

1. INTRODUÇÃO

1.1 Bifenilas Policloradas (PCBs)

Os PCBs constituem uma classe de compostos organoclorados sintéticos formada por uma estrutura de bifenila (Figura 1), ou seja, dois anéis benzênicos ligados através de uma ligação carbono-carbono e podem apresentar de 1 a 10 átomos de cloro ao longo desta estrutura (Erickson, 1997). As diferentes combinações dos átomos de cloro podem formar até 209 diferentes estruturas, as quais são chamadas de congêneres (Breivik et al., 2002).

As Bifenilas Policloradas foram descobertas por volta do início do Século XIX na Alemanha, porém sua produção em escalas industriais ocorreu apenas por volta do ano de 1922 (Harvey e Steinhauer, 1974). Estes compostos são obtidos a partir de um processo de cloração catalítica de estruturas de bifelinas, a qual é capaz de produzir uma gama de isômeros, com diferentes graus de halogenação (Storelli et al., 2009).

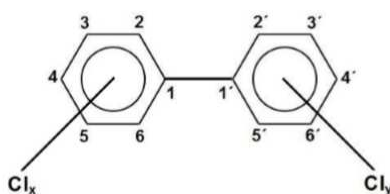


Figura 1. Representação genérica da estrutura dos PCBs.

Os PCBs foram comercializados em forma de misturas e receberam os seguintes nomes: Aroclor® nos Estados Unidos; Clophen® na Alemanha e Ascarel® no Brasil (Watts, 1998). Não há registros de produção de PCBs no Brasil e a entrada destes compostos no país ocorreu através de importações junto aos Estados Unidos e Alemanha (Penteado e Vaz, 2001).

Esta classe de compostos possui alto caráter lipofílico, baixa volatilidade e grande estabilidade química (Ferreira, 2013). Conforme o grau de halogenação na estrutura aumenta, a solubilidade e a pressão de vapor dos PCBs diminuem, ao

passo que a hidrofobicidade e o peso molecular destes compostos aumentam em virtude do aumento do número de átomos de cloro na estrutura de bifenila (Ross, 2004).

Devido às suas propriedades físico-químicas, os PCBs foram amplamente utilizados como fluidos isolantes em capacitores e transformadores, assim como em sistemas de refrigeração, em óleos lubrificantes, plásticos, tintas e vernizes (Da Silva et al., 2013; Wang et al., 2015).

Por volta da década de 1960, as Bifenilas Policloradas foram encontradas em amostras ambientais e este fato despertou a curiosidade científica acerca da toxicidade destes compostos (WHO, 1976). Com isso, em 1972, Japão e Noruega foram os primeiros países a banir o uso e a comercialização dos PCBs em seus territórios, enquanto que os Estados só tomaram estas medidas em 1977 (Azevedo e Silva et al., 2007). No Brasil, a proibição da utilização e do comércio de PCBs só ocorreu em 1981, através da Portaria Interministerial 19, mas tal proibição não atingia equipamentos ainda em uso, ou seja, se aplicava somente em novos equipamentos (Penteado e Vaz, 2001; Quinete et al., 2011).

Atualmente, os PCBs são considerados Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) e estão banidos em todo o planeta, de acordo com a Convenção de Estocolmo de 17 de maio de 2004 (www.pops.int).

A principal forma de contaminação ambiental por parte dos PCBs ocorre em função do descarte inadequado de material eletro-eletrônico obsoleto que contenha estas substâncias (Wu et al., 2008), podendo também entrar nos ambientes aquáticos através de descargas fluviais, escoamento continental ou até mesmo por deposição atmosférica, seja esta por via úmida ou seca (Dachs et al., 2002).

A toxicidade dos PCBs pode variar consideravelmente em função de sua estrutura molecular. Os compostos chamados de coplanares apresentam os congêneres substituídos na posição meta e este fato proporciona uma toxicidade semelhante à das dioxinas, as quais são capazes de formar complexos estáveis com o receptor Ahr (Aryl hydrocarbon), sendo este um receptor de proteínas citológicas presente na maioria dos tecidos dos vertebrados que possui altíssima afinidade por PCBs substituídos na posição orto (Van Den Berg et al., 2006) e induzir o citocromo P450 (King et al., 2000; Hennig et al., 2002).

Em virtude de sua alta lipofilicidade e fácil adsorção à matéria orgânica, os PCBs tendem a sofrer processos de bioacumulação em tecidos adiposos e subsequente biomagnificação ao longo da cadeia alimentar (Fasola et al., 1998; Santos-Neto et al., 2014). O processo de transferência destes compostos ao longo da cadeia alimentar, desde a sua base (fitoplâncton) até o topo (mamíferos marinhos) pode propiciar a exposição de humanos aos congêneres de PCBs, uma vez que a principal via de exposição humana ocorre através da alimentação (Borja et al., 2005).

Os PCBs podem ser absorvidos através do trato gastrointestinal, pulmões e também pela pele (Clark, 1997). Os efeitos adversos causados pela contaminação por PCBs dependem de uma série de fatores, tais como a via de exposição, idade, sexo, área do corpo contaminada, entre muitas outras (Borja et al., 2005). Alguns dos principais problemas causados pelas Bifenilas Policloradas em humanos e animais são problemas no sistema imunológico, efeitos neurotóxicos e carcinogênicos, distúrbios reprodutivos e, por fim, atuam também como interferentes endócrinos (Erickson, 1997; Stewart et al., 2003; Kannan et al., 2007). Os congêneres considerados mais tóxicos são aqueles que possuem entre 5 e 10 átomos de cloro (Sylvestre, 1985).

A contaminação por PCBs não se restringe apenas às áreas próximas às fontes, pois estes compostos são facilmente transportados ao longo da atmosfera através de um processo chamado destilação global (Lavandier et al., 2013). Além disso, estudos realizados em áreas remotas já reportaram níveis consideráveis destes contaminantes (Iwata et al., 1994).

A transferência dos PCBs através da cadeia alimentar, desde o fitoplâncton até os mamíferos, poderá propiciar a exposição dos seres humanos a estes contaminantes através da ingestão de alimentos (Azevedo e Silva et al., 2007). De acordo com Schlumer et al. (1998), os seres humanos, por ocuparem o topo da cadeia alimentar, estão sujeitos à contaminação por Bifenilas Policloradas, principalmente através da alimentação a base de frutos do mar, a qual pode corresponder pelo menos pela metade da ingestão humana de PCBs (Bocio et al., 2007).

A exposição aos PCBs por parte dos seres humanos acarreta na acumulação destes compostos em tecidos adiposos, sangue e leite materno

(Kalantzi et al., 2009). Em mamíferos, os PCBs podem ser transferidos da mãe para o feto através da placenta e para os recém-nascidos através do aleitamento (Kowalski et al., 2010).

1.2 Éteres Difenílicos Polibromados (PBDEs)

Os PBDEs são compostos utilizados como retardantes de chama e foram amplamente utilizados nas últimas décadas em televisores, computadores, no isolamento de cabos e fios e em uma gama de aparelhos eletro-eletrônicos (De Wit, 2002; Guo et al., 2015).

A produção dos Éteres Difenílicos Polibromados voltada para o comércio teve início na década de 1960, mas o grande aumento em sua produção ocorreu na década seguinte devido à grande popularização dos artigos eletro-eletrônicos, tais como televisores e, posteriormente, computadores pessoais (Borghesi et al., 2009).

Estes compostos possuem propriedades estruturais e físico-químicas muito semelhantes às dos PCBs (De Boer e Cofino, 2002). As únicas diferenças estruturais entre estas duas classes são a presença de um átomo de oxigênio entre os anéis benzênicos e as substituições dos hidrogênios nos anéis, que são realizadas pelo bromo (Figura 2) (Kalantzi et al., 2009).

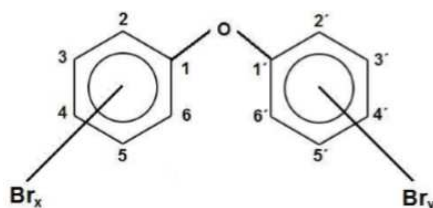


Figura 2: Representação genérica da estrutura dos PBDEs.

A produção destas substâncias ocorreu, basicamente, sob três formulações comerciais: Penta-BDE, Octa-BDE e Deca-BDE, as quais eram diferenciadas uma das outras em função do grau de halogenação dos congêneres (Law et al., 2006).

A formulação Penta-BDE é comumente encontrada em espumas de poliuretano, forros, estofamentos, cortinas, tapetes, colchões e alguns tecidos em

geral (Johnson-Restrepo et al., 2005), ao passo que a formulação Octa-BDE é encontrada principalmente em computadores e aparelhos eletrônicos (Quinete, 2010) e, por fim, a formulação Deca-BDE é utilizada em artigos da indústria têxtil, resinas, plásticos, televisores, gabinetes de computadores e em aparelhos eletrônicos em geral (Botaro e Torres, 2007).

Assim como os PCBs, o *input* dos PBDEs no meio ambiente ocorre devido ao descarte inapropriado de equipamentos eletrônicos obsoletos (Wu et al., 2008). Entretanto, essa liberação dos compostos pode ocorrer também por volatilização a partir dos aparelhos, uma vez que, com o tempo, estes compostos se desprendem dos dispositivos e são liberados (Hale et al., 2002; Frederiksen et al., 2009). A cada ano são descartadas mais de 50 milhões de toneladas de lixo eletrônico (*e-waste*) ao redor do planeta e a maior parte deste montante tem como destino a Ásia e África (Lee et al., 2015).

Em virtude dos efeitos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente, as formulações Penta-BDE e Octa-BDE foram banidas do mercado europeu no ano de 1998 e nos Estados Unidos a proibição ocorreu em 2004 (Muenhor et al., 2010; Lavandier, 2011). Já a formulação Deca-BDE só foi proibida na União Europeia no ano de 2008 e no mercado dos Estados Unidos em 2013 (Alonso et al., 2014).

Dentre todos os congêneres de PBDEs, os mais comumente encontrados em amostras ambientais são o BDE-47 e BDE-99 (De Boer e Cofino, 2002). A determinação de PBDEs em amostras ambientais ocorre desde a década de 1970, porém apenas na década de 1980 estes compostos foram reconhecidos como potenciais poluentes (Kalantzi et al., 2009).

Uma vez que os PBDEs são liberados no meio ambiente, estes podem bioacumular em tecidos adiposos e sofrer processos de biomagnificação ao longo da cadeia alimentar, devido ao alto grau de lipofilicidade dos compostos e de sua grande persistência (Alaee e Wenning, 2002). Podem também sofrer transporte para áreas remotas através de correntes marinhas, seres vivos e também por material particulado (De Wit et al., 2006). Pesquisas recentes apontam que os níveis de PBDEs detectados em amostras ambientais sofreram um grande aumento na última década e apontam estes poluentes como um dos principais contaminantes emergentes da atualidade (Stapleton et al., 2014; Kobayashi et al., 2015; Wild et al., 2015).

De acordo com a Convenção de Estocolmo, os PBDEs também são considerados POPs, os quais possuem como principais características a longa permanência no meio ambiente, bioacumulação através da cadeia alimentar e podem causar efeitos adversos à saúde humana e também ao meio ambiente (Xia et al., 2008).

Estudos realizados comprovaram que a exposição aos congêneres BDE-47 e BDE-99 em períodos de desenvolvimento cerebral pode causar distúrbios neurológicos severos e afetar o comportamento motor do indivíduo (Meironyte Guvenius et al., 2001). As principais complicações cerebrais causadas são perda de memória, distúrbios comportamentais e diminuição na aprendizagem (Law et al., 2003; Cetin e Odabasi, 2008).

Os congêneres que apresentam menor grau de halogenação (tetra, penta e hexa-BDEs) conseguem penetrar no corpo humano com certa facilidade através da pele, dos pulmões e também através do trato gastrointestinal. Desta forma, atingem a corrente sanguínea (Li et al., 2005) e podem permanecer no organismo por até 30 anos, devido à sua alta lipofilicidade (Botaro e Torres, 2007).

Algumas alterações nas funções reprodutivas humanas, tais como o atraso no início da puberdade ou a baixa produção de espermatozoides, estão diretamente relacionadas à exposição aos PBDEs (Lilienthal et al., 2006). Além disso, os PBDEs e seus metabólitos hidroxilados podem atuar como eficazes competidores pelo sítio de ligação nos receptores dos hormônios tireoidianos (Figura 3), ou seja, podem atuar como interferentes endócrinos (Richardson et al., 2008).

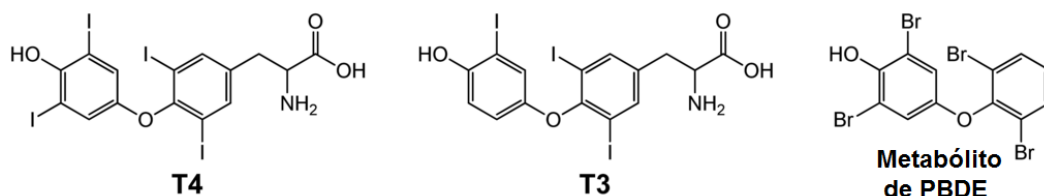


Figura 3: Estruturas moleculares dos hormônios T4 e T3 e de um metabólito de PBDE. Adaptado de (Albers et al., 2013).

A contaminação de seres humanos ocorre, principalmente, através da exposição doméstica e da alimentação (Stapleton et al., 2014). A poeira doméstica é a principal fonte de contaminação humana por PBDEs, visto que uma pessoa

pode inalar por dia entre 20 a 200 mg de detritos suspensos no ar (Johnson-Restrepo et al., 2005). Já a alimentação baseada em frutos do mar se enquadra na principal via de exposição dos seres humanos aos PBDEs (Miyake et al., 2008).

Estudos realizados estimam que, devido ao crescente aumento dos níveis de PBDEs no meio ambiente, os níveis de PBDEs podem superar os níveis dos PCBs, que estão diminuindo ao longo dos anos (Breivik et al., 2011).

1.3 Pesticidas Organoclorados (OCPs)

Esta classe de poluentes constitui a primeira geração de compostos utilizados no controle de pragas na agricultura, preservação de madeira e controle de vetores de algumas doenças (Flores *et al.*, 2004). Os OCPs podem ser naturais ou sintéticos e compreendem como principais constituintes desta classe os inseticidas, herbicidas e fungicidas (Costa e Teixeira, 2012).

Dentre os pesticidas organoclorados, os mais conhecidos são e utilizados no são:

- **DDT:** O diclorodifeniltricloroetano é o pesticida organoclorado mais conhecido e foi uma das substâncias sintéticas mais utilizadas no Século XX. Foi banido em diversos países em razão de sua altíssima toxicidade (ATSDR, 2002). As substâncias DDE e DDD são produtos de degradação do DDT e ocorrem devido a biotransformações no solo, volatilização e consequente reação com a luz solar, sendo mais resistentes à degradação do que o pesticida inicial (D'Amato et al., 2002; Santos-Neto et al., 2014).

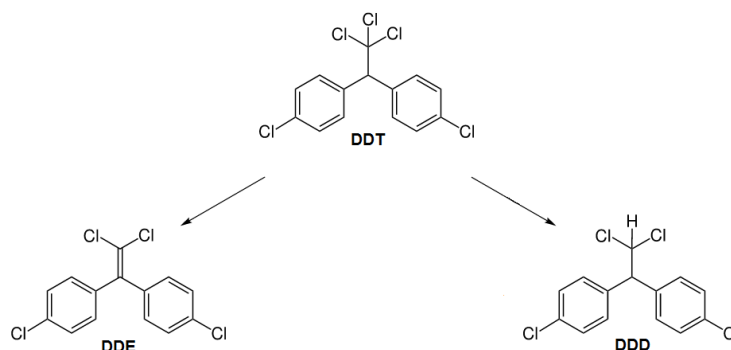


Figura 4: Estruturas químicas do DDT e seus metabólitos.

- **HCHs:** O hexaclorocicloexano pode ser encontrado sob a forma de vários isômeros, tais como α , β , γ e δ . Estes compostos foram amplamente utilizados como inseticidas, principalmente sob a forma do isômero γ -HCH, também conhecido como Lindano (Montone et al., 2005), mas também estavam presentes em produtos industrializados, tais como xampus anticaspa, loções, cremes e aerossóis (WHO, 1982).

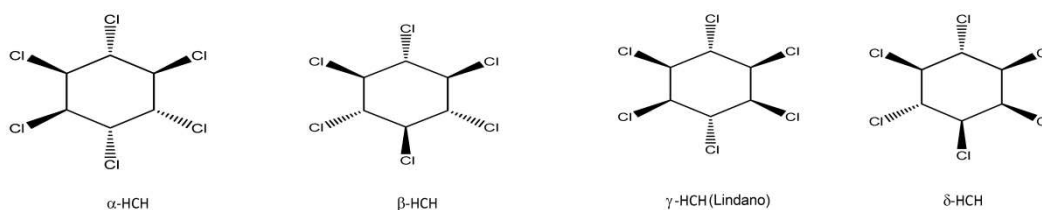


Figura 5: Estrutura química dos isômeros de HCHs.

- **Aldrin, Dieldrin e Endrin:** São pesticidas derivados do cicloexadieno e são muito semelhantes entre si. Foram utilizados, essencialmente, em plantações de milho, algodão e grãos (Pomerantz et al., 1978). O Dieldrin no meio ambiente é originado como produto de degradação a partir Aldrin, sob a ação de luz solar e de reações com bactérias (Jorgenson, 2001; Doong et al., 2002).

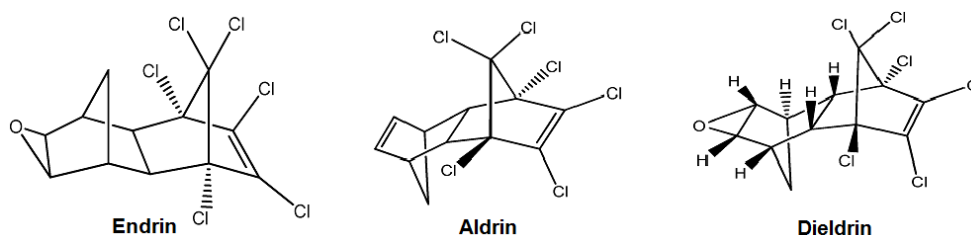


Figura 6: Estrutura química do Endrin, Aldrin e Dieldrin.

- **HCB:** O hexaclorobenzeno foi descoberto na década de 1930 e aplicado como fungicida no tratamento de sementes e conservante de madeira, mas também foi utilizado em substâncias pirotécnicas de uso militar, matéria prima para borracha, intermediário de síntese, entre outros (Johnson-Restrepo et al., 2005; Li et al., 2005; Zhang e Lohmann, 2010).

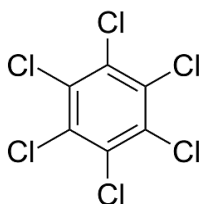


Figura 7: Estrutura química do HCB.

- **Mirex:** Foi descoberto na década de 1940, mas sua utilização como pesticida só ocorreu após o ano de 1955. Este composto é um poderoso inseticida utilizado no controle de formigas, cupins e outros insetos. Entretanto, foi também utilizado como retardante de chama (Li e Macdonald, 2005; Santos-Neto et al., 2014).

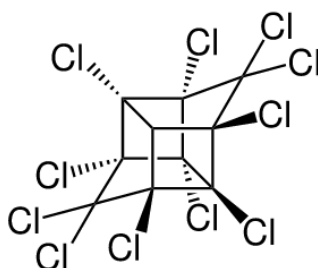


Figura 8: Estrutura química do Mirex.

A descoberta dos pesticidas organoclorados ocorreu inicialmente no Século XIX, mas sua produção em larga escala teve início em meados da Segunda Guerra Mundial, quando o DDT foi pulverizado na pele da população para prevenir doenças como o tifo. Posteriormente, este composto foi amplamente empregado no controle de pragas agrícolas, onde se destacou por sua grande eficiência e baixo custo (Konradsen et al., 2004; Leonel, 2007).

A produção de alimentos aumentou consideravelmente e foi observada uma redução significativa na proliferação de doenças, mediante a utilização dos pesticidas (Hughes, 1996). Entretanto, apesar dos aparentes benefícios gerados pelos OCPs, foi descoberto que estes compostos podem permanecer no meio ambiente por muito tempo e podem afetar diretamente os ecossistemas (WHO, 1990).

Na década de 1960, resíduos dos pesticidas organoclorados já podiam ser detectados em, praticamente, todos os ecossistemas do mundo, até mesmo em lugares remotos e este fato despertou a atenção da comunidade científica e

também da população em geral (Matuo et al., 1990). Ainda nesta mesma década, diversos países tomaram medidas para restringir a utilização dos OCPs (Flores et al., 2004).

Em 1985, o governo brasileiro estabeleceu o banimento da utilização e da comercialização de OCPs na agricultura (Storelli et al., 2009), porém estes compostos ainda são permitidos em território nacional em campanhas públicas emergenciais para o controle dos vetores da malária e leishmaniose, assim como para o controle de pragas agrícolas (D'Amato et al., 2002).

Estes compostos podem contaminar o meio ambiente de diversas formas, mas as maneiras mais comuns ocorrem em função da aplicação em plantações, a qual provoca contaminação direta dos lençóis freáticos e também do processo de manufatura das plantas já tratadas com estes pesticidas (Hagmar et al., 2006). Em sua maioria, os OCPs são compostos voláteis e possuem grande afinidade com partículas presentes no solo (Marsili e Focardi, 1997; Mazet et al., 2005).

Geralmente, estes compostos apresentam resistência à degradação química e biológica, em função da grande estabilidade de suas ligações cloro-carbono (Flores et al., 2004). Assim, muitos pesticidas organoclorados persistem no meio ambiente por mais de 100 anos até se decomporem em cloretos de menor toxicidade (Nimczick et al., 2014).

Os OCPs podem sofrer processos de bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia trófica devido à sua alta lipofilicidade (Kutz et al., 1991). Além disso, muitos pesticidas sofrem alterações na sua estrutura química durante o período em que permanecem nos vegetais em que foram aplicados ou no próprio meio ambiente (Pomerantz et al., 1978), resultando na formação de produtos de degradação ou metabólitos que, muitas vezes, são ainda mais tóxicos do que o pesticida original (Jorgenson, 2001).

Os pesticidas podem sofrer mobilização dentro do organismo dos animais através de sua corrente sanguínea, mas também podem ser transferidos através da barreira placentária ou através da amamentação (Addison, 1989). Desta forma, gerações podem ser contaminadas, mesmo sem a exposição direta às toxinas (Tanabe et al., 1991; Miranda et al., 2008).

Em seres humanos, os OCPs atuam principalmente no sistema nervoso central e sistema imunológico, podendo causar também severas lesões renais e

hepáticas (Flores et al., 2006). Alguns destes compostos podem provocar problemas cardíacos, alterações musculares, complicações ósseas e má formação fetal (Santos-Neto et al., 2014).

1.4

Isótopos estáveis de carbono e nitrogênio

Isótopos estáveis de nitrogênio e carbono tem sido aplicados nas últimas décadas de forma crescente e contínua em pesquisas agrícolas, ecológicas e também fisiológicas. Estas espécies se apresentam como uma interessante alternativa para estudar diferentes processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo em seres humanos e animais (Gannes, Del-Rio e Koch, 1998).

Esta técnica está baseada na premissa de que a razão entre o isótopo mais pesado e o mais leve ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) pode sofrer variações previsíveis, conforme o elemento faz parte de um ciclo na natureza. Sendo assim, cada transformação sofrida pela matéria orgânica (química, física ou biológica) promove uma discriminação entre os seus isótopos e isto possibilita a utilização destes como traçadores naturais (Boutton, 1991). Desta maneira, um animal, ao ingerir e assimilar um dado alimento, irá refleti-lo no sinal isotópico de seus tecidos (DeNiro e Epstein, 1978).

A composição isotópica é comumente expressa em termos de δ , que representam em partes por mil (‰) a diferença entre o isótopo na amostra analisada em relação a um padrão:

$$\delta X = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 1000$$

Onde “X” pode ser ^{13}C ou ^{15}N e “R” é a razão correspondente $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ e os aumentos nos valores de δ representam um incremento na quantidade de isótopos pesados (Pereira, 2007). Um valor de δ positivo indica que a amostra possui razão isotópica maior do que o padrão e que possui mais espécies isotópicas pesadas comparadas ao mesmo. Por outro lado, valores negativos informam que a amostra possui uma razão isotópica inferior àquela apresentada pelo padrão (Dawson e Brooks, 2001).

Através da determinação da razão isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) é possível diferenciar os animais a partir de sua fonte de carbono e identificar os padrões de distribuição (Peterson e Fry, 1987). Em ecossistemas aquáticos, por exemplo, o fitoplâncton apresenta menores valores deste isótopo estável de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) quando comparado com a maioria das plantas costeiras, de forma que é possível fazer a distinção entre fontes oceânicas ou costeiras e pelágicas ou bentônicas (Hobson, Piatt e Pitocchelli, 1994).

Os isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) são utilizados para descrever fontes de energia e relações entre níveis tróficos em cadeias alimentares terrestres e aquáticas. O fracionamento do isótopo ^{15}N ao longo da teia trófica ocorre devido a uma retenção seletiva do isótopo de maior massa atômica em função da excreção do mais leve, uma vez que este fenômeno é amplamente observado em processos metabólicos de “desaminação” e “transaminação” de aminoácidos na síntese da uréia (Dias, 2015). Os valores de ^{15}N podem fornecer medidas qualitativas referentes à tendência de bioacumulação de poluentes (Peterson e Fry, 1987) e servem como base para o estabelecimento de um nível trófico relativo entre os vários consumidores que vivem em um mesmo ambiente, visto que os organismos apresentam enriquecimento de ^{15}N à medida que ocupam níveis mais elevados na teia trófica.

De acordo com Graham et al. (2010), a composição isotópica de um dado alimento é refletida em seu consumidor. Contudo, uma grande vantagem da utilização de isótopos estáveis em relação aos estudos conduzidos com conteúdos estomacais, é que a composição isotópica fornece uma medição de forma integrada acerca do que um indivíduo vem comendo até o momento da captura.

A composição isotópica em relação a um nível trófico para o próximo pode apresentar, em algumas situações, uma mudança previsível em seu valor e essa mudança é denominada “fracionamento trófico”. Este fracionamento depende essencialmente do organismo em questão e também do alimento em questão (McCutchan Jr et al., 2003). Entretanto, algumas regras gerais podem ser empregadas em estudos preliminares: o $\delta^{13}\text{C}$ aumenta pouco mais de 1‰ de um nível trófico para o próximo, enquanto que o $\delta^{15}\text{N}$ aumenta cerca de 3‰ de um nível trófico para o seguinte (DeNiro e Epstein, 1981; Carvalho, 2008).

Os dados de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, quando correlacionados com os níveis de contaminação encontrados em algum organismo, permitem entender melhor a influência do nível trófico tanto na exposição quanto na acumulação destes contaminantes (Post et al., 2007). Sendo assim, a análise destes isótopos contribui de forma eficiente para o estudo ecológico e da dinâmica dos ecossistemas, fornecendo também suporte científico para a conservação dos mesmos.