mulheres que constituiriam este grupo foram excluídas as ex-trabalhadoras da PLUMBUM, aquelas mulheres em tratamento de doenças como tuberculose, AIDS, pneumonia, infecção por HTLV ou citomegalovirus, rubéola, toxoplasmose ou câncer. Foram também excluídas aquelas mulheres que fizeram uso de medicamento como antibióticos antimicóticos ou fizeram exames radiológicos nos 15 dias que antecederam a coleta das amostras (Carvalho, et al., 2000).

O grupo **Controle**, constituído de 30 mulheres da mesma faixa etária do grupo **Exposto**, foi selecionado na periferia da cidade de Jequié, localizada a 374 Km de Salvador e onde não são desenvolvidas atividades industriais relevantes e nem há registros de exposição a metais pesados.

No item Tabelas de Resultados (Anexos) encontra-se a Tabela **C8**, onde estão relacionados os hábitos e características raciais das mulheres pertencentes aos dois grupos.

## 3.2. Amostragem

### 3.2.1. Amostras de Sangue e Urina Humanos e Sangue Bovino

As 130 amostras de sangue das crianças do grupo **Controle** (cerca de 1 a 2 mL cada) e as 48 amostras de sangue das crianças do grupo **Exposto** (cerca de 3 mL cada) foram colhidas por punção venosa (em alguns casos do grupo **Controle** foi necessária coleta por punção arterial), através de seringas especiais contendo como anticoagulante o EDTA K. O mesmo procedimento foi utilizado na coleta das amostras do sangue das mulheres (cerca de 4 mL) pertencentes aos dois grupos.

Uma alíquota de aproximadamente 30 mL de urina de cada uma das mulheres estudadas nos dois grupos foi também coletada utilizando-se recipientes plásticos de polietileno previamente descontaminados com  $\text{HNO}_3$  a 10 %.

Cerca de 10 mL de sangue de cada um dos 18 animais do grupo **Exposto** foram colhidos através de punção venosa na jugular com seringas heparinizadas com Liquémine, Roche - 5000 UI. As 10 amostras de sangue dos animais **Controle** foram colhidas no momento do abate (sangria), em tubos de ensaio também heparinizados com Liquémine, Roche - 5000 UI e previamente identificados, sendo posteriormente vedados com tampas de borracha.

Após a coleta, as amostras de sangue foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e levadas ao laboratório, onde foram mantidas em freezer ( $T \approx -30^{\circ}\text{C}$ ), até a análise. As amostras de urina foram mantidas em geladeira.

### 3.2.2. Amostras de Gramínea (Capim)

As amostras de gramínea (capim) foram coletadas manualmente nos pontos de amostragem. Eventualmente utilizou-se facas plásticas para facilitar o corte e eliminação das raízes. As amostras foram então acondicionadas em sacos plásticos previamente rotulados e mantidas em caixas de isopor até serem levadas ao laboratório.

### 3.2.3. Amostras de Solo

As amostras de solo foram coletadas em perfis de até 15 a 60 cm utilizando-se um cavador de ferro (Figura 13a). O solo estava bastante seco na época da coleta, o que dificultou alcançássemos profundidades maiores.



**Figura 13:** (a) Coleta de perfis de solo através da utilização de um cavador de ferro.  
(b) Escavação no solo feita com o cavador após a raspagem com faca plástica para remoção da camada que entrou em contato com o metal do cavador.

As paredes das escavações foram removidas, através de raspagem, com facas e colheres plásticas para que fosse evitada a potencial contaminação

com ferro do cavador (**Figura 13b**). Após este procedimento, amostras dos perfis a intervalos de 15 cm, a partir da superfície, medidos com o auxílio de uma régua, foram coletados com facas e colheres plásticas e acondicionados em sacos plásticos devidamente rotulados. As amostras foram guardadas e transportadas para o laboratório em caixas de isopor com gelo. No laboratório as amostras foram mantidas em congelador ( $T \cong -18^\circ \text{C}$ ) até serem liofilizadas.

### **3.3. Determinações de Chumbo e Cádmio**

As metodologias utilizadas no pré-tratamento das amostras para as análises de chumbo e cádmio são descritas a seguir:

#### **3.3.1. Extrações do Chumbo e Cádmio das Amostras de Sangue Humano e Bovino**

1º Visando-se evitar a contaminação com possíveis doenças, foram utilizadas luvas descartáveis durante todo o tempo de manipulação das amostras de sangue, desde a sua retirada do freezer até a análise no espectrômetro. Após serem retiradas do freezer e alcançarem a temperatura ambiente, as amostras foram homogeneizadas, por aproximadamente 3 minutos, fazendo-se rolar os recipientes sobre uma superfície plana, de forma suave, para evitar a formação de emulsão.

2º As amostras foram extraídas com ácido  $\text{HNO}_3$  6,5 % (a partir de 10 mL de solução de  $\text{HNO}_3$  concentrado 65 %, marca Reagen, em 1000 mL de água deionizada, obtida com o purificador MILLI-Q™ Water System), em tubos Eppendorf de polietileno (capacidade de 1,5 mL). Utilizando-se micropipetas reguláveis de 100 - 1000  $\mu\text{L}$  e ponteiros Eppendorf, tomou-se uma alíquota da amostra de sangue (200 a 500  $\mu\text{L}$ , a depender da concentração do analito na amostra) e transferiu-se para o tubo previamente identificado, contendo o volume adequado de  $\text{HNO}_3$  6,5 % (o volume total da solução de ácido + amostra era sempre 1000  $\mu\text{L}$ ). Antes da



tomada da alíquota, cada ponteira foi lavada três vezes com a amostra com a finalidade de se formar um filme regular no interior da ponteira para facilitar o escoamento da mesma, levando a uma melhoria na repetibilidade durante a tomada da alíquota. Todas as amostras foram preparadas em duplicata.

- 3º Imediatamente após a adição da amostra de sangue ao ácido, a extração foi efetuada primeiramente com agitação manual e vigorosa por aproximadamente 3 minutos, seguida de agitação ultra-sônica (Ultrasonic Cleaner Branson mod. B-52H, 50-60 Hz) por 15 minutos. A separação era então feita através de centrifugação (microcentrífuga Centimicro® FANEM, mod. 212) a 13500 rpm durante 15 minutos. Os metais Pb e Cd extraídos foram determinados na solução ácida sobrenadante.
- 4º As curvas analíticas utilizadas nas determinações de Pb foram preparadas a partir de amostras de sangue padrão do CDC e Biological Control Material AMI, tratadas segundo as etapas 1, 2 e 3 anteriores. Nas **Tabelas 9** e **10** estão listados os parâmetros instrumentais e a programação do forno de grafite usados nas determinações de Pb.

**Tabela 9:** Parâmetros instrumentais usados nas determinações de Pb.

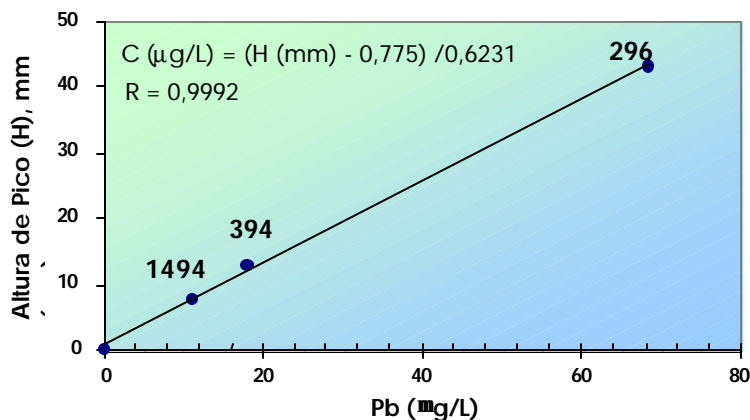
| Condições Instrumentais   | Chumbo (Pb)                                   |
|---------------------------|---|
| Comprimento de Onda       | $\lambda = 283,3 \text{ nm}$                  |
| Largura de fenda          | 0,7 nm (posição ALT)                          |
| Fonte de radiação         | Lâmpada de cátodo oco<br>(Perkin Elmer nº 72) |
| Corrente                  | 10 mA   |
| Sinal<br>Modo             | Altura de Pico<br>Contínuo                    |
| Correção de background    | Corretor de deutério                          |
| Registro                  | Registrador AAB SE 120                        |
| Tipo de Tubo              | Não pirolisado                                |
| Aliquota usada            | 20 $\mu\text{L}$                              |
| Calibrador de Temperatura | 9,78  |
| Gás de Purga              | Argônio                                       |
| Injeção                   | Autosampler                                   |

**Tabela 10:** Programação do forno de grafite (Perkin Elmer - HGA 400) para as análises de Pb.

| ETAPA                       | I   | II  | III  | IV   |
|-----------------------------|-----|-----|------|------|
| Temperatura (°C)            | 100 | 400 | 1200 | 2650 |
| Tempo de Rampa (s)          | 10  | 5   | 0    | 1    |
| Tempo de Permanência (s)    | 20  | 10  | 5    | 3    |
| Registrador                 |     |     | Sim  |      |
| Leitura                     |     |     | Sim  |      |
| Interrupção de fluxo de gás |     |     | Sim  |      |
| Vazão interna (mL/min)      | 300 | 300 | 0    | 300  |

**Etapas:** I - Secagem do solvente II - Carbonização III - Atomização  
IV - Limpeza

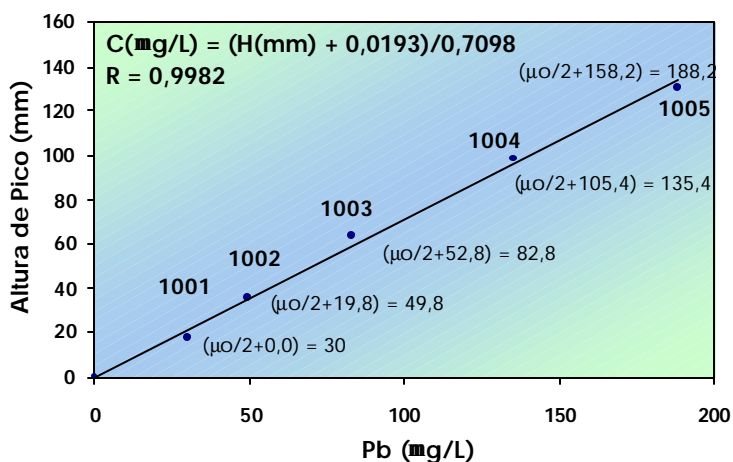
As Figuras 14, 15 e 16, respectivamente, mostram curvas analíticas típicas de Pb obtidas a partir das amostras de sangue padrão do CDC e Biological Control Material AML.



**Figura 14:** Curva analítica típica de Pb, a partir de amostras de sangue padrão do CDC em HNO<sub>3</sub> 6,5 %, por espectrometria de absorção atômica (AAS Perkin Elmer 460) com forno de grafite (HGA Perkin Elmer 400).

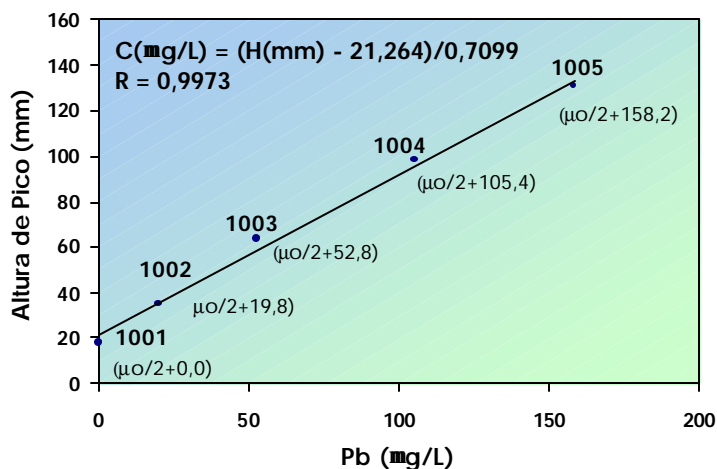
Na Figura 14, os números 1494, 394 e 296 correspondem aos códigos das amostras de sangue padrão do CDC utilizadas no preparo da curva analítica. As amostras foram preparadas com um fator de diluição de 4 (1 parte de amostra para 3 partes de HNO<sub>3</sub> 6,5 %). As concentrações das amostras de

sangue padrão utilizadas na construção do gráfico correspondem às concentrações certificadas (em  $\mu\text{g/L}$ ) divididas por 4. As amostras foram preparadas em duplicata e os valores das alturas corresponderam às alturas médias obtidas a partir de três injeções de cada replicata, num total de 6 valores. Todas as alturas obtidas foram subtraídas da altura média do branco de  $\text{HNO}_3$  6,5 % medido a cada análise. O ponto (0,0) foi obtido a partir da subtração da altura média do branco de  $\text{HNO}_3$  6,5 %. Os parâmetros instrumentais e a programação utilizada são mostradas nas Tabelas 9 e 10.



**Figura 15:** Curva analítica típica de Pb (a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em  $\text{HNO}_3$  6,5 %) por espectrometria de absorção atômica (AAS Perkin Elmer 460) com forno de grafite (HGA Perkin Elmer 400).

Os números 1001 a 1005 na **Figura 15** correspondem aos códigos das amostras certificadas do Biological Control Material AMI. As concentrações de Pb eram expressas como  $\mu_0 + X$ , onde X era a concentração certificada e  $\mu_0$  a concentração intrínseca do analito no sangue ao qual X foi acrescentado. Como as amostras foram preparadas com um fator de diluição de 2 (1 parte de amostra para 1 parte de  $\text{HNO}_3$  6,5 %), foram calculados, para todos os pontos da curva, o valor de  $(\mu_0 + X)/2$ . Inicialmente era obtida uma curva analítica que não passava pela origem (**Figura 16**) e cujo primeiro ponto era  $(\mu_0 + 0,0)/2$ . Através da interpolação da curva analítica foi possível determinar o valor de  $\mu_0/2$ , calculando-se a concentração  $(\mu_0/2)$  para a altura (H) igual a zero.



**Figura 16:** Curva analítica típica de Pb utilizada para o cálculo do valor intrínseco ( $\mu_0$ ) do analito, feita a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO<sub>3</sub> 6,5 %, por espectrometria de absorção atômica (AAS Perkin Elmer 460) com forno de grafite (HGA Perkin Elmer 400).

As características de desempenho da metodologia analítica para as determinações de Pb no sangue humano e bovino estão listados na **Tabela 11**.

**Tabela 11:** Características de desempenho para determinação de **chumbo** em **sangue humano** e **bovino** utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério).

| Características                        | Valor médio        |
|--|--------------------|
| Branco de HNO <sub>3</sub> 6,5 %       | 4,66 µg/L          |
| Desvio padrão dos brancos ( $\sigma$ ) | 0,68 µg/L          |
| Faixa de linearidade                   | 2,04 – 200 µg/L    |
| Limite de detecção (3 $\sigma$ )       | 2,04 µg/L          |
| Limite de detecção da amostra          | 8,16 µg/L          |
| Limite de quantificação (10 $\sigma$ ) | 6,80 µg/L          |
| * Exatidão                             | 98 %, 97 % e 100 % |

\* Exatidão comprovada através da análise das amostras de sangue controle nºs 296, 596 e 696, com valores certificados pelo CDC em 27,3 ± 2,54; 26,6 ± 2,65 e 10,6 ± 1,27 µg/dL, respectivamente.

5º Nas análises de Cd, as curvas analíticas (faixa de concentração de 0 a 1,5 µg/L) foram preparadas a partir de diluições da solução 1000 mg/L de Cd (Titrisol Merck) em HNO<sub>3</sub> 6,5 % e a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO<sub>3</sub> 6,5 %. Nas **Tabelas 12 e 13** estão

listados os parâmetros instrumentais e a programação do forno de grafite usados nas determinações de Cd.

**Tabela 12:** Parâmetros instrumentais usados nas determinações de Cd.

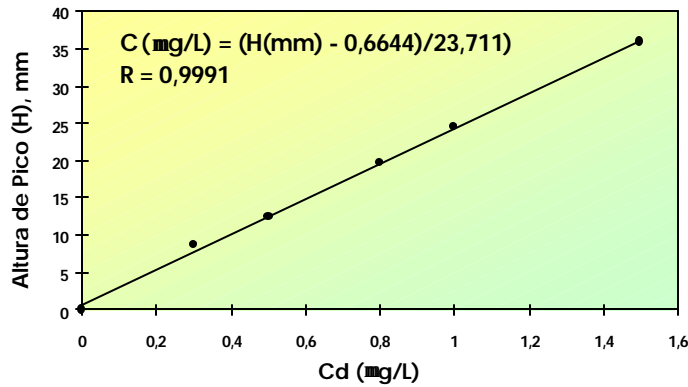
| Condições Instrumentais   | Cádmio (Cd)  |
|---------------------------|--|
| Comprimento de Onda       | $\lambda = 228,8 \text{ nm}$                       |
| Largura de fenda          | 2,0 nm (posição ALT)                               |
| Fonte de radiação         | Lâmpada de EDL Fonte de EDL (Perkin Elmer) nº 6310 |
| Corrente                  | 5 mA   |
| Sinal<br>Modo             | Altura de pico (mm)<br>Contínuo                    |
| Correção de background    | Corretor de deutério                               |
| Registro                  | Registrador AAB SE 120                             |
| Tipo de Tubo              | Pirolisado   |
| Alíquota usada            | 20 $\mu\text{L}$                                   |
| Calibrador de Temperatura | 7,76   |
| Gás de Purga              | Argônio  |
| Injeção                   | Autosampler  |

**Tabela 13:** Programação do forno de grafite (Perkin Elmer - HGA 400) para as análises de Cd.

| ETAPA                              | I   | II  | III  | IV   |
|------------------------------------|-----|-----|------|------|
| Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) | 100 | 450 | 1400 | 2650 |
| Tempo de Rampa (s)                 | 10  | 5   | 0    | 1    |
| Tempo de Permanência (s)           | 20  | 15  | 5    | 3    |
| Registrador                        |     |     | Sim  |      |
| Leitura                            |     |     | Sim  |      |
| Interrupção de fluxo de gás        |     |     | Sim  |      |
| Vazão interna (mL/min)             | 300 | 300 | 0    | 300  |

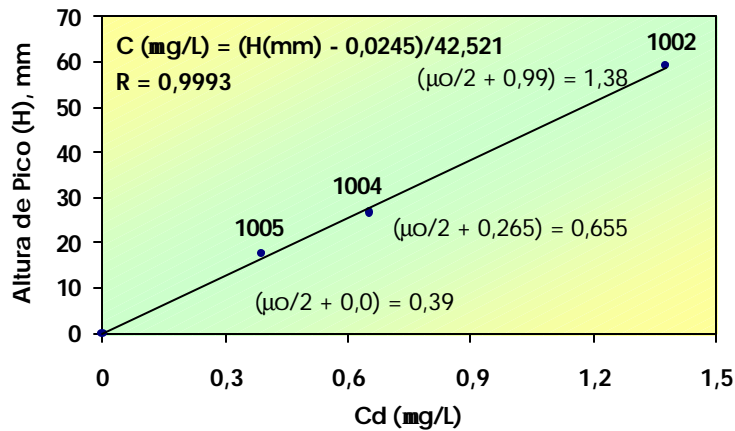
**Etapas:** I - Secagem do solvente II - Carbonização III - Atomização  
 IV - Limpeza

A **Figura 17** representa uma curva analítica típica de Cd construída a partir de diluições de uma solução 1000 mg/L de Cd (Titrisol Merck) em  $\text{HNO}_3$  6,5 %.



**Figura 17:** Curva analítica típica de Cd a partir de diluições de solução 1000 mg/L de Cd (Titrisol Merck) em HNO<sub>3</sub> 6,5 % por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400).

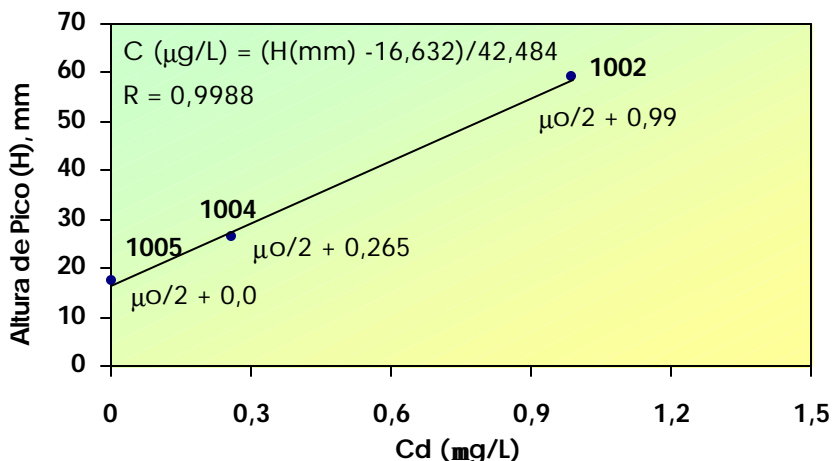
Na **Figura 18**, uma curva analítica típica de Cd construída a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO<sub>3</sub> 6,5 %.



**Figura 18:** Curva analítica típica de Cd (a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO<sub>3</sub> 6,5 %) por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400).

Analogamente às concentrações de Pb, as concentrações de Cd eram também expressas como  $\mu_0 + X$ , onde X era a concentração certificada (em  $\mu\text{g/L}$ ) e  $\mu_0$  a concentração intrínseca do analito.

Como as amostras foram preparadas com um fator de diluição de 2 (1 parte de amostra para 1 parte de HNO<sub>3</sub> 6,5 %), foram calculados, para todos os pontos da curva, o valor de  $(\mu_0 + X)/2$ . Inicialmente era obtida uma curva que não passava pela origem (Figura 19) e cujo primeiro ponto era  $(\mu_0 + 0,0)/2$ . Através da interpolação da curva analítica, o valor de  $\mu_0/2$  pode ser determinado, calculando-se a concentração  $(\mu_0/2)$  para a altura (H) igual a zero.



**Figura 19:** Curva analítica típica de Cd utilizada para o cálculo do valor intrínseco ( $\mu_0$ ) do analito, feita a partir de amostras de sangue padrão do Biological Control Material AMI em HNO<sub>3</sub> 6,5 %, por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400).

As características de desempenho da metodologia analítica para as determinações de Cd no sangue humano e bovino estão listadas na **Tabela 14**.

**Tabela 14:** Características de desempenho para determinação de **cádmio** em **sangue humano** e **bovino** utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério).

| Características                        | Valor médio      |
|--|------------------|
| Branco de HNO <sub>3</sub> 6,5 %       | 0,068 µg/L       |
| Desvio padrão dos brancos ( $\sigma$ ) | 0,021 µg/L       |
| Faixa de linearidade                   | 0,063 – 1,5 µg/L |
| Limite de detecção ( $3\sigma$ )       | 0,063 µg/L       |
| Limite de detecção da amostra          | 0,252 µg/L       |
| Limite de quantificação ( $10\sigma$ ) | 0,210 µg/L       |
| * Exatidão                             | 97 % e 94 %      |

\* Exatidão comprovada através da análise das amostras de sangue controle (código AMI B1003, com valor certificado pelo Biological Control Material AMI em 1,92 µg/L) e folha de pomar (Orchard Leaves 1571, com valor certificado pelo NIST em  $0,11 \pm 0,01$  µg/g), respectivamente.

### 3.3.2. Metodologia Analítica para Determinações de Cd em Amostras de Urina Humana:

- 1º. Após a coleta, a cada amostra de urina das mulheres foi adicionado um volume de HNO<sub>3</sub> concentrado, de modo que a concentração final da solução fosse 6,5 % em HNO<sub>3</sub>.
- 2º. Para cada grupo de amostras foram preparados três brancos a partir de solução HNO<sub>3</sub> 6,5 %. Após retiradas da geladeira e alcançarem a temperatura ambiente, uma alíquota de 20 µL de cada amostra foi injetada no espectrômetro e analisada para Cd, segundo os parâmetros instrumentais e programação utilizados mostrados anteriormente (**Tabelas 12 e 13**).
- 3º. Uma curva analítica típica utilizada nas análises de Cd pode ser vista na **Figura 21**.

Na **Tabela 15** estão listadas as características de desempenho da metodologia utilizada na determinação de Cd em amostras de urina.



**Tabela 15:** Características de desempenho para determinação de **cádmio** em amostras de **urina** utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério).

| Características                        | Valor médio      |
|--|------------------|
| Branco de HNO <sub>3</sub> 6,5 %       | 0,0436 µg/L      |
| Desvio padrão dos brancos ( $\sigma$ ) | 0,00388 µg/L     |
| Faixa de linearidade                   | 0,012 – 2,5 µg/L |
| Limite de detecção ( $3\sigma$ )       | 0,012 µg/L       |
| Limite de detecção da amostra          | 18 µg/g          |
| Limite de quantificação ( $10\sigma$ ) | 0,039 µg/L       |
| * Exatidão                             | 95,5 %           |

\* Exatidão comprovada através da análise da amostra de fígado bovino (Bovine Liver, com valor certificado pelo NIST em  $0,27 \pm 0,04$  µg/g).

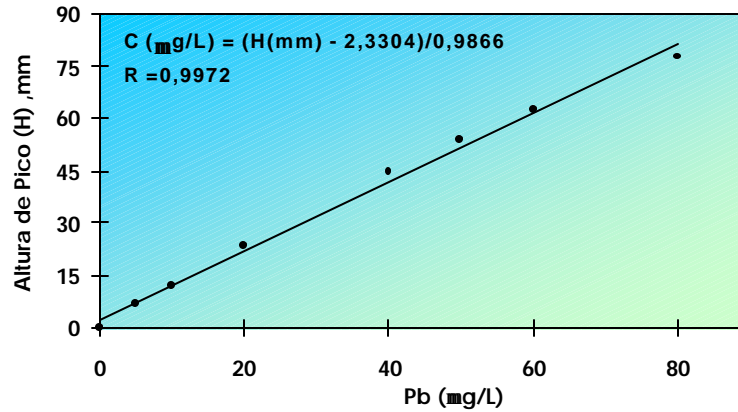
### 3.3.3. Metodologia Analítica para Determinações de Pb e Cd em Amostras de Gramínea (capim):

#### 3.3.3.1. Determinação de Umidade

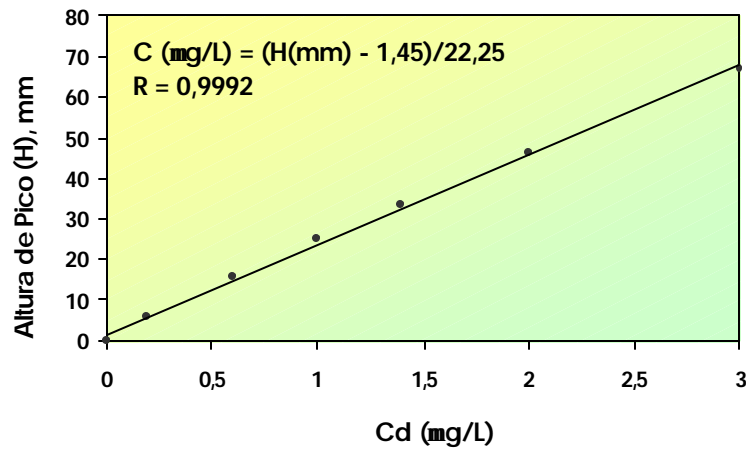
- 1º. Após serem trazidas ao laboratório, cada amostra de gramínea foi dividida em duas porções e deixadas ao ar para que atingissem a temperatura ambiente. Em seguida, uma das porções foi cortada com tesoura cirúrgica e colocada em pesa-filtros, rotulados e pesados, utilizando-se uma balança analítica Mettler AE 200.
- 2º. As amostras nos pesa-filtros foram então pesadas e colocadas em estufa (estufa Retilinea FANEM mod. 315/1, 0,3 Kw) por 1 hora à 105 °C. Após esse tempo, os pesa-filtros foram retirados da estufa e colocados em dessecadores até atingirem a temperatura ambiente, quando eram novamente pesados.
- 3º. Este procedimento foi repetido, com intervalo de tempo reduzido para 30 minutos, para todas as amostras várias vezes até que não fosse registrada nenhuma variação significativa no peso (diminuição ou aumento da massa). Com isto, foi possível determinar a massa de água originalmente presente nas amostras de gramínea.

### 3.3.3.2. Determinações de Pb e Cd

- 1º. A outra porção da amostra de gramínea foi também cortada com tesoura cirúrgica (sendo descartadas as raízes) e, aproximadamente 0,15 g de cada, foram pesados com exatidão diretamente em copos de teflon (capacidade de 50 mL) previamente descontaminados com HNO<sub>3</sub> 10 %. Nestes recipientes foram então adicionados 1 mL de água deionizada e 5 mL de HNO<sub>3</sub> 65 %. Os recipientes foram levemente agitados (até que toda a amostra sólida fosse umedecida pela solução de ácido), tampados, colocados nas respectivas bombas de aço e levados à estufa durante aproximadamente 15 horas a 110–115 °C.
- 2º. No dia seguinte, após serem retirados da estufa e alcançarem a temperatura ambiente, os copos de teflon contendo a mistura foram levados à balança e completados com água deionizada até aproximadamente, e com exatidão, 50 g (massa da solução).
- 3º. Depois de homogeneizados com colheres plásticas descontaminadas (uma para cada amostra), os conteúdos dos copos de teflon foram transferidos para frascos de polietileno (também descontaminados com HNO<sub>3</sub> 10 % e devidamente rotulados) e analisadas. Todas as amostras foram preparadas em duplicata.
- 4º. Para cada grupo de amostras digeridas foram preparados três brancos contendo todos os reagentes utilizados na abertura das amostras e seguindo todas as etapas de digestão.
- 5º. As curvas analíticas utilizadas nas análises de Pb (faixa de concentração de 0 a 100 µg/L) e Cd (faixa de concentração de 0 a 3,0 µg/L) foram preparadas a partir de diluições de solução padrão 1000 µg/L de Pb e Cd (ambas Titrisol Merck), respectivamente. Curvas analíticas típicas de Pb e Cd são mostradas nas **Figuras 20** e **21**, respectivamente. Os parâmetros instrumentais e a programação utilizada são os mesmos mostrados nas **Tabelas 9, 10, 12 e 13**.



**Figura 20:** Curva analítica típica de Pb a partir de diluições de solução 1000 mg/L de Pb (Titrisol Merck) em HNO<sub>3</sub> 6,5 % por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400).



**Figura 21:** Curva analítica típica de Cd a partir de diluições de solução 1000 mg/L de Cd (Titrisol Merck) em HNO<sub>3</sub> 6,5 % por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS Perkin Elmer 460) com Forno de Grafite (HGA 400).

Nas Tabelas 16 e 17 são apresentadas as características de desempenho da metodologia utilizada nas determinações de chumbo e cádmio, respectivamente, em gramínea.

**Tabela 16:** Características de desempenho para determinação de **chumbo** em amostras de **gramínea** utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério).

| Características                  | Valor médio     |
|----------------------------------|-----------------|
| Branco de HNO <sub>3</sub> 6,5 % | 5,4 µg/L        |
| Desvio padrão dos brancos (σ)    | 0,31 µg/L       |
| Faixa de linearidade             | 0,93 – 100 µg/L |
| Limite de detecção (3 σ)         | 0,93 µg/L       |
| Limite de detecção da amostra    | 15,5 µg/L       |
| Limite de quantificação (10 σ)   | 3,10 µg/L       |
| * Exatidão                       | 97,2 %          |

\* Exatidão comprovada através da análise da amostra de folha de pomar (Orchard Leaves 1571, com valor certificado pelo NIST em 45 ± 3 µg/g)

**Tabela 17:** Características de desempenho para determinação de **cádmio** em amostras de **gramínea** utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério).

| Características                  | Valor médio      |
|----------------------------------|------------------|
| Branco de HNO <sub>3</sub> 6,5 % | 0,0769 µg/L      |
| Desvio padrão dos brancos (σ)    | 0,083 µg/L       |
| Faixa de linearidade             | 0,249 – 2,5 µg/L |
| Limite de detecção (3 σ)         | 0,249 µg/L       |
| Limite de detecção da amostra    | 4,15 µg/g        |
| Limite de quantificação (10 σ)   | 0,830 µg/L       |
| * Exatidão                       | 92,3 %           |

\* Exatidão comprovada através da análise da amostra de folha de pomar (Orchard Leaves 1571, com valor certificado pelo NIST em 0,11 ± 0,01 µg/g).

### 3.3.4. Metodologia Analítica para Determinação de Pb e Cd em Amostras de Solo:

1º. Cada perfil de amostra de solo (profundidades de 0 a 60 cm, a intervalos de 15 cm) foi colocado em placas de Petri e levado a um liofilizador (Laboratory Freeze Drier model S.B.5 Refrigerator Chamber Type) à  $\approx -35$  °C e 130 mtorr, durante 24 h para retirada de toda água presente na amostra.

- 2º. Após a liofilização, cada amostra foi triturada manualmente em gral de cerâmica e posteriormente peneirada em frações de 200 mesh através de peneiras de nylon com vibração mecânica.
- 3º. Cerca de 0,15 g (pesados com exatidão) de cada amostra peneirada foi transferido para copos de teflon utilizando-se colheres plásticas. Adicionaram-se 1 mL de água deionizada e 5 mL de HNO<sub>3</sub> 65 %. Os recipientes foram levemente agitados, tampados e colocados em bombas de aço, sendo posteriormente colocados em estufa à 110 – 115 °C, durante aproximadamente 15 horas.
- 4º. Os procedimentos seguintes são semelhantes aos itens 2, 3 e 4 da metodologia usada na abertura de amostras de gramínea (capim) para as análises de Pb e Cd (item 3.3.3.2.), exceto pelo fato das amostras de solo não terem solubilizado totalmente, restando um pouco de resíduo no fundo do recipiente, os silicatos. Vale ressaltar que o objetivo desta abertura foi determinar o Pb e o Cd potencialmente mobilizáveis e não o Pb e Cd totais, ou seja, incluídos nas estruturas dos silicatos. Assim, foi necessária a centrifugação das soluções obtidas, utilizando-se um centrifugador Excelsa FANEM mod. 203 N, a 3000 rpm durante 5 minutos, antes das determinações de Pb e Cd.

As características de desempenho da metodologia analítica utilizada para as determinações de Pb e Cd no solo estão listados nas **Tabela 18** e **19**, respectivamente.

**Tabela 18:** Características de desempenho para determinação de **chumbo** em amostras de **solo** utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério).

| Características                  | Valor médio      |
|----------------------------------|------------------|
| Branco de HNO <sub>3</sub> 6,5 % | 4,77 µg/L        |
| Desvio padrão dos brancos (σ)    | 0,105 µg/L       |
| Faixa de linearidade             | 0,318 – 200 µg/L |
| Limite de detecção (3 σ)         | 0,315 µg/L       |
| Limite de detecção da amostra    | 5,25 µg/g        |
| Limite de quantificação (10 σ)   | 1,05 µg/L        |
| * Exatidão                       | 98 %             |

\* Exatidão comprovada através da análise da amostra de folha de pomar (Orchard Leaves 1571, com valor certificado pelo NIST em 45 ± 3 µg/g)

**Tabela 19:** Características de desempenho para determinação de **cádmio** em amostras de **solo** utilizando o espectrômetro de absorção atômica AAS Perkin Elmer 460 com forno de grafite HGA 400 (com corretor de deutério).

| Características                  | Valor médio      |
|----------------------------------|------------------|
| Branco de HNO <sub>3</sub> 6,5 % | 0,087 µg/L       |
| Desvio padrão dos brancos (σ)    | 0,026 µg/L       |
| Faixa de linearidade             | 0,077 – 1,0 µg/L |
| Limite de detecção (3 σ)         | 0,078 µg/L       |
| Limite de detecção da amostra    | 36 µg/g          |
| Limite de quantificação (10 σ)   | 0,26 µg/L        |
| * Exatidão                       | 97,1 %           |

\* Exatidão comprovada através da análise da amostra de folha de pomar (Orchard Leaves 1571, com valor certificado pelo NIST em 0,11 ± 0,01 µg/g)

### 3.4. Controle e Garantia da Qualidade nas Análises

#### 3.4.1. Determinações de Pb em Amostras de Sangue Humano:

Todas as curvas analíticas utilizadas nas análises de Pb em sangue humano foram preparadas a partir de amostras de sangue padrão do CDC. Amostras certificadas pelo CDC foram também usadas no controle de qualidade de todas as análises, sendo preparados e analisadas segundo o mesmo procedimento usado para as amostras de sangue das crianças e bovino (item 3.3.1.). O resultado obtido com a amostra de referência utilizada é mostrado na **Tabela 20**:

**Tabela 20:** Concentração de Pb na amostra de sangue certificada (CDC-596) usada no controle de qualidade das análises de sangue humano.

| Amostra (código CDC) | Pb (mg/dL) (encontrado) | Pb (mg/dL) (certificado pelo CDC) | Exatidão (valor médio) |
|----------------------|-------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| 596                  | 25,8 ± 2,07             | 26,6 ± 2,65                       | 97 %                   |

#### 3.4.2. Determinações de Cd em Amostras de Sangue Humano:

As curvas analíticas foram preparadas a partir de diluições da solução 1000 mg/L de Cd (Titrisol Merck) em HNO<sub>3</sub> 6,5 % e a amostra certificada (B1003 do Biological Control Material) foi usada no controle de qualidade de todas as análises (**Tabela 21**).

**Tabela 21:** Concentração de Cd na amostra de sangue certificado (B1003 do Biological Control Material AMI) usada no controle de qualidade das análises de sangue humano.

| Amostra (Biological Control Material AMI) | Cd + m <sub>0</sub> (mg/dL) (encontrado) | Cd + m <sub>0</sub> (mg/dL) m <sub>0</sub> <sup>22</sup> = 0,34 mg/dL (certificado) | Exatidão (valor médio) |
|---|--|---|------------------------|
| AMI B1003                                 | 1,98                                     | 1,92  | 97 %                   |

<sup>22</sup> As concentrações das amostras certificadas de Cd e Pb do Biological Control Material AMI eram expressas como  $\mu_0 + X$ , onde X era a concentração certificada e  $\mu_0$  a concentração intrínseca do analito, que deveria ser determinada por interpolação da curva analítica.

### 3.4.3. Determinações de Cd em Amostras de Urina Humana:

As curvas analíticas foram também preparadas a partir de diluições da solução 1000 mg/L de Cd (Titrisol Merck) em HNO<sub>3</sub> 6,5 % e a amostra certificada (Bovine Liver) foi usada no controle de qualidade de todas as análises (Tabela 22).

**Tabela 22:** Concentração de Cd na amostra de fígado bovino certificada (Bovine Liver 1577 - NIST) usada no controle de qualidade das análises de urina humana.

| Amostra           | Cd (mg/g)<br>(encontrado) | Cd (mg/g)<br>(certificado pelo NIST) | Exatidão<br>(valor médio) |
|-------------------|---------------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| Bovine Liver 1577 | 0,2821 ± 0,0314           | 0,27 ± 0,04                          | 95,5 %                    |

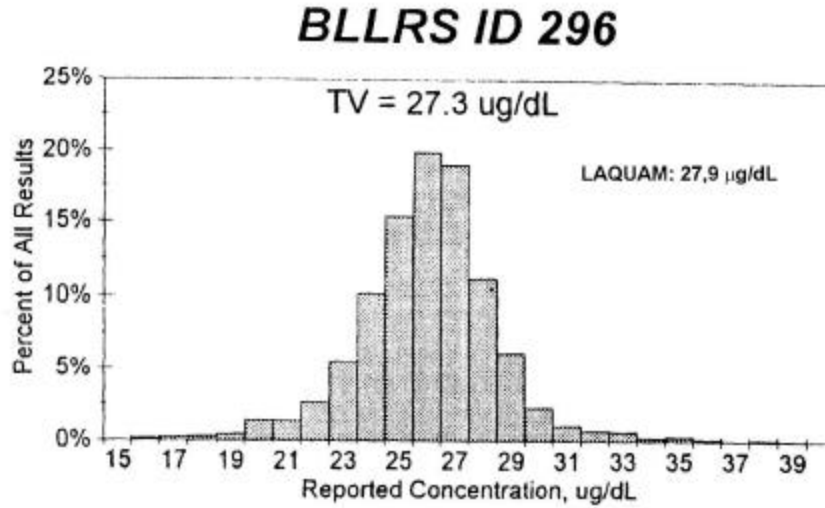
### 3.4.4. Determinações de Pb em Amostras de Sangue Bovino:

As curvas analíticas utilizadas foram preparadas a partir de amostras de sangues certificados do Biological Control Material AMI (B1001 a B1003). Paralelamente às análises, o LAQUAM participou de um programa de intercalibração de Pb em amostras de sangue com o CDC. Os resultados obtidos pelo LAQUAM podem ser vistos na Tabela 23 e através das Figuras 22, 23 e 24:

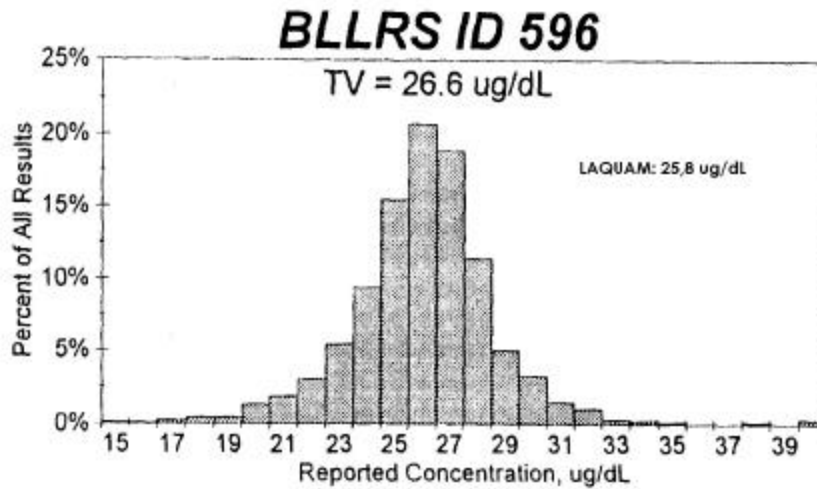
**Tabela 23:** Resultados das amostras de sangues certificadas obtidas através da participação no exercício de intercalibração laboratorial promovido pelo CDC.

| Amostra<br>(código CDC) | Pb (mg/dL)<br>(encontrado) | Pb (mg/dL)<br>(certificado pelo CDC) | Exatidão<br>(valor médio,) |
|-------------------------|----------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| 296                     | 27,9 ± 0,2                 | 27,3 ± 2,54                          | 97,8 %                     |
| 596                     | 25,8 ± 2,07                | 26,6 ± 2,65                          | 97,0 %                     |
| 696                     | 10,6 ± 0,3                 | 10,6 ± 1,72                          | 100 %                      |

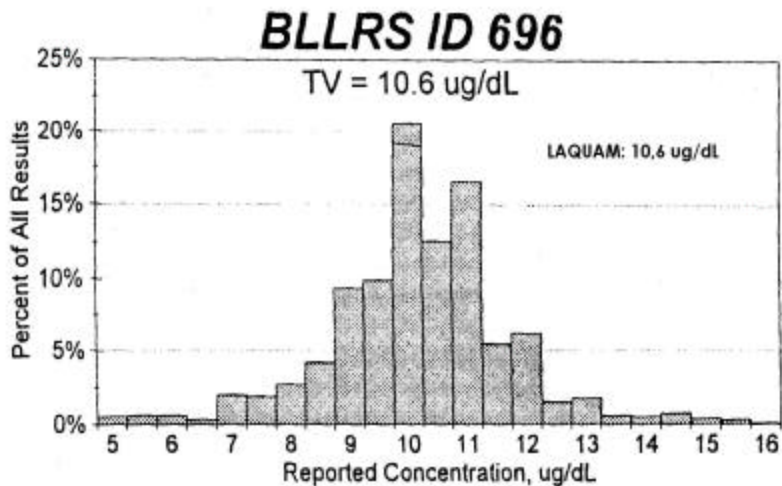




**Figura 22:** Gráfico do CDC mostrando o valor certificado da amostra nº 296 e os resultados obtidos pelos laboratórios participantes do exercício de intercalibração. Em destaque, o resultado obtido pelo LAQUAM.



**Figura 23:** Gráfico do CDC mostrando o valor certificado da amostra nº 596 e os resultados obtidos pelos laboratórios participantes do exercício de intercalibração. Em destaque, o resultado obtido pelo LAQUAM.



**Figura 24:** Gráfico do CDC mostrando o valor certificado da amostra nº 696 e os resultados obtidos pelos laboratórios participantes do exercício de intercalibração. Em destaque, o resultado obtido pelo LAQUAM.

### 3.4.5. Determinações de Cd em Amostras de Sangue Bovino:

Nas análises de Cd em sangue bovino foram utilizadas curvas analíticas preparadas a partir de amostras de sangue certificado do Biological Control Material AMI. Nesta altura do trabalho, não havia amostras de sangue de referência em volume suficiente para todas as análises; assim foi também utilizada a amostra de referência Orchard Leaves (NIST 1571). Vale ressaltar que, embora o controle de qualidade desta forma não assegure a exatidão do protocolo analítico utilizado no sangue, onde a diluição é usada em lugar da digestão da amostra, esta prática serve de controle para as condições gerais do laboratório, pureza dos reagentes e desempenho da determinação do analito no espectrômetro de absorção atômica. Os resultados obtidos são mostrados nas Tabelas 24 e 25:

**Tabela 24:** Concentração de Cd na amostra de sangue certificado (Biological Control Material AMI B1003) usada como referência na análise de sangue humano

| Amostra<br>(Biological Control<br>Material AMI) | Cd + m <sub>o</sub> (mg/dL)<br>(encontrado) | Cd + m <sub>o</sub> (mg/dL)<br>m <sub>o</sub> = 0,34 mg/dL (certificado) | Exatidão<br>(valor médio,) |
|---|---|--|----------------------------|
| AMI B1003                                       | 1,98  | 1,92   | 97 %                       |

**Tabela 25:** Concentração de Cd na amostra certificada (NIST - Orchard Leaves 1571) usada como referência na análise de sangue humano.

| Padrão de<br>referência NIST | Valor certificado<br>para Cd (mg/g) | Valor médio<br>encontrado (mg/dL) | Exatidão<br>(valor médio) |
|------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| Orchard Leaves 1571          | 0,11 ± 0,01                         | 0,104 ± 0,009                     | 94 %                      |

### 3.4.6. Determinações de Pb e Cd em Amostras de Solo e Gramínea:

Nas análises de Pb e Cd nas amostras de solo e gramínea foi também utilizada a amostra referência Orchard Leaves (NBS 1571). Na época em que as amostras foram analisadas, nosso laboratório não dispunha de padrões de referência de metais em solo, por isso a utilização da Orchard Leaves. Os resultados obtidos para Pb e Cd na amostra Orchard Leaves podem ser vistos na Tabela 26.

**Tabela 26:** Concentração de Cd e Pb na amostra certificada (NIST - Orchard Leaves 1571) usada como referência nas análises de solo e gramínea.

| Padrão de referência NIST: Orchard Leaves 1571 |                                |  |                                    |
|--|--------------------------------|--|------------------------------------|
|  | Valor certificado<br>pelo NIST | Valor médio encontrado (mg/g)                    | Exatidão (%)                       |
| Cd (mg/g)                                      | 0,11 ± 0,01                    | 0,107 ± 0,207 (solo)<br>0,102 ± 0,018 (gramínea) | 97,1 (solo) e<br>92,3 % (gramínea) |
| Pb (mg/g)                                      | 45 ± 3                         | 46,1 ± 1,3 (gramínea)<br>45,8 ± 3,0 (solo)       | 97,6 (solo) e<br>98 % (gramínea)   |

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Chumbo e Cádmio em Sangue de Crianças

#### 4.1.1. Testes de Significância

Os testes de significância foram utilizados com o intuito de se verificar a existência ou não de diferenças significativas entre os resultados de Pb e Cd encontrados nas amostras de sangue das crianças de ambos os sexos dos dois grupos. Primeiramente foi efetuado, para todos os parâmetros comparados, o teste  $F^{23}$  para verificar se havia ou não diferenças entre as variâncias destes. De acordo com os resultados obtidos, foi possível proceder ao teste  $t$  equivalente para cada caso. Os resultados das comparações feitas são mostrados na **Tabela 27**.

**Tabela 27:** Resultados dos testes de significância (teste  $t$ ) para amostras de sangue de crianças dos grupos Controle e Exposto.

| Parâmetros comparados   | Valor de $t_{calc.}$ | Valor de $t_{crit.}$<br>( $P = 0,05$ ) |
|---|----------------------|--|
| Cd em sangue de crianças do sexo feminino (N=59)(Controle)<br>X<br>Cd em sangue de crianças do sexo feminino (N=19)(Exposto)                                      | 5,173                | 1,729                                  |
| Pb em sangue de crianças do sexo feminino (N=59)(Controle)<br>X<br>Pb em sangue de crianças do sexo feminino (N=19)(Exposto)                                      | 2,247                | 1,665                                  |
| Cd em sangue de crianças do sexo masculino (N=70)(Controle)<br>X<br>Cd em sangue de crianças do sexo masculino (N=29)(Exposto)                                    | 3,542                | 1,701                                  |
| Pb em sangue de crianças do sexo masculino (N=70)(Controle)<br>X<br>Pb em sangue de crianças do sexo masculino (N=29)(Exposto)                                    | 5,253                | 1,660                                  |
| Cd em sangue de crianças dos sexos masculino e feminino (N=48)<br>(Exposto)<br>X<br>Cd em sangue de crianças dos sexos masculino e feminino (N=129)<br>(Controle) | 5,534                | 1,667                                  |
| Pb em sangue de crianças dos sexos masculino e feminino (N=48)<br>(Exposto)<br>X<br>Pb em sangue de crianças dos sexos masculino e feminino (N=129)<br>(Controle) | 4,916                | 1,654                                  |

<sup>23</sup> Se  $F > F_{critico} \Rightarrow$  as variâncias diferem significativamente  $\Rightarrow$  Aplicar teste T presumindo variâncias diferentes  
 Se  $F < F_{critico} \Rightarrow$  as variâncias não diferem significativamente  $\Rightarrow$  Aplicar teste T presumindo variâncias iguais  
 (Miller and Miller, 1984)

As médias dos parâmetros da **Tabela 27** foram comparadas considerando-se a hipótese nula da inexistência de diferença significativa entre os grupos. Utilizando-se a planilha eletrônica Microsoft Excel, foi possível calcular o valor de T e verificar que, de acordo com o esperado, tanto para os níveis de chumbo quanto para os de cádmio, existe diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre os grupos **Controle** e **Exposto**, mesmo quando calculados separadamente por sexo ou considerando toda a população (masculina + feminina).

#### 4.1.2. Chumbo em Sangue de Crianças

##### 4.1.2.1. Crianças Pertencentes aos Grupos **Controle** (Crianças de Salvador) e **Exposto** (Crianças de Santo Amaro)

Fizeram parte deste estudo 130 crianças pertencentes do grupo **Controle** (faixa etária: 3 – 40 meses) e 48 pertencentes os grupo **Exposto** (faixa etária: 12 - 56 meses).

Os resultados individuais de Pb no sangue das crianças dos sexos feminino e masculino das cidades de Salvador (grupo **Controle**) e Santo Amaro (grupo **Exposto**) são apresentados nas **Tabelas C9 a C12** do item Tabelas de Resultados, em Anexos.

A partir de 1991 o CDC recomendou o limite de 10  $\mu\text{g}/\text{dL}$  de chumbo no sangue em crianças, valor a partir do qual podem ser observados efeitos danosos, apesar dos sintomas pouco característicos. Desta forma, a dosagem dos níveis da proteína zincoprotoporfirina (ZPP), um método até então considerado como eficiente na identificação da intoxicação pelo Pb, não foi utilizado como referência neste trabalho por ser considerado pouco sensível na detecção de níveis inferiores a 25  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . Desta forma, a medida dos níveis de Pb no sangue passou a ser utilizada como indicadora da intoxicação causada pelo chumbo. Apesar da dosagem da ZPP ter sido efetuada nas amostras de sangue das crianças do grupo **Controle**, esta não foi utilizada como indicadora de intoxicação neste trabalho. Ainda assim, foram

calculados os coeficientes de correlação entre os níveis de Pb e ZPP (uma vez que os valores deste parâmetro estavam disponíveis) no sangue de crianças dos sexos feminino ( $R = - 0,14$ ;  $P = 0,3$ ) e masculino ( $R = 0,12$ ;  $P = 0,33$ ), demonstrando que estes dois parâmetros não se correlacionaram significativamente. Foram também calculados os coeficientes de correlação entre os níveis de Pb e HT (hematócrito) para as mesmas populações ( $R = - 0,06$ ;  $P = 0,64$  e  $R = - 0,06$ ;  $P = 0,63$ , respectivamente) e também não foram encontradas correlações significativas. O nível de HT é um indicador de anemia ( 32 % para crianças menores de 6 anos de idade e 35 % para crianças com 6 anos de idade).

Na **Tabela 28** estão relacionados os dados de média aritmética, média geométrica, mediana e limites inferior e superior dos níveis de Pb no sangue das crianças estudadas nos dois grupos.

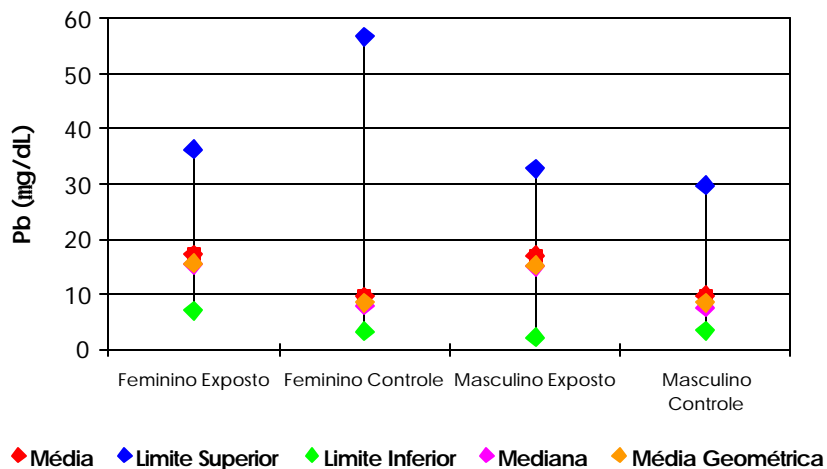
**Tabela 28:** Dados de média aritmética, média geométrica, mediana e limites inferior e superior dos níveis de Pb ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue de crianças dos grupos **Controle** e **Exposto**.

|                              | Crianças do sexo feminino |             | Crianças do sexo masculino |             | Crianças de ambos os sexos |             |
|------------------------------|---------------------------|-------------|----------------------------|-------------|----------------------------|-------------|
|                              | Controle                  | Exposto     | Controle                   | Exposto     | Controle                   | Exposto     |
| <b>N</b>                     | 60                        | 19          | 70                         | 29          | 130                        | 48          |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | 3,32                      | 7,04        | 3,33                       | 2,02        | 3,32                       | 2,02        |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | 56,8                      | 36,2        | 29,7                       | 32,8        | 56,8                       | 36,2        |
| <b>Média Aritmética:</b>     | 9,60 ± 5,4                | 17,2 ± 8,1  | 9,74 ± 6,0                 | 17,0 ± 6,8  | 9,70 ± 5,70                | 17,1 ± 7,2  |
| <b>Média Geométrica:</b>     | 8,55 ± 1,61               | 15,6 ± 1,59 | 8,51 ± 1,63                | 15,3 ± 1,69 | 8,52 ± 1,62                | 15,4 ± 1,64 |
| <b>Mediana:</b>              | 7,90                      | 15,4        | 7,55                       | 15,0        | 7,84                       | 15,3        |
| <b>*90 %:</b>                | 15,0                      | 27,5        | 19,0                       | 25,4        | 15,4                       | 27,1        |

OBS: Valores entre parênteses correspondem aos desvios padrão.

\* Valor abaixo do qual encontram-se 90 % das amostras analisadas.

Na **Figura 25** são mostrados os valores de média aritmética, média geométrica, mediana, limites superior e inferior dos níveis de Pb em sangue de crianças de ambos os sexos pertencentes aos grupos **Controle** e **Exposto**, a partir dos dados da **Tabela 28**. Observa-se que as crianças do sexo feminino apresentam valores levemente mais elevados de limite superior (LS), média geométrica e mediana do que as do sexo masculino nos dois grupos, apesar do valor anormalmente alto (limite superior) numa criança do sexo feminino do grupo **Controle**.



**Figura 25:** Média aritmética, média geométrica, mediana, LI e LS de Pb em amostras de sangue de crianças dos sexos feminino e masculino (grupos **Controle** e **Exposto**).

Observa-se também que os valores de média e mediana de Pb no sangue nas crianças dos sexos feminino e masculino do grupo **Exposto** são mais elevados do que os correspondentes do grupo **Controle**, como era esperado.

#### 4.1.2.2. Comparação dos Resultados de Pb no Sangue com Dados da Literatura

Na Tabela 29 são mostrados alguns dados da literatura de chumbo em sangue de crianças em várias partes do mundo.

Tabela 29: Dados da literatura de Pb (mg/dL) em sangue de crianças.

| Localidade, época  | Exposição                                     | Faixa etária, anos   | N total    | Média de PbS em crianças do sexo feminino (N e/ou faixa) | Média de PbS em crianças do sexo masculino (N e/ou faixa) | Média de PbS em crianças dos sexos masculino e feminino (N e/ou faixa) |
|--|---|----------------------|------------|--|---|--|
| Hettstedt <sup>(a)</sup><br>(Alemanha),<br>1992-1993             | Exposto (Hettstedt)                           | 5-7<br>8-10<br>11-14 | 527        | *3,38 (N = 272)<br>(média das<br>3 faixas etárias)       | *4,30 (N = 255)<br>(média das<br>3 faixas etárias)        | *4,20 (N = 181)<br>*3,78 (N = 175)<br>*3,43 (N = 171)                  |
|  | Controle (Zerbst)                             | -                    | -          | -  | -   | 3,25 (N = 264)   |
| Pribam <sup>(b)</sup><br>(República Tcheca), 1994                | Exposto<br>Área poluída 1<br>Área poluída 2   | 12-15                | 144        | *9,44 (N = 44)<br>*12,9 (N = 37)                         | *10,9 (N = 47)<br>*14,9 (N = 16)                          | -<br>-   |
|  | Controle<br>Distrito rural (40Km SO de Praga) | -                    | 51         | *8,39 (N = 25)   | *8,7 (N = 26)   | -  |
| Zukowice e Grodziec <sup>(c)</sup><br>(Polônia)                  | Exposto                                       | -                    | -          | -  | -   | 10 – 17  |
|  | Controle                                      | -                    | -          | -  | -   | ≤ 7 g/dL   |
| Bombay <sup>(d)</sup><br>(Índia)                                 | Exposto                                       | -                    | > 300      | -  | -   | 11,3   |
| Missouri <sup>(e)</sup> (EUA)                                    | Exposto                                       | 0,5 - 6              | 243        | -  | -   | > 10 (#N = 34)   |
| Callao <sup>(f)</sup> (Peru)                                     | Exposto                                       | 5                    | 296        | -  | -   | 10,5 (Mediana: 8,0)  |
| Granite City <sup>(g)</sup><br>(EUA), 1991                       | Exposto                                       | 0,5 - 6              | 490        | -  | -   | 6,9 (0,7 – 40,2)<br>≥ 10 (16 %)  |
| Broken Hill <sup>(h)</sup><br>(Austrália),<br>1991-1992          | Exposto                                       | 1 – 4                | 899        | -  | -   | > 25 (N = 180)<br>> 10 (N = 764)                                       |
| Falun <sup>(i)</sup><br>(Suécia), 1991                           | Exposto                                       | 0,7 – 7,4            | 49         | 3,4 (1,6 – 6,1)<br>(N = 15)                              | 3,1 (1,3 – 6,9)<br>(N = 31)                               | 3,7 (N = 20, ≤ 4 anos)<br>2,8 (N = 26, > 4 anos)                       |
| Port Pirie <sup>(j)</sup><br>(Austrália),<br>1979-1981           | Exposto                                       | 2<br>5               | 585<br>513 | 20,8*<br>14,3*   | 21,4*<br>14,6*  | 25,1***<br>18,6***   |
|  | Controle                                      | 2<br>5               | -<br>-     | -<br>-   | -<br>-  | 17,4<br>11,5   |
| Santo Amaro 1980 <sup>(k)</sup><br>(Brasil)                      | Exposto                                       | 1 - 9                | 592        | -  | -   | ** 58,8 (16,0 – 151)   |
| Santo Amaro 1985 <sup>(l)</sup><br>(Brasil)                      | Exposto                                       | 1 - 9                | 250        | -  | -   | ** 36,7 (2,9 – 149)  |
| Santo Amaro (1998) <sup>(m)</sup><br>(este trabalho)<br>(Brasil) | Exposto                                       | 1 - 5                | 48         | 17,2 [*15,6] (N = 19)                                    | 17,0 [*15,3] (N = 29)                                     | 17,1 [*15,4] (N = 48)  |
|  | Controle                                      | 4 - 6                | 129        | 10,9 [*9,18] (N = 59)                                    | 9,7 [*8,51] (N = 70)                                      | 10,3 [*8,81] (N = 129)   |

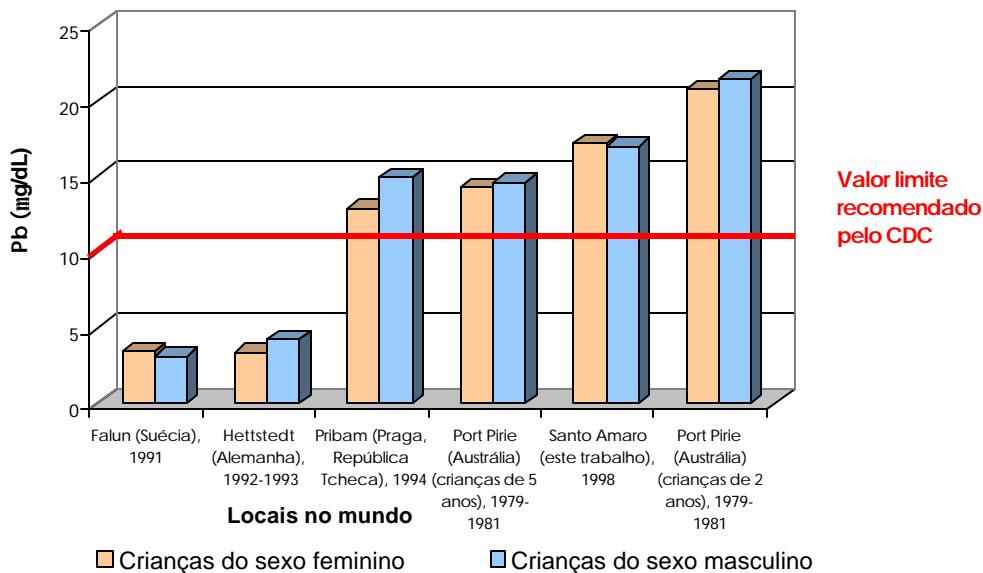
OBS: \* Médias geométricas # Dados convertidos do original de µg/L para µg/dL (dividido por 10)

\*\*Dados convertidos do original de µmol/L para µg/dL (multiplicado por 20,72) \*\*\* Valores máximos encontrados



- (a) Cidade da antiga Alemanha Oriental com uma história de mineração e fundição de minérios não-ferrosos. (Trepka et al, 1997)
- (b) Cidade situada à 90Km ao leste de Praga (República Tcheca), onde as crianças foram recrutadas de duas escolas vizinhas a uma fundição de chumbo:  
 Área 1: Escola localizada em Brezové Hory, à 3,3Km (SE) da fundição  
 Área 2: Escola localizada em Obecnice, à 3Km (NO) da fundição. (Bernard et al, 1995)
- (c) Duas cidades da Polônia com indústrias relacionadas ao chumbo. Estudo realizado na Índia em 1991. Ao contrário da maioria dos países que reduziram a quantidade de chumbo adicionado à gasolina, na Índia, o nível de Pb na gasolina permanecia alto (acima de 0,56 g/L). Até 1995 não haveria gasolina disponível sem adição de chumbo.
- (d) Uma das maiores áreas de mineração de chumbo/zinco do mundo, na região ao sudoeste de Missouri, nos Estados Unidos. (Murgueytio e Evans, 1996).  
 \*\*Das 243 crianças estudadas, 14% apresentaram níveis de Pb no sangue superiores a 10 µg/dL.
- (e) Província Constitucional de Callao, Peru. (HernandezAvila, M. et al., 1999)
- (f) Illinois, USA. (Kimbrough, R. et al., 1995)
- (g) Localizada à 930Km de Sydney, Austrália. (Gulson, B.L. et al., 1994)
- (h) Cidade do interior da Suécia. (Bjerre, B. et al., 1993)
- (i) Cidade do sul da Austrália, à 200Km NO de Adelaide. (Baghurst, P.A et al., 1992, Fett, M.J. et al. 1992:).
- (j) Tavares, T.M., 1992, Tavares, T.M., 1990
- (k) Tavares, T.M., 1990.
- (l) Este trabalho

Na **Figura 26** são comparados os resultados de Pb no sangue de crianças dos sexos feminino e masculino de Santo Amaro (grupo **Exposto**) com os dados obtidos de crianças de ambos os sexos, também expostas ao chumbo, em outras quatro localidades no mundo.



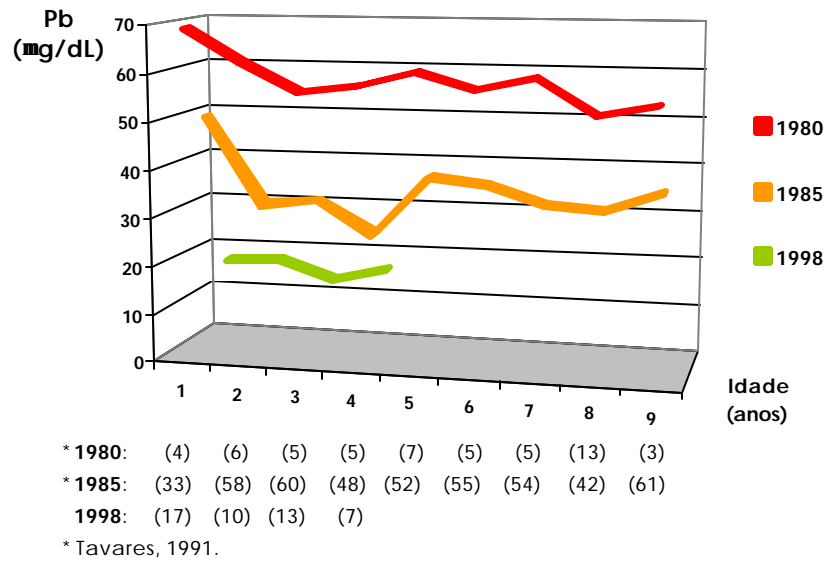
**Figura 26:** Comparação entre níveis de Pb em sangue de crianças dos sexos feminino e masculino em Santo Amaro (média aritmética) e em outras quatro localidades no mundo.

De acordo com a **Figura 26**, em apenas duas cidades (Falun e Hettstedt) os níveis de Pb encontrados no sangue das crianças do grupo **Exposto** encontram-se abaixo do valor limite recomendado pelo CDC.

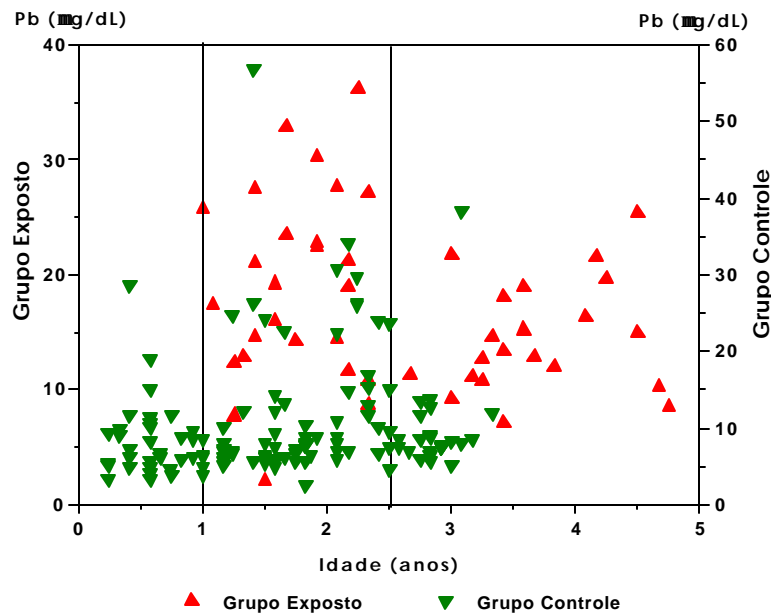
Em vários estudos os valores encontrados são mais elevados para as crianças do sexo masculino. Vários autores justificam este comportamento como decorrente do fato de os meninos normalmente brincarem mais na rua e mais distante de casa do que as meninas. Este comportamento foi também observado nos estudos feitos em Santo Amaro em 1980 e 1985. Diferentemente das outras três localidades, os valores médios de Pb no sangue das crianças do sexo feminino em Falun (Suécia) e em Santo Amaro foram praticamente iguais ao masculino. No caso específico de Santo Amaro, provavelmente as escavações das margens da principal avenida e das ruas feitas pelo programa de saneamento do Bahia Azul, revolvendo a escória utilizada no passado e expondo este material por vários meses na frente das casas, pode ter sido determinante para que esta diferença não fosse observada.

Os valores de média aritmética e média geométrica encontrados no sangue das crianças de Santo Amaro (meninas: 17,2 e 15,6; meninos: 17,0 e 15,3  $\mu\text{g}/\text{dL}$ , respectivamente) encontram-se entre os mais elevados listados na **Tabela 29**, sendo apenas inferiores a aqueles encontrados por Baghurst et al. (1992). Neste estudo efetuado em Port Pirie, uma cidade do sul da Austrália, localizada a jusante de uma antiga fundição de chumbo, foram determinados os níveis de Pb no sangue de crianças de 6 meses até 5 anos de idade. As médias geométricas dos valores encontrados para as crianças de 2 anos de idade dos sexos feminino (20,8  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) e masculino (21,4  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) foram as mais elevadas dentre toda a faixa etária estudada. Crianças nesta idade geralmente estão na fase oral, onde exploraram o ambiente e levam tudo o que encontram à boca. Comportamento semelhante ao observado por Baghurst et al. (1992) foi também encontrado neste estudo e por Tavares (1990) nos estudos de 1980 e 1985 em Santo Amaro, como pode ser visto através dos gráficos das **Figuras 27 e 28**, onde estão relacionadas,

respectivamente, as médias geométricas e os valores individuais de chumbo no sangue com as idades das crianças. Na **Figura 27** valores entre parênteses indicam o número de indivíduos estudados.

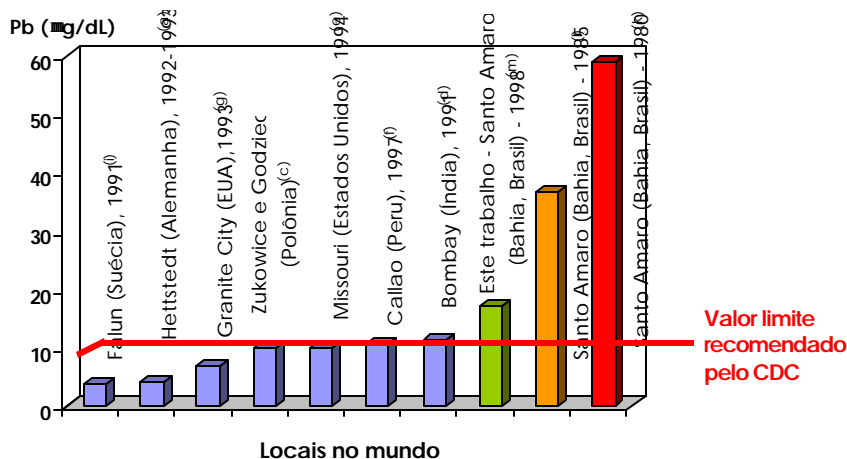


**Figura 27:** Médias geométricas de Pb no sangue de crianças e idade nos estudos de 1980, 1985 e 1998 em Santo Amaro da Purificação, Bahia.



**Figura 28:** Valores individuais de Pb ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue e idade de crianças de ambos os sexos nos grupos **Controle** e **Exposto**.

No gráfico da **Figura 29** são mostrados os dados da **Tabela 29** referentes apenas àquelas localidades onde foram determinados os níveis de Pb no sangue de crianças expostas, sem distinção do sexo.



**Figura 29:** Comparação entre os níveis de Pb em sangue de crianças (ambos os sexos) de Santo Amaro e de vários locais no mundo.

Observase, de acordo com a **Figura 29**, que os níveis de chumbo no sangue das crianças estudadas em Santo Amaro ainda continuam muito elevados em relação a outros locais no mundo. Os resultados decorrentes da variação temporal dos níveis de chumbo no sangue das crianças de ambos os sexos em Santo Amaro, através dos estudos realizados em 1980 e 1985 (Carvalho et al., 1987) e através deste trabalho podem ser vistos na **Tabela 30**.

**Tabela 30:** Variação temporal dos níveis de Pb no sangue de crianças (ambos os sexos) de Santo Amaro de 1980 a 1998.

| Período | $\bar{x} \pm s$ (mg/dL) | [N]   | % Variação de 1980 a 1998 |                   |
|---------|-------------------------|-------|---------------------------|-------------------|
| 1980*   | 58,8 ± 24,9             | [555] | 1980 a 1985               | Redução de 37,7 % |
| 1985*   | 36,7 ± 20,7             | [53]  | 1985 a 1998               | Redução de 53,7 % |
| 1998**  | 17,1 ± 7,2              | [48]  | 1980 a 1998               | Redução de 70,9 % |

\* Carvalho et al., 1987

\*\* Este trabalho

Do total das 250 crianças estudadas em 1985, apenas 89 participaram do estudo anterior realizado em 1980 e, destas, apenas 53 tiveram o sangue coletado e analisado para ZPP, hematócrito (HT), Pb e Cd (Tavares, 1991).

Observou-se uma redução significativa (37,7 %) dos níveis de Pb no sangue destas crianças de 1980 a 1985, redução esta associada às medidas preventivas e reparadoras realizadas por parte da indústria<sup>24</sup>, a partir dos dados obtidos em 1980. Embora as crianças estudadas nesse trabalho (1998) não tenham sido as mesmas dos estudos de 1980 e 1985, observa-se uma importante redução dos níveis encontrados em relação aos estudos anteriores (53,7 %, de 1985 a 1998 e 70,9 %, de 1980 a 1998), observando-se a faixa etária e as condições sócio-econômicas semelhantes. Apesar da redução nos níveis de Pb, estes ainda encontram-se elevados em relação àquele recomendado pelo CDC.

Na **Tabela 31** é mostrada a distribuição de frequência das médias dos níveis de chumbo em amostras de sangue de crianças (ambos os sexos) do grupo **Exposto** em 1980, 1985 e em 1998, relacionando-as com as classes estabelecidas pelo CDC, de acordo com as faixas de concentração de Pb no sangue.

<sup>24</sup> Através do decreto n.º 27605 pelo Governo Estadual da Bahia, de 09/10/80, a COBRAC foi obrigada a implantar, entre outras, as seguintes medidas:

- 1) Remover a população (residente num raio de 500 m) para outras localidades;
- 2) Encarregar-se do tratamento das crianças afetadas;
- 3) Construir uma chaminé de 90 m de altura;
- 4) Instalar um sistema eficiente de filtração em todas as fontes de material particulado;
- 5) Suspender a doação da escória e de filtros de chaminé usados;
- 6) Fornecer uniforme para os funcionários da metalurgia, para uso apenas no trabalho. (Tavares, 1990)

**Tabela 31:** Distribuição de frequência dos níveis de Pb (média aritmética) em amostras de sangue de crianças de ambos os sexos de Santo Amaro da Purificação, Bahia (grupo **Exposto**) em 1980, 1985 e 1998 em relação às classes de crianças estabelecidas pelo CDC .

| Classe de crianças do CDC e faixas de Pb no sangue (mg/dL) | Dados de 1980 <sup>#</sup> |              | Dados de 1985 <sup>#</sup> |              | Este trabalho (1998) |              |
|--|----------------------------|--------------|----------------------------|--------------|----------------------|--------------|
|  | N                          | %            | N                          | %            | N                    | %            |
| Classe I: ( ≤ 9 )  | -                          | -            | -                          | -            | 6                    | 12,5         |
| Classe IIA: ( 10-14 )                                      | -                          | -            | -                          | -            | 16                   | 33,3         |
| Classe IIB: ( 15 – 19 )                                    | 8                          | 1,4          | 7                          | 13,2         | 11                   | 22,9         |
| Classe III: ( 20 – 44 )                                    | 133                        | 24,0         | 32                         | 60,4         | 15                   | 31,3         |
| Classe IV: ( 45 – 69 )                                     | 325*                       | 58,6         | 13                         | 24,5         | -                    | -            |
| Classe V: ( ≥ 70 )   | 89**                       | 16,0         | 1**                        | 1,9          | -                    | -            |
| <b>Total</b>   | <b>555</b>                 | <b>100,0</b> | <b>53</b>                  | <b>100,0</b> | <b>48</b>            | <b>100,0</b> |

<sup>#</sup> Tavares, T.M. , 1990.

\* Faixa de valores de Pb (µg/dL): 41,44 – 82,7 (valores calculados a partir dos dados originais)

\*\* Faixa de valores de Pb (µg/dL): 82,88 – 155,4 (valores calculados a partir dos dados originais)

**Classes de crianças (de acordo com faixas de valores de Pb no sangue) e recomendações do CDC:**

**Classe I:** Criança desta classe não é considerada intoxicada pelo Pb.

**Classe IIA:** Muitas crianças com níveis de Pb nesta faixa ⇒ Iniciar atividades de prevenção à intoxicação causada pelo chumbo na comunidade. Crianças nesta faixa podem necessitar de avaliações frequentes.

**Classe IIB:** Recomendada orientação nutricional<sup>2525</sup> e preventiva. A criança deve ser reexaminada frequentemente. Se o nível de chumbo no sangue persistir nesta faixa, o ambiente deve ser investigado e deve ser iniciada a intervenção do mesmo.

**Classe III:** Uma avaliação médica é indicada e a criança pode necessitar de tratamento farmacológico para a intoxicação causada pelo chumbo. O ambiente deve ser avaliado e as fontes de intoxicação devem ser eliminadas.

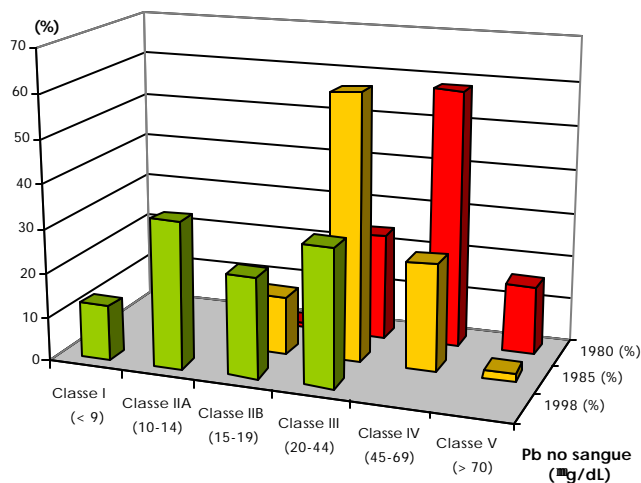
**Classe IV:** Necessidade de intervenção médica, incluindo quelação. O ambiente deverá ser interditado.

**Classe V:** Criança com estes níveis constitui uma emergência médica. Gerenciamento médico e ambiental devem ser iniciados imediatamente.

Na **Figura 30** são mostrados os dados de distribuição de frequência dos níveis de chumbo no sangue nos três estudos em Santo Amaro da **Tabela 31**, de acordo com as classes de crianças estabelecidas pelo CDC.

<sup>25</sup> Segundo o CDC, as orientações nutricionais e preventivas recomendadas são:

- Assegurar que a criança faça todas as refeições regularmente, uma vez que mais chumbo é absorvido num estômago vazio;
- Assegurar que a dieta da criança seja rica em ferro e cálcio.
- **Desenvolvimento de infra-estrutura:** Fornecer os recursos necessários para um bem sucedido programa de redução de riscos.



**Figura 30:** Distribuição de frequência dos níveis de Pb em amostras de sangue de crianças de ambos os sexos de Santo Amaro (1980, 1985 e 1998) de acordo com as classes de crianças estabelecidas pelo CDC.

Observa-se, através da **Figura 30**, que nos estudos de 1980 e 1985 todas as crianças apresentavam níveis de Pb no sangue iguais ou superiores a 15 µg/dL. No estudo de 1980 ficou evidente o alto grau de intoxicação das crianças e a necessidade da adoção das medidas preventivas e/ou reparadoras por parte da indústria, considerando-se a classificação do CDC na época, que utilizava a dosagem dos níveis de ZPP no sangue como método de identificação da intoxicação causada pelo Pb, e estabelecia 4 classes de risco. O reflexo da adoção de tais medidas pode ser visto nos dados de 1985. De 1985 a 1998, considerando-se a atual classificação do CDC, ocorreu um aumento de 12,5 % de crianças consideradas não intoxicadas pelo Pb (classe I) e de 33,3 % de crianças com níveis de Pb no sangue entre 20 e 44 µg/dL, indicando a necessidade de se iniciar atividades de prevenção<sup>26</sup> à intoxicação (classe III). Apesar dos valores em contradição em

<sup>26</sup> Segundo o CDC, a prevenção à intoxicação pelo Pb deve envolver as seguintes atividades:

- **Proteção e fiscalização:** Delimitar e situar as populações de risco e as exposições mais severas.
- **Determinação do risco e planejamento de prevenção integrados:** Análise de todos os dados disponíveis para determinar as fontes do Pb, os padrões de exposição, as populações de risco e desenvolvimento de planos de prevenção primários.
- **Alcance e educação:** Promover informação quanto aos cuidados com a saúde e com a prevenção à intoxicação pelo chumbo envolvendo os pais, os dono de propriedades e outros membros da comunidade.

1998 evidenciarem a redução dos níveis ainda decorrentes das medidas adotadas em 1985, onde não mais aparecem crianças com níveis de Pb no sangue iguais ou superiores a 45 µg/dL (classes IV e V do CDC), estes estão ainda elevados em relação a outras partes do mundo; além disso, mais de 87 % das crianças analisadas apresentaram níveis de Pb no sangue superiores ao limite recomendado pelo CDC.

#### 4.1.3. Cádmio em Sangue de Crianças

##### 4.1.3.1. Crianças Pertencentes aos Grupos Controle (Crianças de Salvador) e Exposto (Crianças de Santo Amaro)

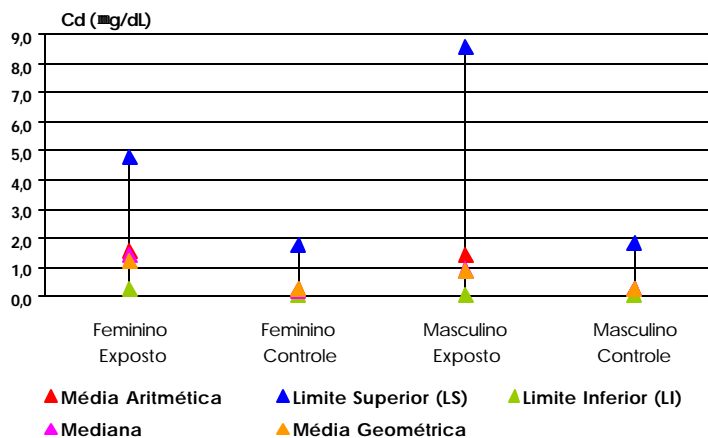
Nas Tabelas C13 a C16 (item Tabelas de Resultados, em Anexos) são mostrados os resultados de Cd encontrados no sangue de crianças dos sexos feminino e masculino dos dois grupos. Os dados de média aritmética, média geométrica, mediana e limites inferior e superior dos níveis de Cd encontrados nas amostras de sangue das crianças de ambos os sexos nos dois grupos estão relacionados na Tabela 32.

**Tabela 32:** Média aritmética, média geométrica, mediana e limites inferior e superior dos níveis de Cd (mg/dL) em sangue de crianças de ambos os sexos nos grupos Controle e Exposto.

|                       | Crianças do sexo feminino |             | Crianças do sexo masculino |              | Crianças de ambos os sexos |             |
|-----------------------|---------------------------|-------------|----------------------------|--------------|----------------------------|-------------|
|                       | Controle                  | Exposto     | Controle                   | Exposto      | Controle                   | Exposto     |
| N                     | 59                        | 19          | 70                         | 29           | 129                        | 48          |
| Limite Inferior (LI): | 0,0904                    | 0,243       | 0,0799                     | 0,088        | 0,0799                     | 0,088       |
| Limite Superior (LS): | 1,78                      | 4,82        | 1,87                       | 8,60         | 1,87                       | 8,60        |
| Média Aritmética:     | 0,267 ± 0,280             | 1,60 ± 1,11 | 0,250 ± 0,215              | 1,43 ± 1,79  | 0,258 ± 0,246              | 1,50 ± 1,54 |
| Média Geométrica:     | 0,224 ± 1,60              | 1,22 ± 2,32 | 0,219 ± 1,56               | 0,880 ± 2,71 | 0,221 ± 1,58               | 1,00 ± 2,57 |
| Mediana:              | 0,208                     | 1,47        | 0,226                      | 0,913        | 0,217                      | 1,06        |
| 90%:                  | 0,307                     | 2,39        | 0,310                      | 2,27         | 0,310                      | 2,39        |

Na Figura 31 são mostrados os valores de média aritmética, média geométrica, mediana e limites inferior e superior de Cd nas amostras de sangue das crianças de ambos os sexos dos dois grupos, a partir dos dados da Tabela 32.





**Figura 31:** Média aritmética, média geométrica, mediana, LI e LS de Cd (mg/dL) em amostras de sangue de crianças dos sexos feminino e masculino (grupos Controle e Exposto).

Através do gráfico da **Figura 31** observase que os mais altos valores de média e limite superior são encontrados para as amostras de sangue das crianças do grupo **Exposto**, como esperado. Fica evidente também uma leve tendência, neste grupo, de valores mais elevados para as crianças do sexo feminino. Observa-se que os valores encontrados nas crianças do grupo **Controle** são bastante semelhantes, independente do sexo das mesmas.

Segundo Hutzinger (1980), a concentração normal de Cd no sangue é, em média, inferior a 1 µg/dL. Entre as amostras de sangue analisadas no grupo **Controle**, apenas duas (3,4 %) das crianças do sexo feminino e uma (1,4 %) do sexo masculino apresentaram níveis de Cd no sangue superiores a 1 µg/dL. No grupo **Exposto**, 68,4 % (N = 13) das crianças do sexo feminino apresentaram níveis de Cd no sangue acima do valor considerado normal, contra 34,5 % (N = 10) das crianças do sexo masculino. Considerando-se toda a população (ambos os sexos), 54,2 % das crianças do grupo **Exposto** apresentaram níveis de Cd acima de 1 µg/dL contra apenas 2,3 % das crianças do grupo **Controle**.

Na tentativa de se verificar a existência de uma correlação entre os níveis de Pb e Cd nas amostras de sangue de crianças, foram calculados os coeficientes de correlação entre estes. Estes dados podem ser vistos na **Tabela 33**.

**Tabela 33:** Correlações (R) encontradas entre os níveis de chumbo (PbB) e cádmio (CdB) no sangue das crianças pertencentes aos grupo **Controle** e **Exposto**.

| Grupo    | Correlação PbB/CdB |        |                |        |           |         |
|----------|--------------------|--------|----------------|--------|-----------|---------|
|          | Sexo feminino      |        | Sexo masculino |        | Ambos     |         |
|          | R                  | P      | R              | P      | R         | P       |
| Controle | 0,0057             | 0,9656 | - 0,0593       | 0,6231 | - 0,01288 | 0,8844  |
| Exposto  | 0,137              | 0,5756 | 0,291          | 0,1260 | 0,231     | 0,11823 |

(P = Probabilidade)

Os resultados encontrados (R = 0,0057, P = 0,9656, crianças do sexo feminino) e (R = - 0,0593, P = 0,6231, crianças do sexo masculino) do grupo **Controle**, e (R = 0,137, P = 0,5756, crianças do sexo feminino) e (R = 0,291, P = 0,1260, crianças do sexo masculino) do grupo **Exposto**, demonstram não haver uma correlação linear estatisticamente significativa entre a exposição/absorção destes dois metais nas populações infantis estudadas .

#### 4.2. Chumbo e Cádmio em Amostras de Sangue de Bovino

O interesse em se determinar os níveis de Pb e Cd no sangue dos bois de Santo Amaro foi decorrente, não apenas da possível translocação do chumbo para a população, pois, apesar do número de cabeças de gado ser pequeno em relação ao consumo, a carne e o leite deste gado são consumidos pela população local, mas, principalmente pela oportunidade de se efetuar um estudo que poderia levar a uma informação muito controvertida na literatura, a carcinogenicidade do chumbo. Também as queixas dos pequenos criadores locais que argumentavam que seu gado vinha se apresentando doente e após utilizar as dependências da fundição para pastar e beber água (a água de chuva era acumulada nos antigos tanques de contenção encontrados na área de produção da antiga fundição), motivou este estudo.

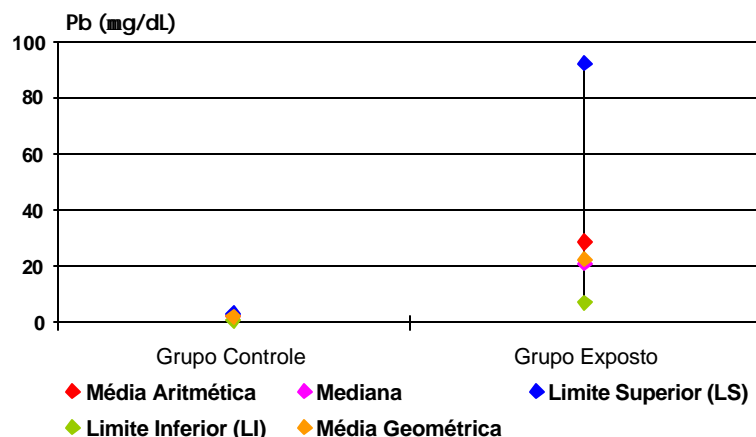
#### 4.2.1. Chumbo e Cádmio em Amostras de Sangue Bovino pertencente aos Grupos Controle (Frigorífico Frimasa, Salvador) e Exposto (Santo Amaro)

Nesta etapa do trabalho, foram analisadas 17 amostras de sangue pertencentes ao grupo **Controle**, colhidas de animais abatidos no frigorífico Frimasa, em Salvador e 29 pertencentes ao grupo **Exposto**, ou seja, dos animais que pastavam na região de Santo Amaro. Os resultados individuais de Pb e Cd encontrados estão listados nas Tabelas **C17** e **C18**, respectivamente (item Tabelas de Resultados, em Anexos). Na **Tabela 34** estão relacionados os dados de média aritmética, média geométrica, mediana, limites inferior e superior dos níveis de Pb e Cd encontrados nas amostras de sangue bovino nos dois grupos.

**Tabela 34:** Média aritmética, média geométrica, mediana, limites inferior e superior dos níveis de Pb e Cd nas amostras de sangue bovino dos grupos **Controle** e **Exposto**.

|                              | Pb (mg/dL)  |             | Cd (mg/dL)    |               |
|------------------------------|-------------|-------------|---------------|---------------|
|                              | Controle    | Exposto     | Controle      | Exposto       |
| <b>N</b>                     | 17          | 29          | 17            | 29            |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | 0,75        | 6,8         | 0,119         | 0,081         |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | 3,44        | 92,2        | 0,218         | 0,36          |
| <b>Média aritmética:</b>     | 1,73 ± 0,68 | 28,4 ± 22,0 | 0,160 ± 0,026 | 0,131 ± 0,054 |
| <b>Média geométrica:</b>     | 1,61 ± 1,48 | 22,0 ± 2,05 | 0,159 ± 1,17  | 0,124 ± 1,38  |
| <b>Mediana:</b>              | 1,70        | 21,0        | 0,160         | 0,122         |
| <b>90%:</b>                  | 2,53        | 62,5        | 0,172         | 0,183         |

Em relação ao Pb, os mais altos valores de limite inferior e superior, média e mediana foram encontrados no grupo **Exposto**, como esperado. Na **Figura 32** estão ilustrados estes dados.



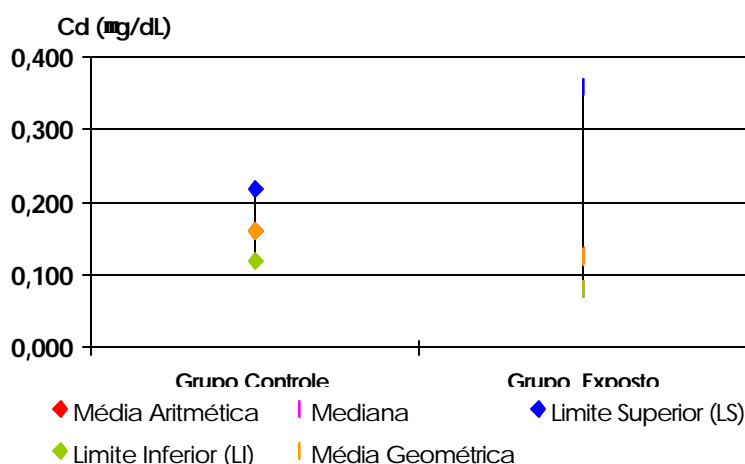
**Figura 32:** Média aritmética, média geométrica, mediana, LI e LS de Pb ( $\mu\text{g/dL}$ ) em amostras de sangue bovino dos grupos **Controle** e **Exposto**.

O valor de T calculado (4,977) maior que o  $t$  crítico (2,015), entre os níveis de Pb no sangue de bois dos dois grupos demonstra haver uma diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre estas duas populações.

São poucos os dados na literatura referentes aos níveis de Pb e/ou Cd em sangue de bovinos. López Alonso et al. (2000), num estudo preliminar na região da Galícia, na Espanha, reportam o valor médio de 12,2  $\mu\text{g/dL}$  (média geométrica) de Pb em sangue bovino. A média geométrica (22,0  $\mu\text{g/L}$ ) encontrada no sangue dos bois do grupo **Exposto** em Santo Amaro é superior em 55,5 % a este valor.

Piotrowsky & Coleman (1980) citam estudos que reportam a intoxicação de animais domésticos (vacas, ovelhas, cavalos e cabras) pelo chumbo em áreas próximas a fundições e que estabelecem em 2  $\mu\text{g/kg}$  (carga corpórea)/dia e 7  $\mu\text{g/kg}$  (carga corpórea)/dia como a dose crônica tóxica (letal) em cavalos e gado, respectivamente. Segundo estes estudos, estas doses correspondem a teores de Pb no solo do pasto de 80 e 300  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente.

Na **Figura 33** estão representados os dados da **Tabela 34** referentes aos níveis de Cd encontrados nos dois grupos.



**Figura 33:** Média aritmética, média geométrica, mediana, LI e LS de Cd em amostras de sangue bovino dos grupos **Controle** e **Exposto**.

Entre os níveis de Cd no sangue de bois dos grupos **Controle** e **Exposto**, o valor de T calculado (2,457) maior que o *t* crítico (2,016), demonstra haver uma diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre estas duas populações, apesar do comportamento diferente do esperado, onde os valores de média e mediana de Cd no grupo **Controle** terem sido superiores aos correspondentes no grupo **Exposto**.

Foram também calculados os coeficientes de correlação entre os níveis de Pb e Cd nas amostras de sangue dos bois **Controle** ( $R = 0,0466$ ,  $P = 0,8591$ ) e **Exposto** ( $R = -0,2148$ ,  $P = 0,2631$ ) demonstrando não haver uma correlação significativa entre estes dois parâmetros nas duas populações estudadas.

### 4.3. Testes Citogenéticos

#### 4.3.1. Amostras de Sangue Bovino

Os testes mutagênicos foram efetuados pela equipe coordenada pela Prof<sup>a</sup>. Dra. Neli de Almeida Melo do Departamento Ginecologia, Obstetrícia e Reprodução Humana, FAMED, UFBA. As etapas do procedimento de

preparação das amostras encontram-se no item Testes Mutagênicos em Anexos.

Alguns tipos de alterações cromossômicas, como as quebras ou falhas, que são lesões que ocorrem no material genético podem ocorrer sem nenhuma causa identificável, sendo caracterizadas normalmente como um defeito relacionado a um excesso ou deficiência dos genes existentes nos cromossomos inteiros ou em segmentos cromossômicos ou podem ocorrer em função da ação de algum agente mutagênico. Apesar do mecanismo ainda desconhecido, certas alterações cromossômicas, como as que ocorrem no DNA da célula (do tipo quebra da fita dupla ou DSB), são relacionadas a uma fração significativa de alterações produzidas por compostos metálicos no material genético (Braga, 1995).

Neste estudo foram determinados os níveis de Pb e Cd em todas as amostras de sangue bovino (29 amostras do grupo **Exposto** e 17 do grupo **Controle**), mas em apenas 18 amostras grupo **Exposto** e 10 do grupo **Controle** foi possível a execução dos testes citogenéticos, devido a problemas de conservação e/ou volume das amostras. Na **Tabela 35** é mostrada a distribuição de frequência das alterações cromossômicas (metáfases alteradas) encontradas nas amostras de sangue dos animais dos grupos **Exposto** e **Controle**, a partir dos dados da **Tabela C19** (item Tabelas de Resultados, Anexos).

**Tabela 35:** Distribuição de frequência das metáfases analisadas em amostras de sangue bovino (*Bos indicus*) pertencentes aos grupos **Controle** e **Exposto**.

|  | Grupo Exposto | Grupo Controle |
|--|---------------|----------------|
| Total de células analisadas (metáfases)  | 1278          | 470            |
| Total de células sem alterações cromossômicas (metáfases normais)  | 1036          | 459            |
| Total de células com alterações cromossômicas (metáfases alteradas: quebras + pulverizações + outras aberrações) | 242           | 11             |
| Percentual de normalidade  | 81,1 %        | 97,7 %         |
| <b>Percentual de alterações</b>  | <b>18,9 %</b> | <b>2,3 %</b>   |

- Alterações como cromossomo X anormal, separação precoce de centrômero, Figuras quirradas e falhas. (Adaptado do original de Braga, 1995).

De acordo com a **Tabela 35** observa-se uma diferença significativa entre os percentuais das alterações cromossômicas encontrados nos dois grupos. Das 18 amostras analisadas do grupo **Exposto**, 100 % apresentaram algum tipo de alteração cromossômica. Foram analisadas 1278 células deste grupo e em 242 delas (18,9 %) foram observadas alterações cromossômicas (quebras, pulverizações e outras aberrações). No grupo **Controle** foram analisadas 10 amostras, onde 70 % delas apresentaram algum tipo de alteração. Apenas 11 (2,3 %) das 470 células analisadas neste grupo apresentaram alterações. Este percentual encontra-se dentro da faixa de frequência de alterações cromossômicas esperada para populações humanas normais, que varia de 1 a 4 % (Braga, 1995).

#### 4.3.2. Amostras de Sangue e Urina de Mulheres Adultas

Nas Tabelas **C20 e C21** do item Tabelas de Resultados (Anexos) encontram-se listados os resultados individuais de PbB e CdB no sangue das mulheres estudadas. Na **Tabela 36** são mostrados os valores de média aritmética, média geométrica, mediana limites inferior e superior de Pb e Cd no sangue encontrados nos dois grupos.

**Tabela 36:** Média aritmética, média geométrica, mediana, e limites inferior (LI) e superior (LS) dos níveis de Pb e Cd no sangue (PbB e CdB) de mulheres de Jequié (grupo **Controle**) e de Santo Amaro (grupo **Exposto**).

|                              | Pb (µg/dL)  |            | Cd (µg/dL)      |                 |
|------------------------------|-------------|------------|-----------------|-----------------|
|                              | Controle    | Exposto    | Controle        | Exposto         |
| <b>N</b>                     | 30          | 30         | 30              | 30              |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | 3,50        | 3,30       | 0,0102          | 0,0293          |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | 46,4        | 32,6       | 0,1850          | 0,1164          |
| <b>Média aritmética:</b>     | 16,6 ± 11,6 | 13,2 ± 7,6 | 0,0523 ± 0,0335 | 0,0471 ± 0,0187 |
| <b>Média geométrica:</b>     | 13,2 ± 2,01 | 10,9 ± 1,9 | 0,0448 ± 1,775  | 0,0446 ± 1,365  |
| <b>Mediana:</b>              | 12,2        | 12,2       | 0,0487          | 0,0427          |
| <b>90%</b>                   | 33,0        | 23,8       | 0,0806          | 0,0687          |

Os dados da **Tabela 32** mostram, ao contrário do esperado, valores mais elevados de média aritmética, média geométrica e limite superior de PbS nas amostras das mulheres do grupo **Controle**. Os valores da mediana foram iguais



nos dois grupos. Os níveis de PbB e CdB foram mais baixos nas amostras de sangue das mulheres do grupo **Exposto** (Santo Amaro) que no **Controle** (Jequié).

Neste estudo foram também determinados os níveis de Cd em amostras de urina. A medida dos níveis de Cd na urina reflete, principalmente, a carga corpórea deste elemento, sendo largamente usada como um indicador da exposição humana ocupacional ao Cd. Os resultados individuais estão listados nas Tabelas **C22** e **C23** (item Tabelas de Resultados, Anexos). Os valores de média aritmética, média geométrica, mediana limites inferior e superior de Cd encontrados na urina nos dois grupos estão listados na **Tabela 37**.

**Tabela 37:** Média aritmética, média geométrica, mediana, e limites inferior (LI) e superior (LS) dos níveis de Cd em urina (CdU) de mulheres de Jequié (grupo **Controle**) e de Santo Amaro (grupo **Exposto**).

|                              | CdU (µg/L)    |               |
|------------------------------|---------------|---------------|
|                              | Controle      | Exposto       |
| <b>N</b>                     | 30            | 30            |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | 0,105         | 0,0755        |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | 0,815         | 3,374         |
| <b>Média aritmética:</b>     | 0,355 ± 0,194 | 0,565 ± 0,632 |
| <b>Média geométrica:</b>     | 0,310 ± 1,69  | 0,362 ± 2,61  |
| <b>Mediana:</b>              | 0,265         | 0,415         |
| <b>90%</b>                   | 0,679         | 1,021         |

Observa-se que os níveis de CdU nas mulheres do grupo **Exposto** são superiores àqueles encontrados no grupo **Controle** e o valor de T calculado (1,742) maior que o t crítico (1,672), demonstra haver uma diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre estas duas populações.

Os resultados dos testes mutagênicos efetuados encontram-se nas Tabelas **C24** a **C28** (item Tabelas de Resultados, Anexos). Observa-se um aumento na prevalência de alterações cromossômicas nas mulheres do grupo **Exposto** (6,5 %) em relação àquelas do grupo **Controle** (1,5 %), apesar do reduzido tamanho amostral. Verificou-se também que os percentuais das alterações não se relacionavam com a idade das mulheres nem com os hábitos de



fumar e beber, fatores que se mostraram semelhantes nos dois grupos. Não foi encontrada uma correlação estatisticamente significativa entre os dados de PbB e CdU com as alterações cromossômicas. Skerfving (1988) afirma que, considerando as variações individuais, os níveis de PbB tendem a diminuir após cessar a exposição. No caso específico das mulheres de Santo Amaro, a prevalência das alterações cromossômicas pode ter sido decorrente de exposição anterior ao Pb, considerando que os níveis atuais de Pb no sangue estão tendendo a normalizar, se comparados aos encontrados no grupo **Controle**.

#### 4.4. Chumbo e Cádmio em Amostras de Solo

##### 4.4.1. Chumbo em Amostras de Solo

Na **Tabela 38** são apresentados os níveis de Pb encontrados nas amostras de solo coletadas nas cinco estações em Santo Amaro.

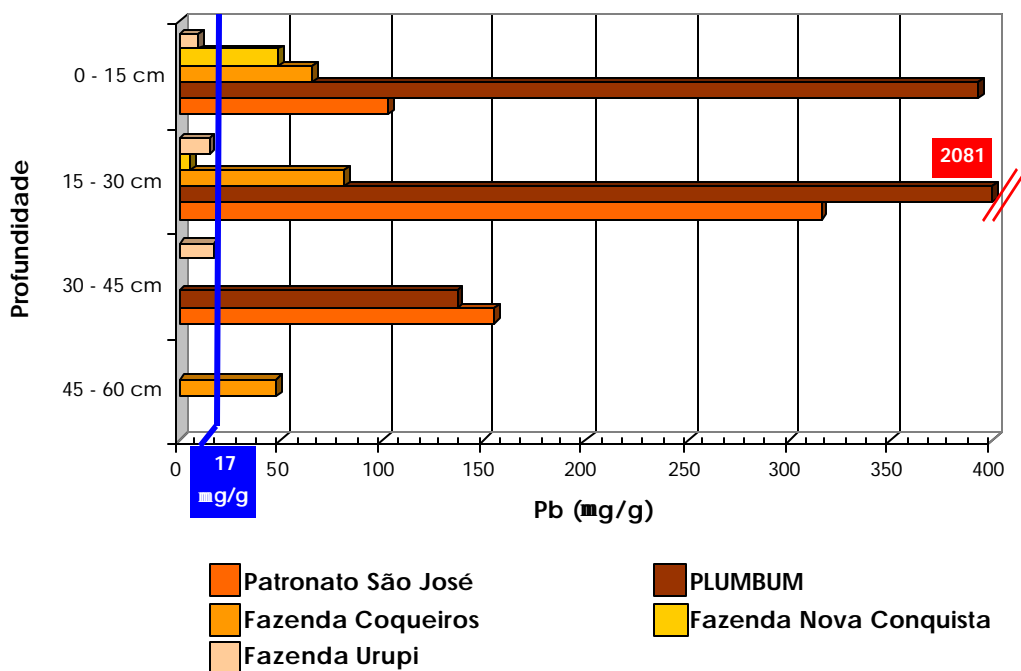
**Tabela 38:** Resultados de Pb em amostras de solo coletadas a distâncias crescentes em relação a PLUMBUM<sup>27</sup> em Santo Amaro da Purificação, Bahia.

| Estação (profundidade)  | Distância em relação a PLUMBUM <sup>27</sup> | Pb (mg/g, peso seco)                    |
|---|--|---|
| Patronato São José (PSJ)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm<br>30 - 45 cm | - 1Km  | 155 ± 10<br>316 ± 16<br>104 ± 1         |
| COBRAC (CO)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm<br>30 - 45 cm              | ~ 300 m (em frente à fábrica)                | 393 ± 31<br>2081 ± 126<br>137 ± 4       |
| Fazenda Coqueiros (FC)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm<br>30 - 60 cm   | + 6 Km                                       | 66,3 ± 4,5<br>80,7 ± 4,1<br>48,1 ± 4,9  |
| Fazenda Nova Conquista (FNC)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm           | + 10 Km                                      | 49,1 ± 3,5<br>6,18 ± 0,21               |
| Fazenda Urupi (FU)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm<br>30 - 45 cm       | + 14 Km                                      | 9,00 ± 0,70<br>15,0 ± 2,0<br>17,0 ± 3,2 |

<sup>27</sup> Os sinais (+) e (-) indicam distâncias em relação à antiga fundição segundo a direção predominante dos ventos (vide mapa da região no item Parte Experimental).

Geralmente o Pb tende a permanecer na superfície do solo em virtude da sua baixa mobilidade no perfil, com isso, as concentrações são mais baixas nas camadas mais profundas (Madhavan et al., 1989). Esta distribuição é decorrente da sua baixa solubilidade e forte adsorção no solo (Chaney, 1991). Apesar do chumbo antropogênico apresentar comportamento semelhante em relação à sua distribuição no perfil do solo, em alguns casos pode atingir profundidades até de 30 a 45 cm em relação à superfície (Levy et al., 1992). Este comportamento foi observado nas amostras coletadas nas estações de Santo Amaro. De acordo com a **Tabela 38**, observa-se que os mais altos valores foram encontrados entre 15 e 30 cm da superfície do solo, com exceção da estação Fazenda Urupi, a mais distante da PLUMBUM. Observa-se também que não há uma tendência de variação nos níveis de chumbo encontrados nos demais perfis. Uma possível justificativa para este comportamento é a altura de cada perfil coletado, com variação de apenas 15 cm entre uma amostra e outra. Apesar da dispersão encontrada, observa-se que as concentrações de Pb são mais baixas à medida que as estações vão se distanciando da PLUMBUM.

Na **Figura 34** são mostrados os níveis de Pb encontrados nas amostras de solo das estações de Santo Amaro a partir dos dados da **Tabela 38**.



**Figura 34:** Níveis de Pb em amostras de solo (liofilizadas) em Santo Amaro da Purificação, Bahia.

Piotrowsky & Coleman (1980) consideram o nível de Pb de 17 µg/g como característico de solos não-contaminados. Os níveis encontrados em Santo Amaro estiveram muito acima deste valor, com exceção da Fazenda Urupi (Tabela 38). Nessa estação, localizada à 14 Km da fundição, foram encontrados, em todas as profundidades coletadas em relação à superfície do solo, valores iguais ou inferiores a 17 µg/g de Pb. Como esperado, as estações Patronato São José e PLUMBUM foram aquelas que apresentaram os valores mais elevados de Pb, devido à proximidade da fundição, principalmente na estação PLUMBUM onde foi encontrada, à 30 cm da superfície do solo, a concentração 2081 µg/g de Pb. Este valor é maior que o dobro da concentração máxima de Pb no solo em área industrial, recomendada pelo New Jersey State Department of Health (Tabela 39).

A **Tabela 39** mostra os níveis máximos de chumbo no solo recomendados pelo New Jersey State Department of Health<sup>28</sup>, baseados na relação dose/resposta do Pb no solo e no sangue de crianças.

**Tabela 39:** Níveis máximos de Pb no solo de acordo com a relação dose/resposta de Pb no solo e no sangue de crianças.

| Nível de Pb máximo no solo | Área recomendada   | Contribuição na concentração de Pb adicionado ao sangue |
|----------------------------|--|---|
| 250 ppm                    | Áreas sem cobertura de grama e usadas repetidamente por crianças com menos de 5 anos de idade        | 2 µg/dL   |
| 600 ppm                    | Áreas repetidamente usadas por crianças com menos de 12 anos de idade                                | 5 µg/dL   |
| 1000 ppm                   | Áreas como parques industriais, ruas ou estradas ou ainda outras áreas não frequentadas por crianças | n.d.  |

n.d. = não determinado Adaptado de Madhavan et al., 1989

Órgãos internacionais como o CDC e o EPA consideram os níveis de Pb no solo, juntamente com a poeira contaminada, importantes contribuidores para o aumento dos níveis deste elemento no sangue, principalmente entre crianças, sendo reconhecidos como um problema de saúde pública (Madhavan et al., 1989). A Agência de Proteção Ambiental americana (EPA) estima que 1000 µg/g de Pb encontrados no solo levem a um aumento de 0,6 a 6,8 µg/dL de Pb no sangue de crianças.

Os autores não estabeleceram o aumento do Pb no sangue provocado por 1000 ppm de Pb encontrados no solo (**Tabela 39**) por considerarem que, apesar das áreas industriais serem locais não frequentados por crianças, existe a possibilidade da migração do Pb destes locais até elas através das roupas ou calçados dos adultos. Silvany-Neto et al. (1996), num estudo em Santo Amaro, verificaram que, entre outros fatores como grupo racial, idade, estado nutricional e proximidade da residência em relação à indústria, o fato do pai

<sup>28</sup> Divisão de Saúde Ocupacional e Ambiental do Departamento de Saúde do Estado de New Jersey, Estados Unidos Mahavan et al., (1989).

ou mãe da criança ser trabalhador da PLUMBUM contribuiu para um aumento significativo dos níveis de ZPP e de Pb no sangue das crianças.

#### 4.4.2. Cádmio em Amostras de Solo

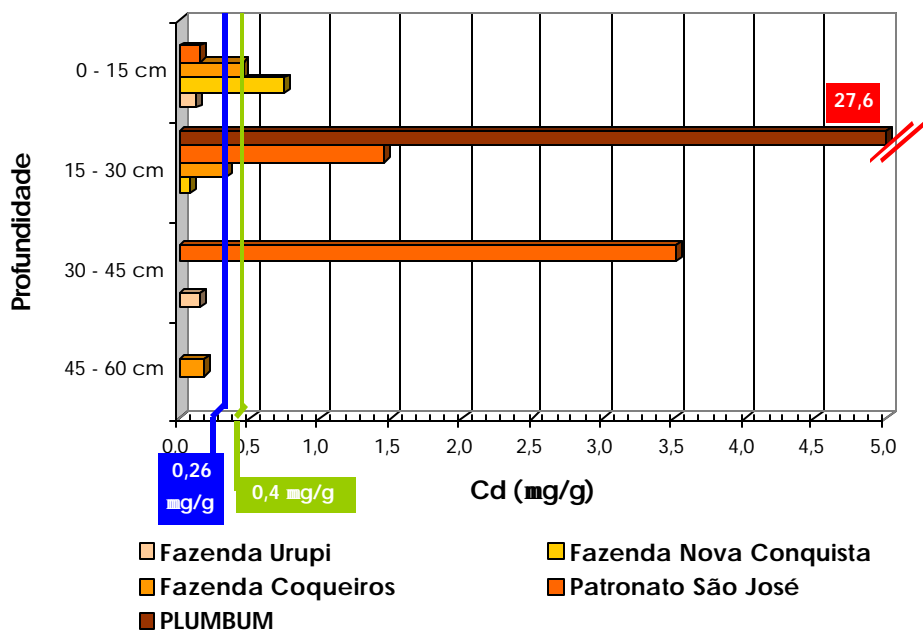
Na **Tabela 40** estão listados os dados de Cd encontrados nas amostras de solo das estações em Santo Amaro da Purificação.

**Tabela 40:** Resultados de Cd em amostras de solo coletadas a distâncias crescentes em relação à PLUMBUM em Santo Amaro da Purificação, Bahia.

| Estação (profundidade)  | Distância em relação a PLUMBUM | Cd (mg/g, peso seco)                            |
|---|--------------------------------|---|
| Patronato São José (PSJ)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm<br>30 - 45 cm | - 1Km                          | 0,148 ± 0,014<br>3,51 ± 0,18<br>1,45 ± 0,16     |
| COBRAC (CO)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm<br>30 - 45 cm              | ~ 300 m (em frente a fábrica)  | 27,6 ± 15                                       |
| Fazenda Coqueiros (FC)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm<br>30 - 60 cm   | + 6 Km                         | 0,458 ± 0,105<br>0,334 ± 0,030<br>0,174 ± 0,034 |
| Fazenda Nova Conquista (FNC)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm           | + 10 Km                        | 0,739 ± 0,45<br>0,0746 ± 0,0334                 |
| Fazenda Urupi (FU)<br>0 - 15 cm<br>15 - 30 cm<br>30 - 45 cm       | + 14 Km                        | 0,123 ± 0,006<br>0,149 ± 0,010                  |

De acordo com a **Tabela 40**, os valores mais elevados foram encontrados na estação PLUMBUM, como esperado. Analogamente ao comportamento verificado em relação ao Pb, observase a inexistência de uma tendência de variação nos níveis de Cd de acordo com a profundidade com a qual o solo foi coletado e com a distância em relação a PLUMBUM.

A **Figura 35** apresenta os níveis de Cd encontrados no solo das estações em Santo Amaro a partir dos dados da **Tabela 40**.



**Figura 35:** Cádmi em amostras de solo (liofilizadas) em Santo Amaro da Purificação, Bahia.

Não há um consenso dos autores em relação à distribuição do Cd no solo de acordo com a profundidade. Segundo Hutzinger (1980), o conteúdo médio normal de Cd no solo é aproximadamente 0,4 ppm (0,4 µg/g, peso seco). O EPA (1999) estima em 260 ppb (0,26 µg/g) o nível típico de Cd no solo. De acordo com a **Figura 35**, com exceção da estação Fazenda Urupi, as demais apresentaram níveis também acima do estimado pelo EPA, especialmente à 30 cm do solo, sendo a estação PLUMBUM aquela que apresentou o valor mais elevado de Cd (27,6 µg/g à 30 cm do solo), superando em mais de 100 vezes o limite recomendado pelo EPA.

#### 4.5. Chumbo e Cádmi em Amostras de Gramínea

##### 4.5.1. Chumbo em Amostras de Gramínea

Na avaliação da contaminação do solo pelo chumbo é também importante a determinação dos seus níveis em plantas. Apesar desta não quantificar a real transferência do Pb do solo para a gramínea, já que, entre outros fatores, não apenas a absorção através das raízes como também a deposição

atmosférica contribuem para o aumento dos níveis deste elemento, sua determinação tem importância na medida em que o Pb poderá entrar na cadeia alimentar através da ingestão direta desta vegetação pelos animais. Por isso, neste estudo, foram também determinados os teores de Pb em amostras de gramínea coletadas nas mesmas estações onde foram coletadas as amostras de solo em Santo Amaro.

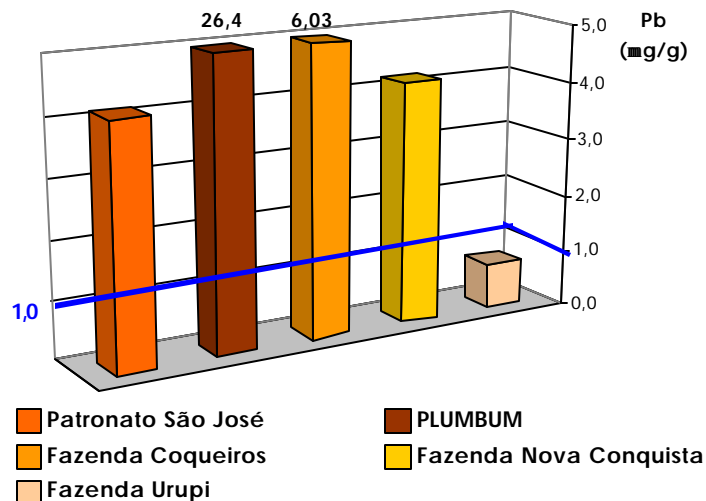
Os níveis de Pb encontrados são apresentados na **Tabela 41**.

**Tabela 41:** Resultados de Pb em amostras de gramínea coletadas a distâncias crescentes em relação a PLUMBUM em Santo Amaro da Purificação, Bahia.

| Estação                      | Distância em relação a PLUMBUM   | Pb peso úmido (mg/g, peso seco)  |
|------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Patronato São José (PSJ)     | - 1Km                            | 4,13 ± 0,42<br>(4,87 ± 0,28)     |
| PLUMBUM (CO)                 | ~ 300 m<br>(em frente a fábrica) | 26,4 ± 2,3<br>(30,2 ± 2,7)       |
| Fazenda Coqueiros (FC)       | + 6 Km                           | 6,03 ± 0,266<br>(6,51 ± 0,28)    |
| Fazenda Nova Conquista (FNC) | + 10 Km                          | 4,19 ± 1,62<br>(4,93 ± 1,89)     |
| Fazenda Urupi (FU)           | + 14 Km                          | 0,767 ± 0,311<br>(0,897 ± 0,386) |

Piotrowsky & Coleman (1980) consideram a concentração de 1 µg/g de chumbo como característica de gramínea não contaminada. De acordo com a **Tabela 41**, apenas as amostras coletadas na Fazenda Urupi estiveram abaixo deste valor. As demais estações apresentaram valores pelo menos 4 vezes acima deste, com destaque para a estação PLUMBUM cujas amostras de gramínea apresentaram uma concentração média 30 vezes superior ao considerado normal.

A **Figura 36** ilustra os valores de Pb encontrados nas amostras de gramínea nas cinco estações de coleta a partir dos dados da **Tabela 41**.



**Figura 36:** Chumbo em amostras de graminea (peso seco) nas cinco estações em Santo Amaro da Purificação, Bahia.

Como era esperado, o valor mais elevado foi encontrado na estação PLUMBUM. Observase uma diminuição nos níveis encontrados à medida que aumenta a distância da antiga fundição.

#### 4.5.2. Cádmio em Amostras de Gramínea

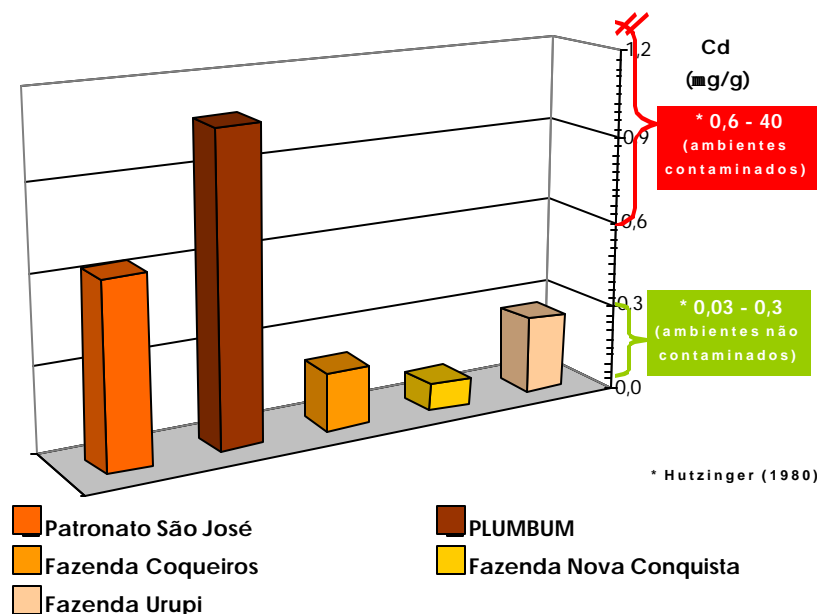
Os resultados de Cd encontrados nas amostras de graminea nas estações de Santo Amaro estão relacionados na **Tabela 42**.

**Tabela 42:** Resultados de Cd em amostras de graminea coletadas a distâncias crescentes em relação a PLUMBUM em Santo Amaro da Purificação, Bahia.

| Estação                      | Distância em relação a PLUMBUM | Cd peso úmido (mg/g, peso seco)   |
|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Patronato São José (PSJ)     | - 1Km                          | 0,635 ± 0,031<br>(0,754 ± 0,079)  |
| PLUMBUM (CO)                 | ~ 300 m (em frente a fábrica)  | 1,07 ± 0,046<br>(1,23 ± 0,05)     |
| Fazenda Coqueiros (FC)       | + 6 Km                         | 0,201 ± 0,095<br>(0,217 ± 0,103)  |
| Fazenda Nova Conquista (FNC) | + 10 Km                        | 0,096 ± 0,008<br>(0,114 ± 0,0080) |
| Fazenda Urupi (FU)           | + 14 Km                        | 0,263 ± 0,280<br>(0,302 ± 0,036)  |



A **Figura 37** ilustra os valores de Cd encontrados nas amostras de graminea das cinco estações de coleta a partir da **Tabela 42**.



**Figura 37:** Cádmiio em amostras de graminea (peso seco) nas cinco estações em Santo Amaro da Purificação, Bahia.

Hutzinger (1980) estima entre 0,03 e 0,3 ppm (0,03 – 0,3  $\mu\text{g/g}$ , peso seco) a faixa normal de concentração de Cd em graminea e entre 0,6 e 40 ppm (0,6 - 40  $\mu\text{g/g}$ , peso seco) a faixa esperada em ambientes contaminados. Em três das cinco estações de coleta (Fazenda Coqueiros, Fazenda Nova Conquista e Fazenda Urupi), os níveis de Cd em graminea se apresentaram dentro da faixa de valores considerada normal (**Figura 37**). Vale ressaltar que estas estações são as mais afastadas da fundição. Observa-se também que as estações mais próximas da antiga fundição (Patronato São José e PLUMBUM) apresentaram os níveis mais elevados, como esperado, encontrando-se dentro da faixa de valores considerada como característica de ambientes contaminados.

Na **Tabela 43** são apresentadas as correlações estatísticas calculadas entre os níveis de Pb e Cd encontrados nas amostras de solo e graminea coletadas em Santo Amaro.

**Tabela 43:** Correlações estatísticas entre chumbo e cádmio em amostras de solo e gramínea.

| Parâmetro 1               | Parâmetro 2           | R             | P                             |
|---------------------------|-----------------------|---------------|-------------------------------|
| Pb em gramínea            | Cd em gramínea        | 0,8429        | 0,0729                        |
| <b>Pb no solo (15 cm)</b> | <b>Pb em gramínea</b> | <b>0,9869</b> | <b>0,0018</b>                 |
| <b>Pb no solo (30 cm)</b> | <b>Pb em gramínea</b> | <b>0,9802</b> | <b>0,0033</b>                 |
| Pb no solo (45-60 cm)     | Pb em gramínea        | 0,5324        | 0,4676                        |
| Cd no solo (15 cm)        | Cd em gramínea        | - 0,7291      | 0,2708                        |
| Cd no solo (30 cm)        | Cd em gramínea        | 0,8743        | 0,1257                        |
| Cd no solo (45-60 cm)     | Cd em gramínea        | 0,9904        | 0,0883                        |
| <b>Pb no solo</b>         | <b>Cd no solo</b>     | <b>0,9921</b> | <b>2,01 x 10<sup>-9</sup></b> |

Observase que os parâmetros que apresentam correlações estatisticamente significantes ( $P \leq 0,05$ ) foram Pb no solo (15 e 30 cm de profundidade) e gramínea e entre Pb e Cd no solo (considerando os perfis coletados).

A **Figura 38** representa alguns gráficos de correlações encontradas entre Pb e Cd em amostras de solo e gramínea nas estações de coleta de Santo Amaro, a partir dos dados da **Tabela 43**.

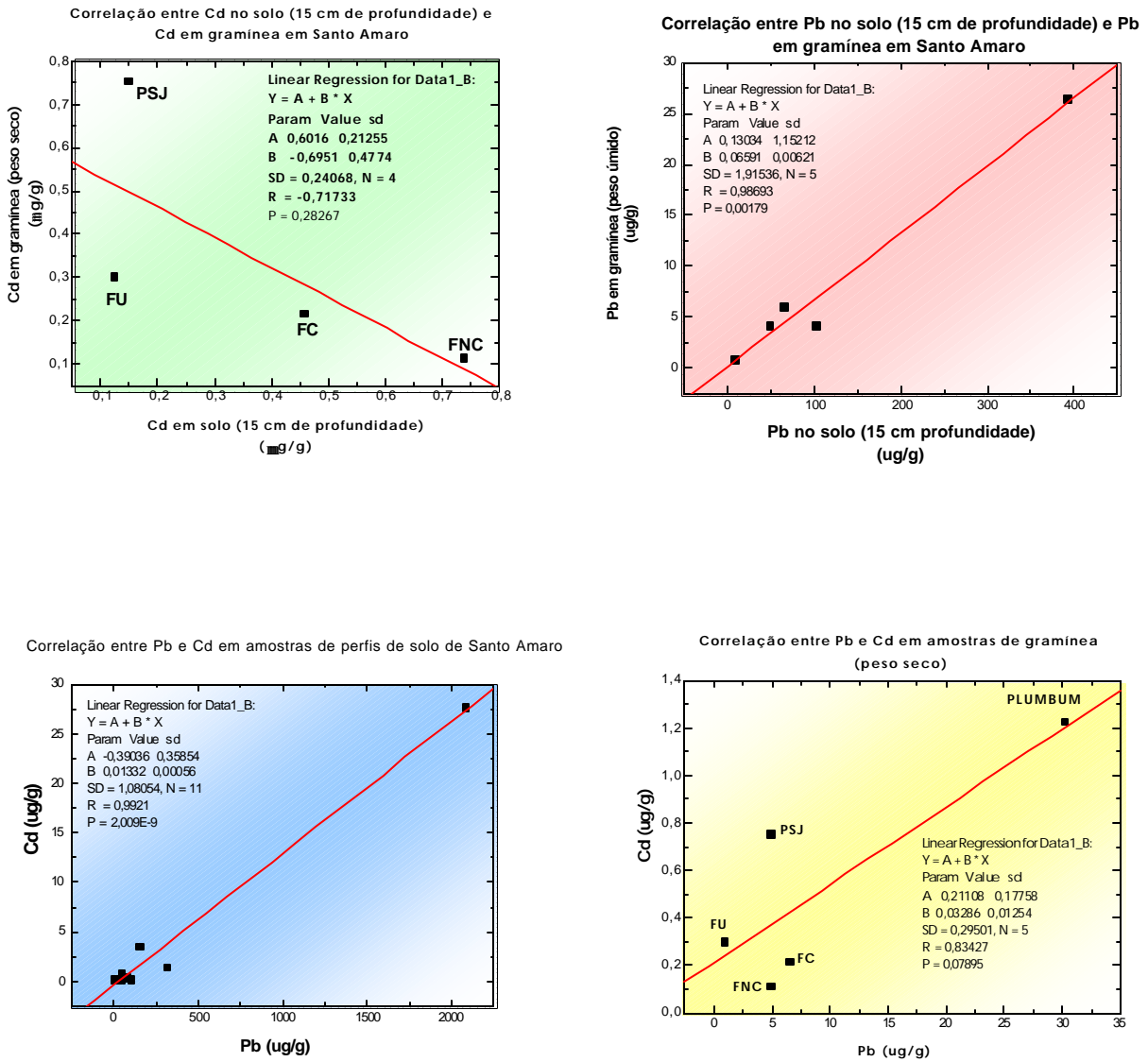


Figura 38: Alguns gráficos de correlações encontradas entre Pb e Cd em amostras de solo e graminha de Santo Amaro da Purificação, Bahia.

## 5. Conclusões

De acordo com resultados obtidos neste trabalho, podemos concluir que:

### Chumbo e Cádmio na População Infantil

- Como consequência da adoção das medidas reparadoras e/ou mitigadoras impostas à indústria em função dos estudos realizados em Santo Amaro em 1980 e 1985, ocorreu uma importante redução de 53,7 % (1985 a 1998) e 70,9 % (1980 a 1998) dos níveis de chumbo no sangue (PbB) das crianças estudadas em 1998. Entretanto, novos casos de intoxicação pelo chumbo continuam a ocorrer em decorrência da exposição ao passivo ambiental, devido à não exigência do cumprimento da lei relacionada à recuperação de áreas degradadas por parte dos órgãos governamentais competentes.
- Os valores de média aritmética e média geométrica de chumbo no sangue ( $17,1 \pm 7,2$  e  $15,4 \pm 1,64$   $\mu\text{g/dL}$ ) nas crianças de Santo Amaro ainda encontram-se entre os mais elevados do mundo. Provavelmente, a escória utilizada no passado e exposta por vários meses na frente das casas devido às escavações das obras do programa de saneamento Bahia Azul foi determinante para que estes níveis continuassem elevados. Esse mesmo fato parece explicar porque os valores médios de chumbo no sangue das crianças do sexo feminino foram praticamente iguais ao masculino, diferentemente do observado nos estudos de 1980 e 1985 na região, nos quais os meninos apresentaram concentrações de PbB mais elevadas que as meninas.
- As crianças com idades entre 1 e 2,5 anos foram as que apresentaram os níveis de PbB mais elevados. Fatores como histórico familiar de intoxicação por chumbo, estado nutricional, perversão do hábito alimentar e vínculo empregatício do pai também estavam associados aos níveis mais elevados.

- Mais de 87% das crianças estudadas em Santo Amaro apresentaram níveis de PbB acima do limite de 10 µg/dL, recomendado pelo CDC. De 1985 a 1998, considerando-se a atual classificação do CDC, ocorreu um aumento de 12,5 % de crianças não intoxicadas pelo Pb (PbB ≤ 9 µg/dL, classe I). Mais de 33 % das crianças apresentaram níveis de PbB entre 10 e 14 µg/dL (classe IIa); 31,3 % delas encontram-se na classe III (20-44 µg/dL), indicando, respectivamente, a necessidade de se iniciar atividades de prevenção à intoxicação na comunidade e de avaliação médica periódica.
- Uma criança do grupo **Controle** apresentou um valor anormalmente elevado de PbB (56,8 ± 1,5 µg/dL), acima do limite superior do grupo **Exposto**. Os valores de média aritmética e média geométrica de PbB encontrados nas crianças do grupo **Controle** foram 9,70 ± 5,70 e 8,52 ± 1,62 µg/dL, respectivamente.
- Os valores de média aritmética e média geométrica de cádmio no sangue (CdB) no grupo **Exposto** foram 1,50 ± 1,54 e 1,00 ± 2,57 µg/dL, respectivamente. Considerando a concentração normal de CdB como 1 µg/dL, 54,2 % das crianças do grupo **Exposto** excederam este valor contra apenas 2,3 % das crianças do grupo **Controle**.
- Os grupos **Controle** e **Exposto** diferem significativamente ( $P \leq 0,05$ ), mesmo quando calculados separadamente por sexo ou considerando toda a população (masculina + feminina).

### Chumbo e Cádmio na População Bovina

- Os valores de média aritmética e média geométrica (28,4 ± 22,0 e 22,0 ± 2,05 µg/dL) de PbB dos animais do grupo **Exposto** encontram-se entre os mais elevados dentre os dados obtidos.
- Os valores de média aritmética, média geométrica e mediana de CdB no grupo **Controle** foram significativamente superiores aos correspondentes no grupo **Exposto**.

- Não foi encontrada uma correlação significativa entre os níveis de PbB e CdB nos bois dos grupos **Controle** ( $R = 0,0466$ ,  $P = 0,8591$ ) e **Exposto** ( $R = -0,2148$ ,  $P = 0,2631$ ).
- De acordo com os testes mutagênicos efetuados, 100 % dos 18 animais estudados no grupo **Exposto** apresentaram algum tipo de alteração cromossômica contra 70 % dos animais do grupo **Controle**. Em 18,9 % das 1278 células analisadas foram observadas alterações cromossômicas (quebras, pulverizações e outras aberrações). No grupo **Controle**, apenas 2,3 % das 470 células analisadas apresentaram alterações. Este percentual encontra-se dentro da faixa de frequência de alterações cromossômicas esperada para populações humanas normais, que varia de 1 a 4 %.
- Apesar da prevalência das alterações cromossômicas observada nos animais do grupo **Exposto**, não foi encontrada uma correlação estatisticamente significativa entre estas e as concentrações de PbB e CdB.

### Chumbo e Cádmio na População Adulta Feminina

- Ao contrário do esperado, os valores mais elevados de média aritmética, média geométrica e limite superior para Pb ( $16,6 \pm 11,6$ ;  $13,2 \pm 2,01$  e  $46,4 \mu\text{g/dL}$ ) e Cd ( $0,0523 \pm 0,0335$ ;  $0,0448 \pm 1,775$  e  $0,1850 \mu\text{g/dL}$ ) foram encontrados nas amostras de sangue das mulheres do grupo **Controle**. As concentrações medianas de PbB foram iguais nos dois grupos  $12,2 \mu\text{g/dL}$ .
- Diferentemente do observado em relação aos níveis de PbB e CdB, as concentrações de CdU nas mulheres do grupo **Exposto** foram superiores às encontradas no grupo **Controle**.
- Os testes mutagênicos efetuados mostraram um aumento na prevalência de alterações cromossômicas nas mulheres do grupo **Exposto** (6,5 %) em relação às do grupo **Controle** (1,5 %). Apesar disto, não foram encontradas correlações estatisticamente significantes entre as concentrações de PbB e CdU e estas alterações cromossômicas. Possivelmente as alterações encontradas foram decorrentes de exposição

anterior ao chumbo, quando a fundição ainda encontrava-se em funcionamento.

- Provavelmente o PbB e o CdU não são os parâmetros mais adequados para explicar a prevalência das alterações cromossômicas observadas.

## **Chumbo e Cádmiu em Amostras Ambientais**

### **Solo:**

- As concentrações mais elevadas de Pb no solo (PbS) foram encontrados na profundidade de 15 - 30 cm para todas as estações, com exceção da Fazenda Urupi, a estação mais distante da PLUMBUM, localizada a 14 Km da fundição.
- Como esperado, estação PLUMBUM foi a que apresentou o valores mais elevados de PbS, considerando os perfis amostrados (0 - 15, 15 - 30 e 30 - 45 cm), sendo que no perfil de 15 - 30 cm o valor encontrado (2081 µg/g) é maior que o dobro da concentração máxima de PbS em área industrial, recomendada pelo New Jersey State Department of Health (USA).
- Admitindo-se a concentração média de 17 µg/g como característica de solos não contaminados, os níveis encontrados em Santo Amaro estiveram muito acima deste valor, com exceção da Fazenda Urupi, a mais distante da PLUMBUM, cujos perfis amostrados (0 -15, 15 - 30 e 30 - 45 cm) apresentaram concentrações médias iguais ou inferiores a este valor (9,00 ± 0,70; 15,0 ± 2,0 e 17,0 ± 3,2 µg/g, respectivamente).
- As concentrações de Pb encontradas nos perfis coletados, apesar de não apresentarem uma tendência de variação, foram mais elevadas à medida que diminuía a distância da antiga fundição.
- Com exceção da estação Fazenda Urupi, as demais apresentaram concentrações de Cd no solo (CdS) acima do nível típico de 260 ppb (0,26 µg/g) estimado pela Agência de Proteção Ambiental americana (EPA), especialmente entre 15 e 30 cm do solo, sendo a estação PLUMBUM

aquela que apresentou o valor mais elevado (27,6 µg/g entre 15 e 30 cm de profundidade), superando em mais de 100 vezes este valor.

- Os valores de PbS apresentaram correlação estatisticamente significativa ( $R = 0,9921$  e  $P = 2,01 \times 10^{-9}$ ) com os valores de CdS.

### **Gramínea:**

- Considerando a concentração de 1 µg/g de chumbo como característica de gramínea não contaminada, apenas as amostras coletadas na Fazenda Urupi estiveram abaixo deste valor. As demais estações apresentaram valores pelo menos 4 vezes acima deste, com destaque para a estação PLUMBUM cujas amostras apresentaram uma concentração média 30 vezes superior ao considerado normal.
- Observou-se uma relação inversamente proporcional entre a distância da estação de coleta em relação à antiga fundição e as concentrações de Pb e Cd nas amostras de gramínea analisadas.
- Em três das cinco estações de coleta (Fazenda Coqueiros, Fazenda Nova Conquista e Fazenda Urupi) a concentração média de Cd em gramínea apresentou-se dentro da faixa de valores considerada normal (0,03 – 0,3 µg/g, peso seco). Vale ressaltar que estas estações são as mais afastadas da fundição. As mais próximas (Patronato São José e PLUMBUM) apresentaram os níveis mais elevados, situados entre 0,6 e 40 µg/g (peso seco), a faixa de concentração esperada em ambientes contaminados pelo Cd.
- Os valores de Pb em gramínea de todas as estações estudadas apresentaram correlação bastante significativa com os valores de Pb no solo considerando os perfis de 0 a 15 cm ( $R = 0,9869$  e  $P = 0,0018$ ) e 15 a 30 cm ( $R = 0,9802$  e  $P = 0,0033$ ).



## 5.1 Conclusões Gerais

- ◆ Novos casos de intoxicação pelo chumbo continuaram a ocorrer em função do passivo ambiental deixado pela indústria.
- ◆ Apesar da importante redução de 70,9 % verificada nos níveis de Pb no sangue da população infantil estudada em Santo Amaro considerando-se estudos anteriores na região, estes ainda encontram-se entre os mais elevados do mundo. Verifica-se a necessidade de se iniciar atividades de prevenção à intoxicação pelo chumbo na comunidade e avaliações médicas periódicas nas crianças, bem como a eliminação das fontes de intoxicação do ambiente em função de mais de 87 % destas crianças apresentarem níveis de PbB acima do limite recomendado pelo CDC (10 µg/dL).
- ◆ Os percentuais de alterações cromossômicas observadas nas populações bovina e feminina adulta de grupos expostos de Santo Amaro foi significativamente maior do que os das populações Controle. Não foi encontrada correlação positiva entre os percentuais de alterações e de chumbo no sangue, provavelmente devido a diferenças individuais de exposição passada ao chumbo e sensibilidade individual, entre outros possíveis fatores.
- ◆ Os níveis de PbS foram crescentes em relação a proximidade da antiga fundição até a profundidade de 15 - 30 cm, apresentando correlação significativa com os níveis de Pb na gramínea. No solo, o cádmio correlacionou significativamente com o chumbo, mas não se relacionou com o teor de cádmio na gramínea.

## 6. Sugestões

- Considerando que mais de 87 % das crianças estudadas em Santo Amaro apresentaram níveis de PbS acima do valor de 10 µg/dL determinado pelo CDC, recomenda-se avaliação periódica.
- Recomendam-se estudos para identificar outros indicadores biológicos adequados que possam ser utilizados para explicar as alterações cromossômicas encontradas.

## 7. Referências Bibliográficas

- ALLIANCE TO END CHILDHOOD LEAD POISONING ENVIRONMENTAL DEFENSE FUND. **The global dimensions of lead poisoning - an initial analysis** Alliance to end childhood lead poisoning environmental defense fund, USA, **1994**.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCE AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Case studies in environmental medicine: lead toxicity**. U.S. Department of Human Services, Public Health Service.. Capturado em junho de 1998. On-line. Disponível em <http://aepo-xvd-www.epo.cdc.gov/wonder.PrevGuid/p0000017/entire.htm>
- ALLOWAY, B.J. and AYRES, D.C. **Chemical Principles of Environmental Pollution**. Black Academic & Professional. Chapman and Hall, 1<sup>st</sup> edition, **1993**.
- ASCHENGRAU, A.; BEISER, A.; BELLINGER, D.; COPENHAFFER, D., and WEITZMAN, M. The impact of soil lead abatement on urban children's blood lead levels: Phase II results from the Boston lead-in-soil demonstration project. **Environmental Research**, **67**: 125-148, **1994**.
- BAGHURST, P.A.; TONG, S.; McMICHAEL, A.J.; ROBERTSON, E.F.; WIGG, N.R., and VIMPANI, G.V. Determinants of blood lead concentrations to age 5 years in a birth cohort study of children living in the lead smelting city of Port Pirie and surrounding areas. **Archives of Environmental Health**, **47**(3), **1992**.
- BAIRD, C. **Environment Chemistry**. Third printing, VB. W.H. Freeman and Company, USA, **1995**.
- BERNARD, A.M.; VYSKOCIL, A.; ROELS, H.; KRIZ, J.; KODL, M and LAUWERYS, R. Renal effects in children in the vicinity of a lead smelter. **Environmental Research**, **68**: 91-95, **1995**.
- BJERRE, B.; BERLUNG, M.; HARSBO, K. and HELLMAN, B. Blood lead concentrations of Swedish preschool children in a community with high lead levels from mine waste in soil and dust. **Scand. J. Work Environ. Health**, **19**(3): 154-161, **1993**.
- BOECKX, R.L. Lead poisoning in children. **Analytical Chemistry**, **58**(2): 274-287, **1986**.
- BONATO, M.C.M. Moldes, Módulos e Forma: do DNA à Proteínas. Cap. 6: **Transcrição em bactérias - Tipos de RNA**. Capturado em março de 2001. On-line. Disponível em <http://www.biologianaweb.com/Livro2/C6/tiposrna.html>. Março de **2001**.
- BOWEN. **Environmental chemistry of the elements**. Academic Press, London, UK, **1979**.

- BRAGA, J.R.M. **Estudo preliminar do efeito mutagênico do chumbo e do cádmio em bovinos (*Bos indicus*) da cidade de Santo Amaro da Purificação, BA.** Monografia. Salvador, Bahia, 1995.
- BRITO FILHO, D. **Toxicologia humana e geral.** 2ª edição. Livraria Atheneu, RJ - SP, 1988.
- CALABRESE, E.J.; KENYON, E.M. **Air toxics and risk assessment** Lewis Publishers Inc., USA, 1991.
- CALVERT, J.G. & IUPAC **Commission on atmospheric chemistry. Glossary of Atmospheric Chemistry Terms,** June, 1990.
- CARVALHO, F.M.; AGUIAR A.S.; VIEIRA, L.A.; GONÇALVES, H.R.; COSTA, A.C.A. e TAVARES, T.M. **Anemia, deficiência de ferro e intoxicação pelo chumbo em crianças de uma creche de Salvador, Bahia. Relatório,** 1998.
- CARVALHO, F.M.; MELO, N.A.; TAVARES, T.M.; COSTA, A.C.A.; RODRIGUES, C.; MELO, N.A.; DUARTE, E.; CHAVES, C.d'El R.; NASCIMENTO, L.D.; REIS, M.A. e SANTOS, J.P. **Efeito mutagênico de metais pesados em cromossomos de mulheres de Santo Amaro da Purificação, Bahia.** Projeto submetido ao parecer da Comissão de Ética do Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz da FIOCRUZ-Bahia, 2000.
- CARVALHO, F.M.; SILVANY NETO, A.M.; CHAVES, M. E.C.; de MELO, A.M. C; GALVÃO, A.L e TAVARES, T.M. Chumbo e cádmio em cabelo de crianças de Santo Amaro da Purificação, Bahia. **Ciência e Cultura**, 41(7): 646-651, Julho, 1989.
- CARVALHO, F.M.; SILVANY NETO, A.M.; de MELO, A.M.C.; CHAVES, M. E.C.; BRANDÃO, A.M., and TAVARES, T.M. Cadmium in hair of children living near a lead smelter in Brazil. **The Science of the Total Environment**, 84: 119-128, 1989.
- CARVALHO, F.M.; SILVANY NETO, A.M.; LIMA, M<sup>a</sup> E.C.; TAVARES, T.M.; de AZARO, M<sup>a</sup>. G.A.; QUAGLIA, G.M<sup>a</sup>.C. Chumbo e cádmio no sangue e estado nutricional de crianças. Bahia, Brasil. **Revista Saúde Pública**, 21: 44-50, 1987.
- CARVALHO, F.M.; SILVANY NETO, A.M.; TAVARES, T.M.; COSTA, A.C.A.; CHAVES, C. d'El Rei; NASCIMENTO, L.D. e REIS, M. de A. **A persistência de níveis elevados de chumbo no sangue de crianças de Santo Amaro da Purificação.** Relatório preliminar de pesquisa encaminhada à Assembléia Legislativa do Estado da Bahia, Janeiro, 1999.
- CARVALHO, F.M.; TAVARES, T.M.; SILVANY-NETO, A.M.; LIMA, M.E.C., and ALT, F. Cadmium concentrations in blood of children living near a lead smelter in Bahia, Brazil. **Environmental Research**, 40: 437-449, 1986.

- CASARETT and DOULL'S. **Toxicology. The basic science of poisons.** chapter 23. Toxic effects of metals. p. 703-709, fifth edition, McGraw Hill, Health Professions Division, **1996.**
- CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). **Preventing lead poisoning in young children. A statement by the centers for disease control. A statement by the Center for Disease Control.** U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, USA, October, **1991.**
- CENTRO DE RECURSOS AMBIENTAIS (CRA). **Resultado da análise da escória da Metalurgia de chumbo feita pelo CEPED, em 18/06/86, anexo do Boletim de Análise da COBRAC,** Salvador, **1985.**
- CHANEY, R.F. Sludge utilization, land application and food chain impact. In: **The biocycle to the art and science of composting.** Pennsylvania, J. G. Press., pp. 240-253, **1991.**
- CHARLES, X. **Impact of lead-contaminated soil on public health.** ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Capturado em junho de 1998. On-line. Disponível em <http://www.atsdr.cdc.gov/cxlead.html>. Maio de **1992.**
- CHISOLM Jr., J.J. **Lead poisoning. Implications of material wealth.** chap. V: 335-343, February, **1971.**
- COUTO, C.M. **Desenvolvimento de uma metodologia espectrofotométrica para determinação de chumbo em sangue.** Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Instituto de Química da UFBA, Salvador, Bahia, **1996.**
- CULLIS, C.F. & HISCHELER, M.M. Atmospheric Sulfur: Natural and man-made sources. **Atmos. Environ., 14,** p. 1263, **1980.**
- DUFFUS, J.H. **Glossary for chemists of terms used in toxicology** (IUPAC recommendations, 1993). Chemistry Division Commission on Toxicology, **65 (9):** 2003-2122, **1993.**
- EMSLEY, J. **The elements.** 3<sup>rd</sup> edition. Oxford University Press, Oxford, UK, **1997.**
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Living safe with lead - Lead, your health and the environment** Capturado em julho de 1998. On-line. Disponível em <http://www.epa.nsw.gov.au/leadsafe/leadinfo.htm>. Fevereiro de **1997.**
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Toxicological review cadmium and compounds (CAS nº 7440-43-9). **Support of Summary Information on Integrated Risk Information System (IRIS).** Capturado em abril de 2000. On-line. Disponível em <http://www.epa.gov/ncea/cadmium.htm>. Março de **1999.**
- FERREIRA, A.B.O. **Novo Aurélio século XXI: O dicionário da língua portuguesa.** 3<sup>a</sup> ed. Totalmente revista e ampliada. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, **1999.**

- FERREIRA, A.B.O. **Novo dicionário Aurélio da língua portuguesa**. 1<sup>a</sup> ed. (7<sup>a</sup> impressão). Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 1975.
- FETT, M.J.; MIRA, M.; SMITH, J.; ALPERSTEIN, G.; CAUSER, J.; BROKENSHERE, T.; GULSON, B., and CANNATA, S. Community prevalence survey of children's blood lead levels and environmental lead contamination in inner Sydney. **The Medical Journal of Australia**, 157, 1992.
- FLEGAL, A.R and SMITH, D.R. Measurements of environmental lead contamination and human exposure. In: **Reviews of environmental contamination and toxicology**, 143. Springer-Verlag, New York, 1995.
- FRIBERG, L.; NORDBERG, G.F. and VOUK, V.B. (editors). **Handbook on the Toxicology of Metals**. Elsevier/North. Holland and Biomedical Press, 2<sup>nd</sup> edition, 1980.
- GARCIA, H. de e NASCENTES, A. Caldas Aulete. **Dicionário contemporâneo da língua portuguesa**. Editora Delta, Rio de Janeiro, RJ, 1970.
- GÓES, R.C.S. **Manual de toxicologia do refino de petróleo**, 90 pp., DEPIN/RLAM, 1991.
- GULSON, B.L.; DAVIS, J.J.; MIZON, K.J.; KORSCH, M.J.; LAW, A.J. and HOWARTH, D. Lead bioavailability in the environment of children: blood lead levels in children can be elevated in a mining community. **Archives of Environmental Health**, 49 (5): 326-331, 1994.
- HERNÁNDEZ-AVILA, M.; LAIN, R.E. and CABAJAL, L. **Estudio de plomo en sangre en población seleccionada de Lima y el Callao** (Junio 1998 – Marzo 1999) - Environmental Health Protection. Activity Report n° 72, September, 1999.
- HOWSON, C.P.; HERNANDEZ-AVILA, M. and RALL, D.P. (editors). **Lead in the Americas. A call for action**. U.S. National Academy of Sciences and National Institute of Public Health of Mexico, First edition, 1996.
- HSU, D.D. **Chemicool Periodic Table**. Capturado em junho de 1998. Disponível em <http://the-tech.mit.edu/Chemicool/elements/lead.html>, 1996.
- HUTCHINSON, T.C. and MEEMA, K.M. (editors). **Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment**. Scope 31, John Wiley & Sons LTD., 1987.
- HUTZINGER, O. (editor). **The handbook of environmental chemistry. Anthropogenic compounds**. Vol. 3, part. A. Springer, Heidelberg, 1980.
- KHAN, D.H. **Lead in the soil environment**. A Technical Report. Marc Report (21), Marc Publications, 1980.
- KIMBROUGH, R.; LEVOIS, M. and WEBB, D. Survey of lead exposure around a closed lead smelter. **Journal of Pediatrics**, 95 (4), 1995. LARINI, L. **Toxicologia**. Segunda edição, Ed. Manole, 1993.

- LARINI, L. **Toxicologia**, 2ª Ed., Editora Manole LTDA, 1993.
- LEVY, D.B.; BARBARICK, K.A.; SIEMER, E. G. & SOMMERS, L.E. Distribution and partitioning of trace metals in contaminated soils near lead-Ville, Colorado. **Journal of Environmental Quality**, Madison, 21:185-195, 1992.
- LÓPEZ ALONSO, M.; BEBEDITO, J.L.; MIRANDA, M.; CASTILLO, C.; HERNÁNDEZ, J. and SHORE, R.F. Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. **The Science of Total Environment**, 246: 237-248, 2000.
- MACEDO, P.; FARAH, E. e CARVALHO H. **Chumbo tetraetila** (em PROCONVE Programa de Controle da Poluição do Ar por Veículos Automotores). Capturado em março de 2001. On-line. Disponível em [http://www.mct.gov.br/clima/comunic\\_old/procon06.htm](http://www.mct.gov.br/clima/comunic_old/procon06.htm). Fevereiro de 2001.
- MADHAVAN, S.; ROSENMAN, K.D. AND SHEHATA, T. Lead in soil: Recommended maximum permissible levels. **Environmental Research**, 49: 136-142, 1989.  
Maio de 1992.
- MCNAUGHT, A. D. and WILKINSON, A. **Compendium of chemical terminology. Iupac recommendations**, Second edition, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1997.
- MERIAN, E.; FREI, R.W.; HÄRDI, W. and SCHLATTER, Ch. (editors). Carcinogenic and mutagenic metal compounds. Current topics in environmental and toxicological chemistry, Vol. 8 **Environmental and Analytical Chemistry and Biological Effects**. Gordon and Breach Science Publishers, S.A., Glasgow, 1985.
- MILLER, J.C. and MILLER, J.N. **Statistics for analytical chemistry**. Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry. Ellis Horwood Limited. England, 1984.
- MOORE, J.W. Inorganic contaminants of surface water. Research, and monitoring priorities – **Springer-Verlag**, 337 pp., N.Y., 1991.
- MURGUEYTIO, A.M.; EVANS, R.G. Relationship between blood lead in children and lead mining activities. Apêndice (pp.168-169) em HOWSON, C.P., HERNANDEZ-AVILA, M. and RALL, D.P. (editors). **Lead in the Americas. A call for action**. U.S. National Academy of Sciences and National Institute of Public Health of Mexico, First edition, 1996.
- MUSHAK, P. Defining lead as the premiere environmental health issue for children in America: criteria and their quantitative application. **Environmental Research**, 59: 281- 309, 1992.
- NASCENTES, A. **Dicionário ilustrado da língua portuguesa da academia brasileira de letras**, Vol. 3, Bloch Editores S.A., Rio de Janeiro, 1976.

- NRIAGU, J.O. (editor). **The biogeochemistry of lead in the environment, Part A. Ecological Cycles. Topics in Environmental Health**, Vol. 1A. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, **1978**.
- O'BRIEN, B.J. **The exposure commitment method with application to exposure of man to lead pollution**. A Technical Report, Marc Report (13), Marc Publications, **1979**.
- O'BRIEN, B.J.; SMITH, S. and COLEMAN, D.O. **Lead pollution of the global environment**. A Technical Report, Marc Report (20), Marc Publications, **1980**.
- O'BRIEN, B.J.; SMITH, S. and COLEMAN, D.O. **Progress reports in environmental monitoring and assessment. Lead pollution of the global environment**. A Technical Report, Marc Report (16), Marc Publications, **1980**.
- OLIVEIRA, E.R. Parecer técnico sobre ampliação da COBRAC. Companhia Brasileira de Chumbo, em Santo Amaro, Bahia. **Relatório oficial, CEPED/SEPLANTEC, 65p, Outubro, 1977**.
- OLSON, K.R. (editor). **Poisoning & drug overdose. A Lange Clinical Manual**. 2<sup>nd</sup> edition, Appleton & Lange, Norwalk, CT, **1990**.
- PIOTROWSKY, J.K. & O'BRIEN, B.J. **Analysis of the effects of lead in tissue upon human health using dose-response relationship**. A Technical Report, Marc Report (17), Marc Publications, **1980**.
- PIOTROWSKY, J.K. and COLEMAN, D.O. **Environmental hazards of heavy metals: Summary evaluation of lead, cadmium and mercury**. A general Report, Marc Report (20), Marc Publications, **1980**.
- POPESCU, P.C. **Cytogénétique dès mamifères d élevage**, INRA. Paris, 25-51, **1989**.
- REVISTA CIPA. Norma técnica sobre saturnismo. Fundamentação legal: Lei nº 8213, de 24 de julho de 1991; Decreto nº 3048, de 6 de maio de 1999, Diário Oficial da União, Resolução nº 15 de 3 de fevereiro de 2000, Fevereiro, **2000**.
- RIBEIRO, M.A.S. **Diretrizes para a elaboração e apresentação de trabalhos científicos: dissertações e teses** Manual. Biblioteca Setorial de Química, IQ/UFBA, Salvador, Novembro, **1999**.
- SILVANY-NETO, A. M.; CARVALHO, F.M.; TAVARES, T.M.; GUMARÃES, G.C.; AMORIM, C.J.B.; PERES, M.F.T.; LOPES, R.S.; ROCHA, C.M. and RAÑA, M.C. **Lead poisoning among children of Santo Amaro, Bahia, Brazil in 1980, 1985, and 1992**. Bulletin of PAHO, 30(1), **1996**.
- SKERFVING, S. Biological monitoring of exposure to inorganic lead. In: CLARKSON, T.W.; FRIBERG, L.; NORDBERG, G.F., and SAGER, P.R (editors). **Biological Monitoring of Toxic Metals**. Rochester Series on Environmental Toxicity. Plenum Press, New York , **1988**. p. 169-197.



- SKOOG, D.A.; WEST, D. M. and HOLLER, F.J. **Fundamentals of analytical chemistry**, sixty edition, Saunders College Publishing, USA, **1992**.
- STOEPLER, M. (editor). **Techniques and instrumentation in analytical chemistry (Vol. 12) - Hazardous metals in environment**. Elsevier Science Publishers B.V., Netherlands, **1992**.
- STOEPLER, M. Recent methodological progress in cadmium analysis. **International Journal of Analytical Chemistry**, Vol. **27**, pp. 231-239, **1986**.
- TAVARES, T.M. **Avaliação dos efeitos das emissões de cádmio e chumbo em Santo Amaro, Bahia**. Tese (Doutorado em Química Analítica Ambiental), Universidade de São Paulo, São Paulo, **1990**.
- TAVARES, T.M. **The role of lead and cadmium reference samples in an epidemiological case study at Santo Amaro, Bahia, Brazil**. Capítulo em Rossbach; Schladot and Ostapczuk (editors). Specimen Banking, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **1992**.
- TREPKA, M.J.; HEINRICH, J.; KRAUSE, C.; SCHULTZ, C.; LIPPOLD, U.; MEYER, E. The internal burden lead among children in a smelter town. A small area analysis. **Environmental Research**, **72**: 118-130, **1997**.
- TSALEV, D.L. and ZAPRIANOV, Z.K. **Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice. Vol. 1. Analytical Aspects and Health Significance** - CRC Press, Florida-USA, **1985**.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. **Normas para apresentação de trabalhos. parte 6. Referências bibliográficas**. Sexta edição, Ed. da UFPR, **1996**.
- VERCRUYSE, A. (editor). **Evaluations of analytical methods in biological systems. Hazardous metals in human toxicology (part B)**. Elsevier Science Publishers, Netherlands, **1984**.
- VIEIRA, P.A. Ciclo de vida dos automóveis: O longo caminho da reciclagem. **Expresso Economia & Negócios**. Capturado em março de 2001. Disponível <http://www.expresso.pt/ed1371/e-primeira.asp?>. On-line. Lisboa, Portugal, Fevereiro de **1999**.
- WHITEHEAD, J. **The establishment and interpretation of dose-effect relationships for heavy metal pollutants**. A Technical Report, Marc Report (17), Marc Publications, **1980**.

## **8. Anexos**

## A. Questionários de Avaliação

| UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA<br>FACULDADE DE MEDICINA<br>DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA   | CÓDIGO |
|---|--------|
| Número de ordem da família  |        |
| Enderêço (com refs.)<br>_____   |        |
| Domicílio à margem da Av. Rui Barbosa? 1.SIM 2.NÃO  |        |
| Nesta casa mora alguma criança que nasceu após 1° de janeiro de 1994 ?<br>1.SIM 2.NÃO (Caso 1.SIM, abrir questionário para cada criança do domicílio)   |        |
| Número de crianças do domicílio que nasceram após 1° de janeiro de 1994   |        |
| Número total de residentes no Domicílio   |        |
| Nome da MãE (apelido) _____   |        |
| Nome do PAI (apelido) _____   |        |
| O PAI, a MãE ou Outro MORADOR da casa trabalhou na fábrica de chumbo ? (Como Funcionário ou como contratado por empreiteira)<br>1.SIM(Especificar) 2.NÃO  |        |
| QUEM : _____ Durante que período (datas): de ___/___ a ___/___  |        |
| QUEM : _____ Durante que período (datas): de ___/___ a ___/___  |        |
| QUEM : _____ Durante que período (datas): de ___/___ a ___/___  |        |
| QUEM : _____ Durante que período (datas): de ___/___ a ___/___  |        |
| O PAI trabalhava na fábrica PLUMBUM em dezembro de 1993(quando ela fechou) ?<br>1.SIM 2.NÃO   |        |
| O PAI está empregado atualmente ?<br>1.SIM 2.NÃO  |        |
| O PAI, MãE, ou algum Outro MORADOR da casa já teve problema de intoxicação pelo Chumbo, diagnosticado por médico?<br>1.SIM (especificar QUEM) _____ 2.NÃO 3.NÃO SABE  |        |
| O PAI, MãE ou Outro Morador da casa faz <b>atualmente</b> alguma atividade dentro dos Terrenos da fábrica fechada (PLUMBUM) ?<br>1. NÃO 2. PLANTA 3. LEVA GADO PRA PASTAR 4. Outra atividade(espec.)  |        |
| ANOTAR presença de escória visível no peridomicílio<br>1.SIM 2.NÃO  |        |
| Nos <b>últimos 5 anos</b> quantas vezes foi usada escória da fábrica no terreno da casa?<br>00. Não usou 88. Usou, porém há mais de 5 anos 99.Não sabe<br>OBSERVAÇÕES: _____<br>_____<br>_____<br>_____<br>_____<br>Entrevistador(a): _____ |        |



| <p style="text-align: center;"><b>UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA</b><br/> <b>FACULDADE DE MEDICINA</b><br/> <b>DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA</b><br/> <b>QUESTIONÁRIO DA CRIANÇA</b></p>   | <p style="text-align: center;"><b>CÓDIGO</b></p> |
|---|--|
| <p style="text-align: center;">USE OS CÓDIGOS A SEGUIR PARA AS QUESTÕES 1 a 15:<br/> <b>1 = Não, nunca</b>    <b>2 = pouco, raramente</b>    <b>3 = Mais ou menos, às vezes</b><br/> <b>4 = muito, sempre</b>    <b>5 = não sabe</b>    <b>9 = Não obtido/não se aplica</b></p> |  |
| 1. Tem (ou teve) dificuldade de falar?  |  |
| 2. Tem (ou teve) dificuldade no andar?  |  |
| 3. Chupa dedos ?  |  |
| 4. Rói unhas ?  |  |
| 5. É nervosa ?  |  |
| 6. Se zanga com facilidade?   |  |
| 7. Se dá bem com os de casa ?   |  |
| 8. Tem dificuldade de dormir ?  |  |
| 9. Acorda gritando, tem pesadelos ?   |  |
| 10. Tem desmaios, perda de consciência ?  |  |
| 11. Tem (teve) crises de convulsão (dá ataques, se batendo) ?   |  |
| 12. É esquecida, não presta atenção às coisas ou às pessoas ?   |  |
| 13. Costuma ter prisão de ventre ?  |  |
| 14. Costuma ter cólicas (dor de barriga) intensas ?   |  |
| 15. Tem vômitos frequentes ?  |  |
| Seu filho começou a andar com quantos meses de idade ?<br>88 = Não sabe/Não lembra    99 = Não se aplica (menores de 8 meses)   |  |
| O desenvolvimento geral da criança é igual ao de outras crianças da mesma idade?<br>1. SIM    2. NÃO    3. NÃO SABE   |  |
| OBSERVAÇÕES: _____  |  |
| Entrevistador(a): _____   |  |

Prof. Dr. Fernando M. Carvalho

## B. Memórias de Cálculo

### B.1. Cálculo da concentração de Pb ou Cd em amostra de sangue:

$$C \text{ (mg/dL)} = (C \text{ (mg/L)} * \text{F.E.}) / 10$$

Medido

Fator de conversão de L para dL

Fator de extração da razão volume de ácido/ volume de sangue

Onde:

**C (mg/L)** = Concentração do metal em  $\mu\text{g/L}$  obtido a partir da equação da curva analítica de calibração:  $C \text{ (mg/L)} = (H \text{ (mm)} - b)/a$

**H (mm)** = Altura do pico em milímetros

**b** = coeficiente linear  
**a** = coeficiente angular } Obtidos a partir da curva analítica de calibração

### B.2. Cálculo da concentração de Pb ou Cd em amostra de solo ou gramínea em base seca:

$$C \text{ (mg/g)} = (C \text{ (mg/L)} * V_{\text{sol.}}) / (m * 1000)$$

Fator de conversão de mL para L

Massa da amostra subtraída da massa de água (g)

Volume de diluição da amostra (mL)

Onde:

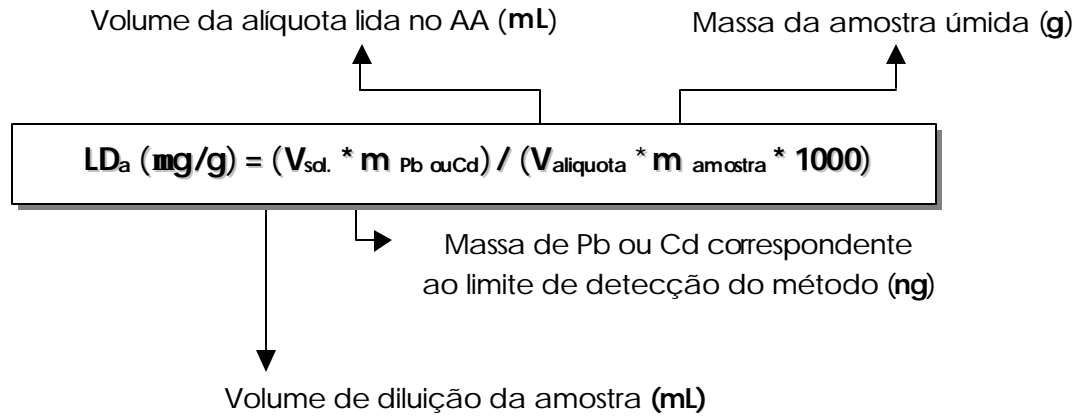
**C (mg/L)** = Concentração do metal em  $\mu\text{g/L}$  obtido a partir da equação da curva analítica de calibração:  $C \text{ (mg/L)} = (H \text{ (mm)} - b)/a$

**H (mm)** = Altura do pico em milímetros

**b** = coeficiente linear e **a** = coeficiente angular

**B.3. Cálculo do limite de detecção por amostra (LD<sub>a</sub>)\* em mg/g de Pb ou Cd em amostra de solo ou gramínea em base seca:**

\* Considerando a metodologia proposta.



**Obs:** O cálculo do limite de detecção considerando a metodologia proposta para as amostras de sangue segue raciocínio semelhante.

**B.4. Fatores de conversão:**

| Chumbo (Pb)             | Cádmio (Cd)             |
|-------------------------|-------------------------|
| De mmol/L para mg/dL :  | De mmol/L para mg/dL:   |
| 1,0 mmol/L = 20,7 mg/dL | 1,0 mmol/L = 11,2 mg/dL |
| De mg/L para mg/dL:     |                         |
| 1,0 mg/L = 10,0 mg/dL   |                         |

## C. Tabelas de Resultados

### Tabelas C1 a C7: Resultados dos questionários de avaliação das crianças de Santo Amaro

**Tabela C1:** Nível médio de chumbo ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue segundo idade em crianças de Santo Amaro da Purificação, 1998.

| Idade (anos) | N  | $\bar{x}$ | s   |
|--------------|----|-----------|-----|
| 1-2          | 27 | 18,9      | 8,5 |
| 3-4          | 20 | 14,7      | 4,8 |

**Tabela C2:** Nível médio de chumbo ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue de crianças segundo vínculo empregatício do pai, Santo Amaro da Purificação, 1998.

| Vínculo      | N  | $\bar{x}$ | s   |
|--------------|----|-----------|-----|
| Empregado    | 21 | 15,2      | 6,1 |
| Desempregado | 23 | 19,0      | 8,1 |

**Tabela C3:** Nível médio de chumbo ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue de crianças segundo história familiar de intoxicação pelo chumbo, Santo Amaro da Purificação, 1998.

| História familiar de intoxicação pelo chumbo | N  | $\bar{x}$ | s   |
|--|----|-----------|-----|
| Presente                                     | 11 | 21,2      | 7,3 |
| Ausente                                      | 27 | 16,2      | 7,7 |
| Não sabe                                     | 7  | 14,9      | 4,4 |

**Tabela C4:** Nível médio de chumbo ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue de crianças segundo estado nutricional, Santo Amaro da Purificação, 1998.

| Estado nutricional | N  | $\bar{x}$ | s   |
|--------------------|----|-----------|-----|
| Desnutrido*        | 6  | 21,2      | 7,2 |
| Nutrido            | 41 | 16,5      | 7,2 |

- \* Abaixo do percentil 10 do parâmetro peso/altura e altura/idade.



**Tabela C5:** Nível médio de chumbo ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue de crianças segundo presença de escória no peridomicílio, Santo Amaro da Purificação, 1998.

| Presença de escória | N  | $\bar{x}$ | s   |
|---------------------|----|-----------|-----|
| Sim                 | 29 | 18,7      | 8,2 |
| Não                 | 15 | 15,5      | 4,5 |

**Tabela C6:** Nível médio de chumbo ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue de crianças segundo tipo de perversão do hábito alimentar, Santo Amaro da Purificação, 1998.

| Perversão do hábito alimentar |     | $\bar{x}$ | s   |
|-------------------------------|-----|-----------|-----|
|                               | Sim | 18,7      | 9,1 |
| Come Terra                    | Não | 16,0      | 5,4 |
|                               | Sim | 19,4      | 9,5 |
| Come Barro                    | Não | 16,2      | 6,0 |
|                               | Sim | 18,4      | 9,0 |
| Come Reboco                   | Não | 16,6      | 6,5 |
|                               | Sim | 18,3      | 6,9 |
| Outros Materiais              | Sim | 18,3      | 6,9 |
|                               | Não | 16,9      | 7,7 |

**Tabela C7:** Nível médio de chumbo ( $\mu\text{g/dL}$ ) no sangue de crianças segundo presença de qualquer tipo de perversão do hábito alimentar, Santo Amaro da Purificação, 1998.

| Perversão do hábito alimentar | N  | $\bar{x}$ | s   |
|-------------------------------|----|-----------|-----|
| Ausente                       | 18 | 14,1      | 4,6 |
| Presente*                     | 29 | 19,0      | 8,1 |

\* Come terra ou barro ou reboco ou outros materiais.

**Tabela C8:** Hábitos e características das populações **mulheres** de **Jequié** e **Santo Amaro**.

| Hábitos e Características | JEQUIÉ<br>(N) | SANTO AMARO<br>(N) |
|---------------------------|---------------|--------------------|
| Bebe*                     | 1             | 2                  |
| Fuma**                    | 3             | 3                  |
| Raça                      |               |                    |
| Branco + Mulato Claro     | 15            | 6                  |
| Mulato Médio              | 9             | 6                  |
| Mulato Escuro + Negro     | 5             | 15                 |
| Não classificado          | 1             | 3                  |

\* Pelo menos 5 dias por semana

\*\* Pelo menos 1 cigarro por dia

(Carvalho et al., 2000)

**Tabela C9:** Resultados de **Pb** em amostras de sangue de **crianças do sexo feminino** do grupo **Controle**.

| <b>Amostra</b>               | <b>Pb (mg/dL)</b>  | <b>Amostra</b> | <b>Pb (mg/dL)</b> |
|------------------------------|--------------------|----------------|-------------------|
| Adrielle                     | 9,70 ± 0,48        | Liliane I      | 7,07 ± 0,14       |
| Alana                        | 5,58 ± 0,25        | Maiane I       | 7,90 ± 0,66       |
| Caroline                     | 3,92 ± 0,21        | Maiane II      | 6,67 ± 0,30       |
| Conceição                    | 6,10 ± 0,33        | Milena         | 5,80 ± 0,51       |
| Crislane                     | 4,00 ± 0,38        | Miriam         | 2,52 ± 0,29       |
| Daniela                      | 10,3 ± 0,3         | Mônica         | 15,1 ± 0,7        |
| Driele                       | 5,58 ± 0,29        | Naiana         | 6,04 ± 0,18       |
| Evani                        | 9,19 ± 0,28        | Patricia I     | 8,63 ± 0,17       |
| Gabriela                     | 26,1 ± 0,8         | Patricia II    | 28,7 ± 0,6        |
| Geisa                        | 6,09 ± 0,10        | Pauline        | 14,7 ± 0,5        |
| Genipaula                    | 7,67 ± 0,40        | Priscila II    | 13,8 ± 0,1        |
| Gleiciane                    | 15,4 ± 0,2         | Rafaela        | 56,8 ± 1,5        |
| Gleisiane                    | 9,36 ± 0,29        | Railane        | 5,55 ± 0,18       |
| Iara                         | 11,3 ± 0,4         | Rebeca         | 7,03 ± 0,44       |
| Indiara                      | 4,78 ± 0,30        | Rejane         | 34,2 ± 0,7        |
| Ingrid                       | 10,1 ± 0,3         | Renata         | 24,0 ± 1,1        |
| Jamile                       | 15,0 ± 0,5         | Rosilene       | 12,3 ± 0,6        |
| Jamile II                    | 7,33 ± 0,3         | Rosineide      | 8,48 ± 0,19       |
| Janailda                     | 9,07 ± 0,32        | Sandra         | 7,33 ± 0,13       |
| Jeane                        | 6,18 ± 1,12        | Silmara        | 3,32 ± 0,0        |
| Jeine                        | 6,14 ± 0,23        | Suelen         | 6,45 ± 0,12       |
| Jéssica                      | 6,93 ± 0,3         | Talita         | 6,06 ± 0,19       |
| Jéssica II                   | 8,11 ± 0,84        | Tamara         | 5,78 ± 0,41       |
| Josania                      | 7,91 ± 0,17        | Taíssa         | 11,7 ± 0,3        |
| Juliana I                    | 38,4 ± 7,4         | Vanda          | 3,96 ± 0,37       |
| Juliana II                   | 12,0 ± 0,3         | Vanildes       | 22,4 ± 0,8        |
| Juliana III                  | 13,5 ± 0,5         | Viviane        | 30,7 ± 1,4        |
| Juliana IV                   | 7,81 ± 0,45        | Vitória        | 6,06 ± 0,23       |
| Lais III                     | 7,84 ± 0,00        |                |                   |
| Lais IV                      | 12,9 ± 0,2         |                |                   |
| Leila                        | 11,8 ± 0,8         |                |                   |
| Leilane                      | 8,52 ± 0,4         |                |                   |
| <b>N</b>                     | <b>60</b>          |                |                   |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>3,32</b>        |                |                   |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>56,8</b>        |                |                   |
| <b>Média Aritmética:</b>     | <b>9,60 ± 5,40</b> |                |                   |
| <b>Média Geométrica:</b>     | <b>8,55 ± 1,61</b> |                |                   |
| <b>Mediana:</b>              | <b>7,90</b>        |                |                   |
| <b>*90 %:</b>                | <b>15,0</b>        |                |                   |

**Tabela C10:** Resultados de **Pb** em amostras de sangue de **crianças do sexo masculino** do grupo **Controle**.

| <b>Amostra</b> | <b>Pb (mg/dL)</b> | <b>Amostra</b>               | <b>Pb (mg/dL)</b>  |
|----------------|-------------------|------------------------------|--------------------|
| Adriano        | 7,10 ± 0,30       | Juliomar                     | 8,49 ± 0,32        |
| Alan II        | 6,48 ± 0,28       | Julivan                      | 5,11 ± 0,16        |
| Alessandro     | 17,6 ± 0,8        | Leandro                      | 23,7 ± 1,0         |
| Alex           | 7,94 ± 0,23       | Leonardo                     | 13,2 ± 0,3         |
| Alison         | 5,14 ± 0,24       | Leonardo IV                  | 7,47 ± 0,33        |
| Alexinaldo     | 6,21 ± 0,22       | L. Carlos                    | 6,73 ± 0,56        |
| Bruno          | 8,83 ± 0,77       | Luan III                     | 12,7 ± 0,3         |
| Caio           | 5,36 ± 0,14       | Lucas I                      | 7,99 ± 0,27        |
| Carlos Augusto | 8,74 ± 0,61       | Luís Henrique                | 29,7 ± 1,1         |
| Cláudio        | 7,08 ± 0,28       | Max                          | 9,38 ± 0,40        |
| Cleiton        | 24,3 ± 0,9        | Mileno                       | 8,23 ± 0,35        |
| Cristiano      | 6,59 ± 0,36       | Nadson                       | 5,62 ± 0,32        |
| David          | 6,16 ± 0,31       | Natanael II                  | 7,62 ± 0,27        |
| Deivson        | 7,46 ± 0,41       | Nelson II                    | 7,46 ± 0,17        |
| Diego          | 6,44 ± 0,16       | Paulo II                     | 8,43 ± 0,23        |
| Douglas        | 4,6 ± 0,28        | Paulo III                    | 19,0 ± 0,8         |
| Edenilson      | 5,89 ± 0,17       | Rafael                       | 5,36 ± 0,31        |
| Edson          | 9,56 ± 0,2        | Raul                         | 5,91 ± 0,34        |
| Emerson        | 4,98 ± 0,14       | Reginaldo                    | 5,73 ± 0,89        |
| Érico          | 12,2 ± 0,37       | Roberto                      | 26,3 ± 0,5         |
| Everton        | 11,6 ± 0,4        | Robson                       | 5,29 ± 0,36        |
| Félix          | 9,88 ± 0,39       | Romário                      | 26,2 ± 1,0         |
| Flávio         | 11,6 ± 0,4        | Ruan I                       | 4,92 ± 0,30        |
| George         | 5,49 ± 0,15       | Talisson                     | 3,33 ± 0,14        |
| Geovani        | 24,8 ± 0,7        | Tárcio                       | 8,83 ± 0,19        |
| Gerônimo       | 7,15 ± 0,44       | Tarcísio I                   | 8,77 ± 0,34        |
| Gustavo I      | 7,07 ± 0,14       | Tarcísio II                  | 5,9 ± 0,38         |
| Gustavo II     | 4,71 ± 0,29       | Tiago II                     | 7,41 ± 0,26        |
| Ian            | 6,27 ± 0,48       | Tiago III                    | 8,26 ± 0,28        |
| Jailson        | 6,64 ± 0,32       | Valdenixon                   | 10,2 ± 0,2         |
| Jamerson       | 10,7 ± 0,3        | Valter                       | 5,49 ± 0,35        |
| Joadson        | 10,8 ± 0,4        | Wesley                       | 4,81 ± 0,19        |
| J. Renato II   | 10,0 ± 0,1        | <b>N</b>                     | <b>70</b>          |
| J. Victor      | 7,42 ± 0,28       | <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>3,33</b>        |
| Jeckson        | 22,7 ± 1,5        | <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>29,7</b>        |
| Jeferson       | 10,2 ± 0,4        | <b>Média Aritmética:</b>     | <b>9,74 ± 6,0</b>  |
| Juan           | 14,3 ± 0,4        | <b>Média Geométrica:</b>     | <b>8,51 ± 1,63</b> |
| J. William     | 8,94 ± 0,37       | <b>Mediana:</b>              | <b>7,55</b>        |
|                |                   | <b>*90 %:</b>                | <b>19,0</b>        |

**Tabela C11:** Resultados de **Pb** em amostras de sangues de **crianças do sexo feminino** do grupo **Exposto**.

| <b>Amostra</b>               | <b>Pb (mg/dL)</b>  |
|------------------------------|--------------------|
| Amanda                       | 11,6 ± 0,5         |
| Ane                          | 11,2 ± 0,2         |
| Ariele                       | 12,7 ± 0,2         |
| Driele                       | 8,5 ± 0,3          |
| Érica                        | 36,2 ± 1,0         |
| Fabiana                      | 25,7 ± 0,9         |
| Isadora                      | 21,2 ± 0,5         |
| Joseane                      | 27,5 ± 1,1         |
| Jaqueline                    | 15,2 ± 0,6         |
| Lavinia                      | 7,71 ± 0,6         |
| Lorena                       | 14,3 ± 0,8         |
| Mirele                       | 15,9 ± 0,6         |
| Natalie                      | 21,0 ± 0,8         |
| Reilane                      | 15,4 ± 0,2         |
| Sinara                       | 19,2 ± 0,8         |
| Solange                      | 30,3 ± 0,4         |
| Tatiane                      | 7,04 ± 0,51        |
| Vanessa (0542)               | 10,3 ± 1,2         |
| Vanessa (1171)               | 16,4 ± 0,5         |
| <b>N</b>                     | <b>19</b>          |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>7,04</b>        |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>36,2</b>        |
| <b>Média Aritmética:</b>     | <b>17,2 ± 8,1</b>  |
| <b>Média Geométrica:</b>     | <b>15,6 ± 1,59</b> |
| <b>Mediana:</b>              | <b>15,4</b>        |
| <b>*90 %:</b>                | <b>27,5</b>        |

**Tabela C12:** Resultados de **Pb** em amostras de sangues de **crianças do sexo masculino** do grupo **Exposto**.

| <b>Amostra</b>               | <b>Pb (mg/dL)</b>  |
|------------------------------|--------------------|
| Adson                        | 12,9 ± 0,6         |
| Albert                       | 14,6 ± 0,5         |
| Amário                       | 14,4 ± 0,4         |
| André                        | 27,1 ± 0,8         |
| Caio                         | 11,1 ± 0,5         |
| Danilo (0081)                | 22,8 ± 0,6         |
| Danilo (1041)                | 15,0 ± 0,4         |
| Edson                        | 22,5 ± 0,3         |
| Emerson                      | 12,3 ± 0,4         |
| Fabiano                      | 19,0 ± 3,3         |
| Ivonilson                    | 23,4 ± 0,3         |
| Jackson                      | 32,8 ± 1,0         |
| Jardel (Paulo)               | 19,0 ± 0,5         |
| Jean                         | 8,6 ± 1,8          |
| Jocemar                      | 12,9 ± 0,2         |
| Jorge                        | 17,4 ± 0,3         |
| Jonathan                     | 21,7 ± 1,6         |
| Lisnaldo                     | 27,7 ± 0,5         |
| Lucas                        | 10,8 ± 0,5         |
| Lucas Figueiredo             | 25,4 ± 0,9         |
| Lucas Silva                  | 9,22 ± 0,36        |
| Luis                         | 14,5 ± 1,5         |
| Nathan                       | 10,7 ± 0,3         |
| Rafael                       | 13,3 ± 0,5         |
| Railan                       | 2,02 ± 0,6         |
| Rodrigo                      | 18,0 ± 0,5         |
| Rodrigo (0791)               | 19,6 ± 0,9         |
| Orlando                      | 21,5 ± 1,7         |
| Yvisson                      | 12,0 ± 0,3         |
| <b>N</b>                     | <b>29</b>          |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>2,02</b>        |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>32,8</b>        |
| <b>Média Aritmética:</b>     | <b>17,0 ± 6,8</b>  |
| <b>Média Geométrica:</b>     | <b>15,3 ± 1,69</b> |
| <b>Mediana:</b>              | <b>15,0</b>        |
| <b>*90 %:</b>                | <b>25,4</b>        |

**Tabela C13:** Resultados de Cd em amostras de sangue de crianças do sexo feminino do grupo Controle.

| Amostra    | Cd (mg/dL)     | Amostra     | Cd (mg/dL)    | Amostra  | Cd (mg/dL)   |
|------------|----------------|-------------|---------------|--|--|
| Adrielle   | 0,166 ± 0,006  | Juliana II  | 0,275 ± 0,006 | Sandra   | 0,187 ± 0,009  |
| Alana      | 0,185 ± 0,015  | Juliana III | 0,228 ± 0,006 | Silmara  | 0,166 ± 0,009  |
| Caroline   | 0,109 ± 0,004  | Juliana IV  | 0,190 ± 0,010 | Suelen   | 0,104 ± 0,010  |
| Conceição  | 0,193 ± 0,004  | Lais III    | 0,158 ± 0,009 | Talita   | 0,242 ± 0,008  |
| Crislane   | 0,165 ± 0,022  | Lais IV     | 0,196 ± 0,009 | Tamara   | 0,126 ± 0,010  |
| Daniela    | 0,258 ± 0,014  | Leila       | 0,191 ± 0,020 | Taíssa   | 0,215 ± 0,007  |
| Driele     | 0,189 ± 0,011  | Leilane     | 0,171 ± 0,015 | Vanda  | 0,189 ± 0,009  |
| Evani      | 0,121 ± 0,011  | Liliane I   | 1,78 ± 0,08   | Vanildes   | 0,204 ± 0,006  |
| Gabriela   | 0,278 ± 0,007  | Maiane I    | 0,213 ± 0,010 | Viviane  | 0,247 ± 0,011  |
| Geísa      | 0,200 ± 0,005  | Maiane II   | 0,255 ± 0,013 | Vitória  | 0,244 ± 0,013  |
| Genipaula  | 0,207 ± 0,009  | Milena      | 0,336 ± 0,010 | <b>N</b><br>Limite Inferior (LI):<br>Limite Superior (LS):<br>Média Aritmética:<br>Média Geométrica:<br>Mediana:<br>*90 %: | <b>59</b><br><br><b>0,0904</b><br><br><b>1,78</b><br><br><b>0,267 ± 0,280</b><br><br><b>0,224 ± 1,60</b><br><br><b>0,208</b><br><b>0,307</b> |
| Gleiciania | 0,219 ± 0,005  | Miriam      | 0,266 ± 0,016 |  |  |
| Gleisiane  | 0,311 ± 0,008  | Mônica      | 0,275 ± 0,004 |  |  |
| Iara       | 0,320 ± 0,006  | Naiana      | 0,146 ± 0,009 |  |  |
| Indiara    | 0,177 ± 0,015  | Patrícia I  | 0,187 ± 0,011 |  |  |
| Ingrid     | 0,196 ± 0,010  | Patrícia II | 0,199 ± 0,013 |  |  |
| Jamile     | 1,66 ± 0,03    | Pauline     | 0,254 ± 0,013 |  |  |
| Jamile II  | 0,253 ± 0,008  | Priscila II | 0,248 ± 0,008 |  |  |
| Janailda   | 0,199 ± 0,008  | Rafaela     | 0,195 ± 0,010 |  |  |
| Jeane      | 0,307 ± 0,032  | Railane     | 0,169 ± 0,009 |  |  |
| Jeine      | 0,266 ± 0,012  | Rebeca      | 0,255 ± 0,011 |  |  |
| Jéssica    | 0,228 ± 0,013  | Rejane      | 0,227 ± 0,007 |  |  |
| Jéssica II | 0,416 ± 0,136  | Renata      | 0,208 ± 0,010 |  |  |
| Josania    | 0,0904 ± 0,003 | Rosilene    | 0,217 ± 0,015 |  |  |
| Juliana I  | 0,229 ± 0,013  | Rosineide   | 0,194 ± 0,010 |  |  |

**Tabela C14:** Resultados de Cd em amostras de sangues de crianças do sexo masculino do grupo Controle.

| Amostra        | Cd (mg/dL)    | Amostra       | Cd (mg/dL)     | Amostra                      | Cd (mg/dL)    |
|----------------|---------------|---------------|----------------|------------------------------|---------------|
| Adriano        | 0,312 ± 0,008 | J. Victor     | 0,277 ± 0,010  | Tiago III                    | 0,143 ± 0,007 |
| Alan II        | 1,87 ± 0,03   | Jeckson       | 0,126 ± 0,010  | Valdenixon                   | 0,164 ± 0,011 |
| Alessandro     | 0,239 ± 0,008 | Jeferson      | 0,215 ± 0,020  | Valter                       | 0,279 ± 0,014 |
| Alex           | 0,171 ± 0,009 | Juan          | 0,188 ± 0,007  | Wesley                       | 0,171 ± 0,004 |
| Alison         | 0,114 ± 0,009 | J. William    | 0,123 ± 0,007  | <b>N</b>                     | 70            |
| Alexinaldo     | 0,261 ± 0,009 | Juliomar      | 0,336 ± 0,006  | <b>Limite Inferior (LI):</b> | 0,0799        |
| Bruno          | 0,280 ± 0,029 | Julivan       | 0,152 ± 0,005  | <b>Limite Superior (LS):</b> | 1,87          |
| Caio           | 0,281 ± 0,012 | Leandro       | 0,223 ± 0,011  |                              | 0,250 ± 0,215 |
| Carlos Augusto | 0,217 ± 0,019 | Leonardo      | 0,248 ± 0,022  | <b>Média Aritmética:</b>     | 0,219 ± 1,56  |
| Cláudio        | 0,209 ± 0,015 | Leonardo IV   | 0,115 ± 0,013  | <b>Média Geométrica:</b>     | 0,226         |
| Cleiton        | 0,179 ± 0,009 | L. Carlos     | 0,256 ± 0,010  | <b>Mediana:</b>              | 0,310         |
| Cristiano      | 0,207 ± 0,009 | Luan III      | 0,654 ± 0,027  | <b>*90 %:</b>                |               |
| David          | 0,174 ± 0,015 | Lucas I       | 0,188 ± 0,010  |                              |               |
| Deivson        | 0,549 ± 0,023 | Luís Henrique | 0,236 ± 0,006  |                              |               |
| Diego          | 0,219 ± 0,047 | Max           | 0,236 ± 0,017  |                              |               |
| Douglas        | 0,188 ± 0,015 | Mileno        | 0,269 ± 0,005  |                              |               |
| Edenilson      | 0,252 ± 0,013 | Nadson        | 0,179 ± 0,004  |                              |               |
| Edson          | 0,251 ± 0,007 | Natanael II   | 0,234 ± 0,005  |                              |               |
| Emerson        | 0,158 ± 0,009 | Nelson II     | 0,0799 ± 0,012 |                              |               |
| Érico          | 0,123 ± 0,007 | Paulo II      | 0,168 ± 0,027  |                              |               |
| Everton        | 0,234 ± 0,007 | Paulo III     | 0,277 ± 0,006  |                              |               |
| Félix          | 0,228 ± 0,008 | Rafael        | 0,270 ± 0,013  |                              |               |
| Flávio         | 0,116 ± 0,015 | Raul          | 0,187 ± 0,009  |                              |               |
| George         | 0,198 ± 0,010 | Reginaldo     | 0,199 ± 0,010  |                              |               |
| Geovani        | 0,311 ± 0,035 | Roberto       | 0,214 ± 0,013  |                              |               |
| Gerônimo       | 0,253 ± 0,009 | Robson        | 0,263 ± 0,005  |                              |               |
| Gustavo I      | 0,104 ± 0,016 | Romário       | 0,142 ± 0,006  |                              |               |
| Gustavo II     | 0,278 ± 0,019 | Ruan I        | 0,236 ± 0,007  |                              |               |
| Ian            | 0,290 ± 0,008 | Talisson      | 0,214 ± 0,007  |                              |               |
| Jailson        | 0,208 ± 0,010 | Tárcio        | 0,338 ± 0,010  |                              |               |
| Jamerson       | 0,237 ± 0,009 | Tarcisio I    | 0,310 ± 0,012  |                              |               |
| Joadson        | 0,229 ± 0,010 | Tarcisio II   | 0,263 ± 0,012  |                              |               |
| J. Renato II   | 0,258 ± 0,009 | Tiago II      | 0,131 ± 0,010  |                              |               |



**Tabela C15:** Resultados de **Cd** em amostras de sangues de **crianças do sexo feminino** do grupo **Exposto**.

| <b>Amostra</b>               | <b>Idade (anos)</b> | <b>Cd (mg/dL)</b>  |
|------------------------------|---------------------|--------------------|
| Amanda                       | 2,17                | 1,34 ± 0,63        |
| Ane                          | 2,67                | 1,01 ± 0,17        |
| Ariete                       | 3,25                | 0,70 ± 0,07        |
| Driete                       | 4,75                | 1,21 ± 0,32        |
| Érica                        | 2,25                | 1,88 ± 0,03        |
| Fabiana                      | 1,00                | 0,276 ± 0,03       |
| Isadora                      | 2,17                | 0,877 ± 0,145      |
| Joseane                      | 1,42                | 0,756 ± 0,03       |
| Jaqueline                    | 3,58                | 2,39 ± 0,6         |
| Lavinia                      | 1,25                | 1,47 ± 0,21        |
| Lorena                       | 1,75                | 2,03 ± 0,58        |
| Mirele                       | 1,58                | 4,82 ± 0,50        |
| Natalie                      | 1,42                | 1,47 ± 0,19        |
| <b>Reilane (EXTRA)</b>       | -                   | <b>2,20 ± 0,44</b> |
| Sinara                       | 2,58                | 2,82 ± 0,03        |
| Solange                      | 1,92                | 2,33 ± 0,13        |
| Tatiane                      | 3,25                | 0,243 ± 0,142      |
| Vanessa (0542)               | 4,67                | 0,249 ± 0,07       |
| Vanessa (1171)               | 4,08                | 2,33 ± 0,42        |
| <b>N</b>                     | <b>19</b>           | <b>19</b>          |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>1,00</b>         | <b>0,243</b>       |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>4,75</b>         | <b>4,82</b>        |
| <b>Média Aritmética:</b>     | <b>2,54 ± 1,16</b>  | <b>1,60 ± 1,11</b> |
| <b>Média Geométrica:</b>     | <b>2,30 ± 1,59</b>  | <b>1,22 ± 2,32</b> |
| <b>Mediana:</b>              | <b>2,21</b>         | <b>1,47</b>        |
| <b>*90 %:</b>                | <b>4,08</b>         | <b>2,39</b>        |

**Tabela C16:** Resultados de **Cd** em amostras de sangues de **crianças do sexo masculino** do grupo **Exposto**.

| <b>Amostra</b>          | <b>Idade (anos)</b> | <b>Cd (mg/dL)</b>  |
|-------------------------|---------------------|--------------------|
| Adson                   | 1,33                | 1,72 ± 0,23        |
| Albert                  | 3,33                | 0,215 ± 0,02       |
| Amario                  | 2,08                | 0,624 ± 0,031      |
| André                   | 2,33                | 0,447 ± 0,22       |
| Caio                    | 3,17                | 0,767 ± 0,15       |
| Danilo (0081)           | 1,92                | 1,72 ± 0,00        |
| Danilo (1041)           | 4,5                 | 0,755 ± 0,11       |
| Edson                   | 1,92                | 5,92 ± 1,0         |
| Emerson                 | 1,25                | 0,20 ± 0,03        |
| Fabiano                 | 3,58                | 1,02 ± 0,36        |
| Ivonilson               | 1,67                | 8,60 ± 1,9         |
| Jackson                 | 1,67                | 0,734 ± 0,124      |
| Jardel (Paulo)          | 2,17                | 1,06 ± 0,38        |
| Jean                    | 2,33                | 0,913 ± 0,03       |
| Jocemar                 | 3,67                | 1,27 ± 0,30        |
| Jorge                   | 1,08                | 0,740 ± 0,08       |
| Jonathan                | 3,00                | 2,27 ± 0,76        |
| Lisnaldo                | 2,08                | 1,44 ± 0,19        |
| Lucas                   | 3,25                | 0,088 ± 0,005      |
| Lucas Figueiredo        | 4,50                | 0,176 ± 0,016      |
| Lucas Silva             | 3,00                | 1,59 ± 0,21        |
| Luis                    | 1,42                | 0,307 ± 0,0        |
| Nathan                  | 2,33                | 0,954 ± 0,18       |
| Orlando                 | 4,17                | 3,11 ± 1,2         |
| Rafael                  | 3,42                | 0,649 ± 0,34       |
| Raylan                  | 1,50                | 0,558 ± 0,01       |
| Rodrigo                 | 3,42                | 1,47 ± 0,21        |
| Rodrigo (0791)          | 4,25                | 0,61 ± 0,10        |
| Yvisson                 | 3,83                | 1,47 ± 0,19        |
| <b>N</b>                | <b>29</b>           | <b>29</b>          |
| <b>Média Aritmética</b> | <b>2,70 ± 1,05</b>  | <b>1,43 ± 1,78</b> |
| <b>Média Geométrica</b> | <b>2,49 ± 1,52</b>  | <b>0,88 ± 2,71</b> |
| <b>Mediana</b>          | <b>2,33</b>         | <b>0,91</b>        |
| <b>90 %</b>             | <b>4,17</b>         | <b>2,27</b>        |

**Tabela C17:** Resultados de **Pb** em amostras de **sangue bovino** do frigorífico Frimasa (grupo **Controle**) e de Santo Amaro da Purificação (grupo **Exposto**).

| Grupo Controle<br>(código)  | Pb (mg/dL)   | Grupo Exposto<br>(código) | Pb (mg/dL)   |                       |             |
|---|--|---------------------------|--------------|-----------------------|-------------|
| C1  | 1,94 ± 0,00  | T1                        | 20,2 ± 0,91  |                       |             |
| C2  | 1,03 ± 0,08  | T2                        | 7,74 ± 0,48  |                       |             |
| C3  | 1,75 ± 0,175   | T3                        | 6,97 ± 0,28  |                       |             |
| C4  | 0,889 ± 0,140  | T4                        | 7,89 ± 0,46  |                       |             |
| C5  | 0,832 ± 0,135  | T5                        | 11,2 ± 0,28  |                       |             |
| C6  | 1,36 ± 0,23  | T6                        | 18,4 ± 0,62  |                       |             |
| C7  | 1,54 ± 0,25  | T7                        | 16,9 ± 0,704 |                       |             |
| C9  | 3,44 ± 0,25  | T8                        | 6,75 ± 0,62  |                       |             |
| C10   | 1,36 ± 0,00  | T9                        | 26,2 ± 0,61  |                       |             |
| C11   | 1,69 ± 0,34  | T10                       | 31,8 ± 0,42  |                       |             |
| C12   | 1,18 ± 0,25  | T11                       | 26,9 ± 0,42  |                       |             |
| C13   | 1,17 ± 0,24  | T12                       | 67,3 ± 1,80  |                       |             |
| C14   | 2,09 ± 0,25  | T13                       | 28,7 ± 0,35  |                       |             |
| C15   | 2,04 ± 0,24  | T14                       | 30,5 ± 0,40  |                       |             |
| C16   | 1,89 ± 0,18  | T15                       | 22,3 ± 0,61  |                       |             |
| C17   | 2,53 ± 0,24  | T16                       | 14,5 ± 0,84  |                       |             |
| C18   | 2,63 ± 0,20  | T17                       | 10,5 ± 0,23  |                       |             |
| N<br>Limite Inferior (LI):<br>Limite Superior (LS):<br>Média Aritmética:<br>Média Geométrica:<br>Mediana:<br>*90 %: | 17<br>0,75<br>3,44<br>1,73 ± 0,68<br>1,61 ± 1,48<br>1,70<br>2,53 | T18                       | 18,6 ± 0,83  |                       |             |
|   |  | T19                       | 12,7 ± 0,53  |                       |             |
|   |  | T20                       | 15,8 ± 0,42  |                       |             |
|   |  | T21                       | 17,0 ± 0,42  |                       |             |
|   |  | T22                       | 21,0 ± 0,78  |                       |             |
|   |  | T30                       | 26,5 ± 0,14  |                       |             |
|   |  | T31                       | 53,0 ± 0,85  |                       |             |
|   |  | T32                       | 59,2 ± 4,05  |                       |             |
|   |  | T34                       | 62,5 ± 1,41  |                       |             |
|   |  | T35                       | 92,2 ± 5,08  |                       |             |
|   |  | T36                       | 68,2 ± 1,92  |                       |             |
|   |  | T37                       | 22,7 ± 0,36  |                       |             |
|   |  |                           |              | N                     | 29          |
|   |  |                           |              | Limite Inferior (LI): | 6,8         |
|   |  |                           |              | Limite Superior (LS): | 92,2        |
|   |  |                           |              | Média Aritmética:     | 28,4 ± 22,0 |
|   |  |                           |              | Média Geométrica:     | 22,0 ± 2,05 |
|   |  | Mediana:                  | 21,0         |                       |             |
|   |  | *90 %:                    | 62,5         |                       |             |

**Tabela C18:** Resultados de **Cd** em amostras de **sangue bovino** do frigorífico Frimasa (grupo **Controle**) e de Santo Amaro da Purificação (grupo **Exposto**).

| Grupo Controle<br>(código)   | Cd (mg/dL)           | Grupo Exposto<br>(código)    | Cd (mg/dL)           |
|------------------------------|----------------------|------------------------------|----------------------|
| C1                           | 0,144 ± 0,005        | T1                           | 0,149 ± 0,007        |
| C2                           | 0,119 ± 0,003        | T2                           | 0,200 ± 0,007        |
| C3                           | 0,218 ± 0,004        | T3                           | 0,138 ± 0,003        |
| C4                           | 0,215 ± 0,004        | T4                           | 0,140 ± 0,005        |
| C5                           | 0,129 ± 0,004        | T5                           | 0,134 ± 0,005        |
| C6                           | 0,170 ± 0,003        | T6                           | 0,147 ± 0,000        |
| C7                           | 0,172 ± 0,005        | T7                           | 0,145 ± 0,003        |
| C9                           | 0,164 ± 0,011        | T8                           | 0,132 ± 0,005        |
| C10                          | 0,149 ± 0,024        | T9                           | 0,146 ± 0,006        |
| C11                          | 0,160 ± 0,004        | T10                          | 0,183 ± 0,004        |
| C12                          | 0,149 ± 0,006        | T11                          | 0,186 ± 0,006        |
| C13                          | 0,171 ± 0,006        | T12                          | 0,121 ± 0,003        |
| C14                          | 0,147 ± 0,004        | T13                          | 0,122 ± 0,003        |
| C15                          | 0,163 ± 0,007        | T14                          | 0,121 ± 0,051        |
| C16                          | 0,139 ± 0,005        | T15                          | 0,361 ± 0,004        |
| C17                          | 0,151 ± 0,002        | T16                          | 0,099 ± 0,005        |
| C18                          | 0,167 ± 0,004        | T17                          | 0,095 ± 0,006        |
| <b>N</b>                     | <b>17</b>            | T18                          | 0,099 ± 0,002        |
| <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>0,119</b>         | T19                          | 0,145 ± 0,000        |
| <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>0,218</b>         | T20                          | 0,098 ± 0,000        |
| <b>Média Aritmética:</b>     | <b>0,160 ± 0,026</b> | T21                          | 0,090 ± 0,003        |
| <b>Média Geométrica:</b>     | <b>0,159 ± 1,17</b>  | T22                          | 0,081 ± 0,008        |
| <b>Mediana:</b>              | <b>0,160</b>         | T30                          | 0,093 ± 0,005        |
| <b>*90 %:</b>                | <b>0,172</b>         | T31                          | 0,096 ± 0,005        |
|                              |                      | T32                          | 0,084 ± 0,003        |
|                              |                      | T34                          | 0,092 ± 0,004        |
|                              |                      | T35                          | 0,123 ± 0,012        |
|                              |                      | T36                          | 0,088 ± 0,005        |
|                              |                      | T37                          | 0,096 ± 0,005        |
|                              |                      | <b>N</b>                     | <b>29</b>            |
|                              |                      | <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>0,081</b>         |
|                              |                      | <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>0,36</b>          |
|                              |                      | <b>Média Aritmética:</b>     | <b>0,131 ± 0,054</b> |
|                              |                      | <b>Média Geométrica:</b>     | <b>0,124 ± 1,38</b>  |
|                              |                      | <b>Mediana:</b>              | <b>0,122</b>         |
|                              |                      | <b>*90 %:</b>                | <b>0,183</b>         |

**Tabela C19:** Distribuição do número de **alterações cromossômicas** encontradas nas amostras de **sangue dos animais** dos grupos **Exposto** e **Controle**.

| Grupos<br>(código) |       | Total de células<br>analisadas |            | Total de células<br>com alterações<br>cromossômicas |           | Tipo de alteração<br>cromossômica |          |               |          |
|--------------------|-------|--------------------------------|------------|---|-----------|-----------------------------------|----------|---------------|----------|
|                    |       |                                |            |   |           | Quebra                            |          | Pulverizações |          |
| Exp.               | Cont. | Exp.                           | Cont.      | Exp.  | Cont.     | Exp.                              | Cont.    | Exp.          | Cont.    |
| T1                 | C1    | 55                             | 30         | 28  | 2         | -                                 | 1        | 28            | 1        |
| T2                 | C2    | 20                             | 70         | 18  | 2         | -                                 | -        | 18            | 2        |
| T3                 | C3    | 67                             | 40         | 8   | 1         | 2                                 | 1        | 3             | -        |
| T4                 | C4    | 66                             | 20         | 40  | -         | 6                                 | -        | 31            | -        |
| T5                 | C5    | 80                             | 70         | 11  | 3         | 1                                 | -        | 8             | 3        |
| T6                 | C6    | 70                             | 20         | 3   | 1         | -                                 | -        | 1             | 1        |
| T7                 | C7    | 80                             | 60         | 9   | 1         | 1                                 | 1        | 5             | -        |
| T8                 | C8    | 80                             | 50         | 8   | 1         | 2                                 | -        | 4             | 1        |
| T9                 | C9    | 80                             | 30         | 6   | -         | 3                                 | -        | 2             | -        |
| T10                | C10   | 70                             | 80         | 14  | -         | 3                                 | -        | 6             | -        |
| T11                |       | 70                             |            | 13  |           | 3                                 |          | 10            |          |
| T12                |       | 70                             |            | 10  |           | 2                                 |          | 6             |          |
| T13                |       | 80                             |            | 7   |           | 1                                 |          | 5             |          |
| T14                |       | 90                             |            | 9   |           | 2                                 |          | 5             |          |
| T15                |       | 80                             |            | 18  |           | 1                                 |          | 17            |          |
| T16                |       | 80                             |            | 11  |           | 1                                 |          | 8             |          |
| T17                |       | 80                             |            | 12  |           | 9                                 |          | 2             |          |
| T18                |       | 60                             |            | 17  |           | 3                                 |          | 8             |          |
| <b>TOTAL</b>       |       | <b>1278</b>                    | <b>470</b> | <b>242</b>  | <b>11</b> | <b>40</b>                         | <b>3</b> | <b>167</b>    | <b>8</b> |

(Adaptado do original de Braça, J.R.M., 1995)

Tabela C20: Resultados de Pb e Cd em amostras de sangue de mulheres do grupo Controle (Jequié).

| Código | Amostra                      | Pb (mg/dL)         | Cd (mg/dL)             |
|--------|------------------------------|--------------------|------------------------|
| S16    | 00101                        | 28,7 ± 1,8         | 0,0535 ± 0,0466        |
| S17    | 01515                        | 10,5 ± 0,3         | 0,0353 ± 0,0233        |
| S18    | 01414                        | 4,74 ± 0,60        | 0,0403 ± 0,0466        |
| S19    | 00707                        | 13,9 ± 1,5         | 0,0419 ± 0,0233        |
| S20    | 00505                        | 5,81 ± 0,30        | 0,0386 ± 0,0233        |
| S21    | 00606                        | 9,23 ± 0,91        | 0,0403 ± 0,0933        |
| S22    | 01313                        | 11,2 ± 1,3         | 0,0469 ± 0,0000        |
| S23    | 00404                        | 9,66 ± 0,30        | 0,0419 ± 0,0233        |
| S24    | 00808                        | 5,38 ± 0,30        | 0,0436 ± 0,0466        |
| S25    | 01212                        | 9,66 ± 0,91        | 0,0518 ± 0,0233        |
| S26    | 00202                        | 5,31 ± 0,99        | 0,0419 ± 0,0233        |
| S27    | 01111                        | 3,55 ± 0,00        | 0,0452 ± 0,0233        |
| S28    | 00303                        | 25,1 ± 0,4         | 0,0386 ± 0,0700        |
| S29    | 00909                        | 18,3 ± 0,4         | 0,0370 ± 0,0933        |
| S30    | 01010                        | 21,7 ± 0,0         | 0,0502 ± 0,0000        |
| S31    | 02020                        | 46,4 ± 2,5         | 0,0662 ± 0,011         |
| S32    | 02525                        | 36,0 ± 0,9         | 0,0345 ± 0,009         |
| S33    | 01919                        | 40,1 ± 0,3         | 0,0605 ± 0,007         |
| S34    | 02424                        | 30,8 ± 1,5         | 0,0691 ± 0,008         |
| S35    | 02929                        | 33,0 ± 1,6         | 0,0576 ± 0,012         |
| S36    | 01818                        | 26,1 ± 3,0         | 0,0605 ± 0,006         |
| S37    | 01717                        | 13,1 ± 0,26        | 0,0883 ± 0,02          |
| S38    | 02222                        | 14,5 ± 0,25        | 0,0461 ± 0,009         |
| S39    | 02727                        | 11,9 ± 0,28        | 0,0892 ± 0,01          |
| S40    | 00000                        | 9,53 ± 0,48        | 0,0614 ± 0,018         |
| S41    | 02828                        | 4,87 ± 0,00        | 0,0461 ± 0,000         |
| S42    | 01616                        | 12,1 ± 0,10        | 0,0653 ± 0,010         |
| S43    | 02121                        | 12,2 ± 0,45        | 0,1065 ± 0,010         |
| S44    | 02626                        | 17,9 ± 0,58        | 0,0691 ± 0,009         |
| S45    | 02323                        | 7,94 ± 0,12        | 0,0633 ± 0,007         |
|        | <b>N</b>                     | <b>30</b>          | <b>30</b>              |
|        | <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>3,50</b>        | <b>0,0102</b>          |
|        | <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>46,4</b>        | <b>0,1850</b>          |
|        | <b>Média Aritmética:</b>     | <b>16,6 ± 11,6</b> | <b>0,0523 ± 0,0335</b> |
|        | <b>Média Geométrica:</b>     | <b>13,2 ± 2,01</b> | <b>0,0448 ± 1,775</b>  |
|        | <b>Mediana:</b>              | <b>12,2</b>        | <b>0,0487</b>          |
|        | <b>*90 %:</b>                | <b>33,0</b>        | <b>0,0806</b>          |

Tabela C21: Resultados de Pb e Cd em amostras de sangue de mulheres do grupo Exposto (Santo Amaro).

| Código | Amostra                      | Pb (mg/dL)        | CdS (mg/dL)            |
|--------|------------------------------|-------------------|------------------------|
| S1     | (10701)                      | 13,4 ± 1,4        | 0,0502 ± 0,047         |
| S2     | (11501)                      | 8,97 ± 0,70       | 0,0634 ± 0,047         |
| S3     | (10401)                      | 7,15 ± 1,43       | 0,0485 ± 0,070         |
| S4     | (10101)                      | 13,4 ± 0,6        | 0,0452 ± 0,070         |
| S5     | (10801)                      | 3,51 ± 0,29       | 0,0485 ± 0,023         |
| S6     | (10201)                      | 24,4 ± 0,0        | 0,0798 ± 0,047         |
| S7     | (11401)                      | 8,97 ± 0,57       | 0,0732 ± 0,047         |
| S8     | (11201)                      | 3,30 ± 0,00       | 0,0436 ± 0,047         |
| S9     | (11301)                      | 5,73 ± 0,57       | 0,0535 ± 0,000         |
| S10    | (11101)                      | 6,27 ± 0,84       | 0,1771 ± 0,023         |
| S11    | (10901)                      | 6,14 ± 1,07       | 0,0568 ± 0,000         |
| S12    | (10501)                      | 15,3 ± 1,4        | 0,0667 ± 0,047         |
| S13    | (10301)                      | 3,46 ± 0,00       | 0,0403 ± 0,047         |
| S14    | (10601)                      | 14,8 ± 0,9        | 0,1161 ± 0,000         |
| S15    | (11001)                      | 9,87 ± 1,81       | 0,0568 ± 0,000         |
| S16    | (12401)                      | 19,0 ± 1,2        | 0,0829 ± 0,013         |
| S17    | (11901)                      | 16,3 ± 1,4        | 0,0777 ± 0,006         |
| S18    | (11601)                      | 16,7 ± 0,6        | 0,0835 ± 0,024         |
| S19    | (12301)                      | 20,2 ± 0,5        | 0,0864 ± 0,015         |
| S20    | (12601)                      | 18,9 ± 0,0        | 0,1123 ± 0,02          |
| S21    | (11602)                      | 23,8 ± 0,9        | 0,0633 ± 0,012         |
| S22    | (12101)                      | 21,3 ± 1,3        | 0,0806 ± 0,009         |
| S23    | (12604)                      | 32,6 ± 1,4        | 0,1180 ± 0,01          |
| S24    | (11801)                      | 18,3 ± 1,1        | 0,0835 ± 0,011         |
| S25    | (12001)                      | 23,9 ± 0,7        | 0,0605 ± 0,006         |
| S26    | (12603)                      | 11,0 ± 0,3        | 0,1756 ± 0,01          |
| S27    | (12501)                      | 5,74 ± 0,27       | 0,0599 ± 0,015         |
| S28    | (12701)                      | 10,1 ± 0,33       | 0,0852 ± 0,017         |
| S29    | (12602)                      | 8,91 ± 0,59       | 0,0950 ± 0,020         |
| S30    | (12201)                      | 3,64 ± 0,40       | 0,0936 ± 0,01          |
|        | <b>N</b>                     | <b>30</b>         | <b>30</b>              |
|        | <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>3,30</b>       | <b>0,0293</b>          |
|        | <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>32,6</b>       | <b>0,1164</b>          |
|        | <b>Média Aritmética:</b>     | <b>13,2 ± 7,6</b> | <b>0,0471 ± 0,0187</b> |
|        | <b>Média Geométrica:</b>     | <b>10,9 ± 1,9</b> | <b>0,0446 ± 1,365</b>  |
|        | <b>Média:</b>                | <b>12,2</b>       | <b>0,0427</b>          |
|        | <b>Mediana:</b>              | <b>23,8</b>       | <b>0,0687</b>          |
|        | <b>*90 %:</b>                |                   |                        |

**Tabela C22:** Resultados de **Cd** em amostras de **urina** de **mulheres** do grupo **Controle** (Jequié).

| <b>Código</b> | <b>Amostra</b>               | <b>Cd (mg/L)</b>     |
|---------------|------------------------------|----------------------|
| A10           | 00101                        | 0,227 ± 0,017        |
| A11           | 00202                        | 0,215 ± 0,012        |
| A12           | 00505                        | 0,219 ± 0,029        |
| A13           | 00404                        | 0,268 ± 0,017        |
| A14           | 00303                        | 0,236 ± 0,026        |
| A15           | 00909                        | 0,250 ± 0,033        |
| A16           | 00606                        | 0,231 ± 0,012        |
| A17           | 01010                        | 0,231 ± 0,016        |
| A18           | 00707                        | 0,247 ± 0,03         |
| A19           | 00808                        | 0,395 ± 0,012        |
| A20           | 01212                        | 0,276 ± 0,045        |
| A21           | 01515                        | 0,187± 0,021         |
| A22           | 01313                        | 0,215 ± 0,000        |
| A23           | 01111                        | 0,239 ± 0,030        |
| A24           | 01414                        | 0,261± 0,025         |
| U1            | 01616                        | 0,632 ± 0,037        |
| U2            | 02626                        | 0,105 ± 0,037        |
| U3            | 02929                        | 0,681 ± 0,068        |
| U4            | 01818                        | 0,110 ± 0,023        |
| U5            | 01919                        | 0,310 ± 0,045        |
| U6            | 02424                        | 0,574 ± 0,037        |
| U7            | 02828                        | 0,457 ± 0,067        |
| U8            | 02323                        | 0,679 ± 0,067        |
| U9            | 02222                        | 0,572 ± 0,050        |
| U10           | 01717                        | 0,318 ± 0,064        |
| U11           | 02020                        | 0,718 ± 0,020        |
| U12           | 03030                        | 0,812 ± 0,090        |
| U13           | 02727                        | 0,404 ± 0,075        |
| U14           | 02121                        | 0,388 ± 0,033        |
| U15           | 02525                        | 0,214 ± 0,023        |
|               | <b>N</b>                     | <b>30</b>            |
|               | <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>0,105</b>         |
|               | <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>0,815</b>         |
|               | <b>Média Aritmética:</b>     | <b>0,355 ± 0,194</b> |
|               | <b>Média Geométrica:</b>     | <b>0,310 ± 1,69</b>  |
|               | <b>Mediana:</b>              | <b>0,265</b>         |
|               | <b>*90 %:</b>                | <b>0,679</b>         |



**Tabela C23:** Resultados de **Cd** em amostras de **urina** de **mulheres** do grupo **Exposto** (Santo Amaro).

| <b>Código</b> | <b>Amostra</b>               | <b>Cd (mg/L)</b>     |
|---------------|------------------------------|----------------------|
| A1            | 10501                        | 0,173 ± 0,0326       |
| A2            | 10701                        | 0,166 ± 0,000        |
| A3            | 10201                        | 0,157 ± 0,005        |
| A4            | 10101                        | 0,117 ± 0,004        |
| A5            | 11001                        | 0,295 ± 0,101        |
| A6            | 11301                        | 0,117 ± 0,004        |
| A7            | 10601                        | 0,157 ± 0,050        |
| A8            | 10801                        | 0,125 ± 0,004        |
| A9            | 10401                        | 0,173 ± 0,045        |
| A25           | 11101                        | 0,288 ± 0,036        |
| A26           | 10301                        | 0,133 ± 0,012        |
| A27           | 11501                        | 0,0755 ± 0,00        |
| A28           | 10901                        | 0,239 ± 0,000        |
| A29           | 11401                        | 0,149 ± 0,000        |
| U31           | 12001                        | 0,535 ± 0,067        |
| U32           | 12101                        | 0,749 ± 0,049        |
| U33           | 12301                        | 3,374 ± 0,103        |
| U34           | 12401                        | 0,896 ± 0,032        |
| U35           | 11602                        | 0,681 ± 0,075        |
| U36           | 12604                        | 1,11 ± 0,068         |
| U37           | 12701                        | 0,708 ± 0,055        |
| U38           | 12501                        | 1,02 ± 0,055         |
| U39           | 12601                        | 0,689 ± 0,023        |
| U40           | 11201                        | 0,650 ± 0,050        |
| U41           | 11801                        | 0,935 ± 0,093        |
| U42           | 12602                        | 0,562 ± 0,103        |
| U43           | 11601                        | 0,913 ± 0,107        |
| U44           | 12603                        | 0,562 ± 0,020        |
| U45           | 11901                        | 1,10 ± 0,090         |
|               | <b>N</b>                     | <b>30</b>            |
|               | <b>Limite Inferior (LI):</b> | <b>0,0755</b>        |
|               | <b>Limite Superior (LS):</b> | <b>3,374</b>         |
|               | <b>Média Aritmética:</b>     | <b>0,565 ± 0,632</b> |
|               | <b>Média Geométrica:</b>     | <b>0,362 ± 2,61</b>  |
|               | <b>Mediana:</b>              | <b>0,415</b>         |
|               | <b>*90 %:</b>                | <b>1,021</b>         |

**Tabela C24:** Distribuição de frequência (número absoluto e percentual acumulado) de alterações cromossômicas em mulheres de Jequié e Santo Amaro.

| Percentual de Alterações Cromossômicas | Jequié    |             | Santo Amaro |             |
|--|-----------|-------------|-------------|-------------|
|  | N         | % acumulado | N           | % acumulado |
| 0                                      | 5         | 16,7        | -           | -           |
| 2                                      | 11        | 53,3        | -           | -           |
| 4                                      | 10        | 86,7        | 3           | 10,0        |
| 6                                      | 2         | 93,3        | 3           | 20,0        |
| 8                                      | 2         | 100,0       | 2           | 26,7        |
| 10                                     | -         | -           | 1           | 30,0        |
| 12                                     | -         | -           | 6           | 50,0        |
| 14                                     | -         | -           | 6           | 70,0        |
| 16                                     | -         | -           | 3           | 80,0        |
| 18                                     | -         | -           | 2           | 86,7        |
| 20                                     | -         | -           | -           | -           |
| 22                                     | -         | -           | 3           | 96,7        |
| 24                                     | -         | -           | 1           | 100,0       |
| <b>TOTAL</b>                           | <b>30</b> | <b>-</b>    | <b>30</b>   | <b>-</b>    |

(Carvalho et al., 2001)

**Tabela C25:** Distribuição de frequências (número absoluto e percentual acumulado) de alterações cromossômicas com a técnica de adição de Mitomycina C (MMC) em sangue de mulheres de Jequié e de Santo Amaro.

| Percentual de Alterações Cromossômicas (com MMC) | Jequié    |             | Santo Amaro |             |
|--|-----------|-------------|-------------|-------------|
|  | n         | % acumulado | n           | % acumulado |
| 5 - 9  | 14        | 46,7        | -           | -           |
| 10 - 14  | 13        | 90,0        | -           | -           |
| 15 - 19  | 3         | 100,0       | 5           | 16,3        |
| 20 - 24  | -         | -           | 5           | 33,3        |
| 25 - 29  | -         | -           | 15          | 83,3        |
| 30 - 31  | -         | -           | 5           | 100,0       |
| <b>TOTAL</b>                                     | <b>30</b> | <b>-</b>    | <b>30</b>   | <b>-</b>    |

(Carvalho et al., 2001)

**Tabela C26:** Média e desvio padrão da proporção de alterações cromossômicas segundo dois métodos em 30 mulheres do Jequié e em 30 mulheres de Santo Amaro.

| Percentual de Alterações Cromossômicas | Jequié     |            | Santo Amaro |            | P            |
|--|------------|------------|-------------|------------|--------------|
|  | $\bar{x}$  | s          | $\bar{x}$   | s          |              |
| Método convencional                    | 1,5        | 1,7        | 5,7         | 3,1        | 0,000        |
| Método Banda G                         | 1,5        | 1,5        | 7,1         | 4,3        | 0,000        |
| <b>TOTAL</b>                           | <b>3,0</b> | <b>2,1</b> | <b>12,8</b> | <b>5,6</b> | <b>0,000</b> |

(Carvalho et al., 2001)

**Tabela C27:** Média e desvio padrão da proporção de alterações cromossômicas com a técnica de adição de Mitomycina C (MMC) segundo dois métodos em sangue de 30 mulheres de Jequié e 30 mulheres de Santo Amaro.

| Percentual de Alterações Cromossômicas (com MMC) | Jequié      |            | Santo Amaro |            | P            |
|--|-------------|------------|-------------|------------|--------------|
|  | $\bar{x}$   | s          | $\bar{x}$   | s          |              |
| Método convencional                              | 11,8        | 5,2        | 27,9        | 7,5        | 0,000        |
| Método Banda G                                   | 8,5         | 3,3        | 22,0        | 5,8        | 0,000        |
| <b>TOTAL</b>                                     | <b>10,1</b> | <b>3,1</b> | <b>24,9</b> | <b>4,0</b> | <b>0,000</b> |

(Carvalho et al., 2001)

**Tabela C28:** Coeficientes de regressão linear e de correlação linear bivariadas e respectivo nível de significância para variáveis selecionadas, em 30 mulheres de Santo Amaro e em 30 mulheres de Jequié.

| Local       | Variáveis associadas                         | Coeficiente regressão linear (b) | Coeficiente de correlação linear (r) | P <   |
|-------------|--|----------------------------------|--------------------------------------|-------|
| Santo Amaro | Alt.cromossômicas (%) X Idade (anos)         | - 0,030                          | - 0,047                              | 0,81  |
| Jequié      | Alt.cromossômicas (%) X Idade (anos)         | 0,025                            | - 0,10                               | 0,59  |
| Santo Amaro | Alt.cromossômicas MMC (%) X Idade (anos)     | - 0,166                          | - 0,170                              | 0,37  |
| Jequié      | Alt.cromossômicas MMC (%) X Idade (anos)     | - 0,038                          | - 0,055                              | 0,77  |
| Santo Amaro | Alt.cromossômicas (%) X PbS (µg/dL)          | 0,025                            | 0,075                                | 0,69  |
| Jequié      | Alt.cromossômicas (%) X PbS (µg/dL)          | 0,009                            | 0,100                                | 0,60  |
| Santo Amaro | Alt.cromossômicas MMC (%) X PbS (µg/dL)      | 0,021                            | 0,041                                | 0,83  |
| Jequié      | Alt.cromossômicas MMC (%) X PbS (µg/dL)      | - 0,082                          | - 0,309                              | 0,10  |
| Santo Amaro | Alt.cromossômicas (%) X log CdU (µg/dL)      | 1,477                            | 0,242                                | 0,19  |
| Jequié      | Alt.cromossômicas (%) X log CdU (µg/dL)      | 0,180                            | 0,040                                | 0,83  |
| Santo Amaro | Alt.cromossômicas MMC (%) X log CdU (µg/dL)  | 2,354                            | 0,247                                | 0,189 |
| Jequié      | Alt.cromossômicas MMC (%) X log CdU, (µg/dL) | 0,096                            | 0,007                                | 0,970 |
| Santo Amaro | PbS (µg/dL) X log CdU (µg/dL)                | 9,020                            | 0,495                                | 0,005 |
| Jequié      | PbS (µg/dL) X log CdU (µg/dL)                | 4,433                            | 0,088                                | 0,645 |

(Carvalho et al., 2001)

## D. Testes Citogenéticos

### D.1. Sangue Bovino

Esta parte do trabalho foi realizada pela então estudante de Biologia Jaqueline R. M. Braga, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Neli de Almeida Melo, tendo como principal objetivo a avaliação do efeito mutagênico da exposição ao Pb e ao Cd em bovinos (*Bos indicus*) na cidade de Santo Amaro da Purificação, Bahia.

As etapas do procedimento dos testes mutagênicos são transcritas a seguir:

#### 1. Preparo do meio de cultura

Dissolvidos 11,1 g de meio RPMI 1640 (liofilizado SIGMA) e NaHCO<sub>3</sub> 2 g/L em 1 L de água deionizada. O pH foi ajustado para 7,2 com adição de HCl. Adicionou-se fitohemaglutinina (PHA) na proporção de 5 mg/L. O meio foi filtrado com a PHA e adicionada penicilina G potássica (100.000 UI) a 2 %. A solução obtida foi dividida em alíquotas de 8 mL para cada frasco de amostra e estocadas em freezer à -20°C.

#### 2. Adição de agente exógeno:

Adicionou-se à cultura a colchicina, um alcalóide antimitogênico que impede que as células em multiplicação ultrapassem a metáfase, se adicionado até 5 horas antes do término da cultura. Como a colchicina tem a propriedade de despolimerizar as fibras do fuso mitótico, impede o avanço da metáfase.

#### 3. Obtenção de Metáfases:

##### Estabelecimento da cultura:

Na cultura dos linfócitos de sangue periférico humano é feita deixando-se a amostra de sangue no tubo para sedimentação por mais ou menos 2

horas. Como o sangue bovino é mais denso e as hemácias muito pequenas, é necessária a centrifugação dos tubos contendo o sangue bovino a 500 rpm por 10 minutos. A camada dos leucócitos é recolhida com uma pipeta Pasteur, sendo adicionadas 30 gotas deste material aos 8 mL de meio previamente descongelado à temperatura ambiente, numa câmara asséptica. 1mL de soro bovino fetal deve ser adicionado ao frasco do meio de cultura antes da adição da camada de leucócitos para promover a nutrição das células em crescimento. O frasco deve ser homogeneizado suavemente e o seu conteúdo distribuído igualmente em dois outros frascos estéreis e de fundo chato para evitar a contaminação. Após isso, os frascos devidamente identificados foram incubados por 96 horas à 37°C.

#### 4. Colchicinização:

Após 95 horas de incubação, foram adicionados 2 gotas de colchicina  $4.10^{-3}$  M. A cultura permaneceu incubada à 37°C por mais 1 hora, perfazendo 96 horas.

#### 5. Hipotonização:

Após 96 horas de incubação, cada frasco foi levemente agitado e, depois de transferidos para tubos Falcon, centrifugados a 500 rpm por 5 minutos. Após o descarte do sobrenadante, acrescentou-se ao sedimento 3 mL de uma solução de KCl 0,075 M aquecida à 37°C. Após a ressuspensão delicada do sedimento, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, acrescenta-se mais solução hipotônica até completar 10 mL. O tubo é mantido em estufa por mais 15 minutos.

#### 6. Fixação:

Ao tubo retirado da estufa, são adicionados 0,5 mL de fixador (3 partes de metanol + 1 parte de ácido acético glacial) para interromper a hipotonização. O tubo é então centrifugado a 500 rpm por 5 minutos. O

sobrenadante é descartado e acrescentam-se 5 mL de fixador. Este procedimento é repetido até que a preparação celular esteja límpida. Após a última centrifugação, cerca de 0,5 mL do fixador devem ser mantidos para garantir uma suspensão concentrada de células.

#### **7. Preparação das lâminas:**

Duas a três gotas da suspensão celular são colocadas no centro da lâmina limpa (desengordurada e previamente mantida em geladeira, imersa em água destilada e acondicionada em frascos ou placas de Petri), com o auxílio de uma pipeta Pasteur, e secas à temperatura ambiente. De cada suspensão celular foi possível preparar 10 lâminas.

A coloração convencional consiste em banhar as lâminas durante 10 a 2 minutos em uma solução de corante de Giemsa a 3 % em tampão Sorensen (pH = 6,8). A lavagem foi feita em água corrente, com 3 a 4 jatos e a secagem é realizada ao ar, depois de escorrer bem a água das lâminas.

#### **8. Análise das lâminas:**

As lâminas foram analisadas em microscópio Zeiss usando-se filtro azul. Com a objetiva de 10 x foram escolhidas metáfases com cromossomos bem espalhados. Com a objetiva de imersão (100 x) foram analisadas 10 metáfases por lâmina, perfazendo um total de 100 metáfases por indivíduo. Contou-se assim o número de aberrações cromossômicas (AC) por célula e por indivíduo.

### **D.2. Sangue Humano (Mulheres de Santo Amaro)**

O procedimento transcrito a seguir foi efetuado por membros das equipes dos professores Dra. Neli de Almeida Melo e/ou Dr. Fernando M. Carvalho.

Uma alíquota de 10 mL de sangue foi coletada em tubos Vacutainer com heparina para cultura dos linfócitos de 48 horas e para as técnicas de análise

de alterações cromossômicas. Um mL de sangue total foi inoculado em meio RPMI 1640. Para estimulação, 5 mg/mL de fitohemaglutinina e soro bovino fetal foram adicionados. A cultura foi incubada durante 48h, de acordo com a técnica descrita por Moorehead et al. (1960), modificada. Às preparações citológicas foram adicionada colchicina 0,0016 M, duas horas antes do final da cultura, de forma a obter cromossomos metafásicos. Subsequentemente, as células foram tratadas com solução hipotônica de KCl a 0,075 M e fixadas com metanol mais ácido acético, na proporção de 3:1, respectivamente. As células foram coradas com giemsa e observadas sob microscopia ótica (x 1000). Os cromossomos foram analisados de forma convencional e segundo "G banding", de forma "cega", de acordo com a técnica de Evans & O'Riordan (1975) e a Conferência de Paris (ISCN, 1985). Apenas após número e estrutura, até um total de 50 metáfases por indivíduo.

O sistema de reparo celular de cada indivíduo foi avaliado pela análise das alterações cromossômicas acima descritas com a adição de Mitomycina C às culturas.