

**BRA/08/G32: BRASIL – ESTABELECIMENTO DA GESTÃO DE RESÍDUOS DE PCB E
SISTEMA DE DISPOSIÇÃO**

RELATORIO PARCIAL

PRODUTO 01

**Detalhamento de Metodologias de análise e coleta de amostra para envio
para análise de PCBs**

Definição de modelos de etiquetas para controle de inventário

Ribeirão Preto , agosto de 2011

JANETE APARECIDA DA SILVA

Consultor Técnico GT2

CONTRATO Nº2011/000206

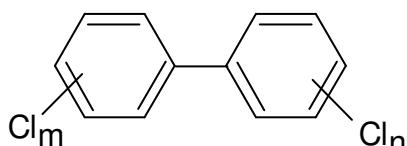
Produto 01- Relatório em formato eletrônico em Word e uma via impressa , em português, com o estudo realizado sobre procedimentos de coleta de amostras, etiquetagem e inventário, abordando os seguintes assuntos: Detalhamento de metodologias de análise e de coleta de amostras, para envio para análise de PCBs usadas, e compará-las às práticas internacionais e normas nacionais (atividade 5) e definição de modelos de etiquetas para controle de inventário. Descrição dos procedimentos de etiquetagem de amostras e equipamentos que contenham PCBs para destinação final(atividades 6 e 7).

INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais

O advento da Revolução Industrial propiciou o nascimento e o desenvolvimento da indústria química de modo que um número crescente de produtos químicos foi sendo lançado na prática industrial, sem que tal lançamento fosse precedido de estudos sobre a sua ação na saúde humana. Os resultados que se seguiram é do conhecimento de todos. Por razões diversas, muito dos produtos químicos que deveriam ficar restritos aos limites das fábricas onde foram produzidos e/ou utilizados, passaram para o meio ambiente e vieram a constituir uma ameaça à saúde, não somente dos trabalhadores das indústrias, como da população em geral. As Bifenilas Policloradas (PCBs), são exemplos típicos de produtos químicos que, ultrapassando as fronteiras das fábricas, atingiram o meio ambiente.

Os PCBs compreendem uma classe de substâncias químicas provenientes da substituição de um ou mais átomos de hidrogênio por átomos de cloro na estrutura da bifenila⁽¹⁾. Admitindo-se que nenhuma outra reação, que não a cloração, ocorra durante a síntese, e dependendo das dez posições que os átomos de cloro possam ocupar no radical bifenila, há possibilidade de se obter 209 PCBs, denominados **congêneres**, como mostrado na Figura 1.



$$m + n = 1 \text{ a } 10$$

Figura 1 - Estrutura química de um congênere

Os PCBs foram sintetizados pela primeira vez no final do último século e produzidos industrialmente por volta de 1930 como uma mistura complexa, pela cloração direta de bifenila com cloro (gás). O maior produtor mundial foi a Monsanto. Entretanto, na década de 70, a produção diminuiu , cessando em 1977. Os PCBs foram largamente usados em muitas atividades industriais durante quase quarenta anos, e descartados após o uso sem nenhuma preocupação

com o impacto ambiental, o que permitiu a difusão desses contaminantes. Não há relato de ocorrência natural dos PCBs.

Dentre os inúmeros usos comerciais dos PCBs pode-se citar: fluidos isolantes de transformadores e capacitores, lubrificantes, impregnadores de algodão e asbestos e isolantes de fios elétricos. Foram ainda usados na fabricação de tintas do tipo epóxi, resinas, adesivos sintéticos, tintas têxteis, composição de lacas, papéis copiadores sem carbono.⁽²⁾. Nos Estados Unidos , até 1970, aproximadamente 60 % dos PCBs eram utilizados em sistemas elétricos fechados e em trocadores de calor; 25% na indústria de plástico, 10 % como fluido hidráulico e lubrificante e menos de 5 % em outras aplicações⁽³⁾.

Esses dados evidenciam o largo e intensivo uso de PCBs em sistemas elétricos, principalmente em transformadores que necessitam de isolantes com qualidade dielétricas altamente resistentes à combustão, em virtude de estarem localizados próximos às aglomerações humanas e/ou instalações de elevado custo financeiro Além disso, quando usados em equipamentos elétricos, os PCBs não sofrem oxidação nem provocam a formação de borra, o que torna seu custo de manutenção muito baixo ou mesmo nulo.

A viscosidade dos PCBs cresce na razão direta do seu conteúdo de cloro, variando de líquidos fluidos a produtos viscosos e até sólidos. Como os PCBs não são degradados rapidamente no ambiente,⁽⁴⁾ e tendem a ser bioacumulativos, a meia vida desses contaminantes é alta (10 a 20 anos para congêneres altamente substituídos), o que os tornaram os mais difundidos e persistentes poluentes ambientais ⁽¹⁾.

Em 1969, **Jensen**⁽⁵⁾, na Suécia , encontrou resíduos de PCBs em peixes , aves e seres humanos, o que alertou para a sua disseminação na natureza por “caminhos indiretos”, uma vez que ao contrário dos inseticidas organoclorados, eles não haviam sido introduzidos intencionalmente no ambiente. Uma possível explicação para que os PCBs não tivessem sido detectados anteriormente à década de 60 , se deve possivelmente à errônea interpretação dos cromatogramas, onde picos de PCBs foram confundidos com DDT, seus isômeros e seus metabólitos⁽⁶⁾. Estudos posteriores, utilizando técnica de espectrometria de massas evidenciaram que os PCBs haviam se transformado em poluidores globais e que seus níveis tinham se aproximado aos do DDT e demais inseticidas organoclorados.

Quatro caminhos podem explicar a dispersão dos PCBs no ambiente: 1) pelas águas residuais foram carregados para rios, lagos, etc., contaminando peixes e outras formas de vida; 2) pelas fumaças industriais, durante a incineração de produtos contendo PCBs; 3) pelo vazamento de fluidos de transferência de calor, provocando contaminação direta de rações e alimentos; 4) pelas próprias formulações de pesticidas (lindano, aldrin, toxafeno, etc.) que no passado ,continham PCBs, com finalidade de modificar a pressão de vapor desses pesticidas.

A gravidade dos efeitos tóxicos dos PCBs sobre o homem ficou bem demonstrada no Japão, em 1968, quando cerca de 6000 pessoas ingeriram óleo de arroz contaminado por

PCBs⁽⁷⁾; a sintomatologia dos pacientes afetados pela doença, chamada “Yusho” (=óleo) , foi extremamente rica, com numerosas lesões cutâneas : pigmentação marrom nas unhas, lesões foliculares, aumento da sudorese das mãos, pigmentação da pele, etc., ao lado de fraqueza, parastesia e espasmos musculares nos membros, diarréias e vômitos. Em alguns pacientes os sintomas persistiram mesmo três anos após a exposição aos PCBs; por outro lado, crianças nascidas de mães intoxicadas apresentaram baixo peso e coloração marrom da pele evidenciando intoxicação transplacentária.

1.2 Nomenclatura

O termo **PCB** (**PolyChlorinated Biphenyl**) é usado para denominar uma classe particular de hidrocarbonetos aromáticos halogenados de fórmula geral $C_{12} H_{10-n} Cl_n$ onde $n= 1-10$ cuja estrutura geral está apresentada na Figura 2.

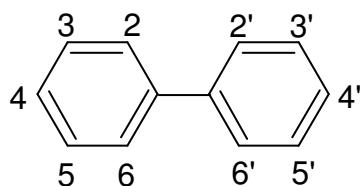


Figura 2 - Estrutura da Bifenila Policlorada (PCBs).

Os PCBs são referenciados no Chemical Abstracts como 1,1'-biphenyl, cloro derivado, com o registro geral CAS nº 1336-36-3. No entanto quando se efetua pesquisa bibliográfica a palavra chave é “Aroclor” : trata-se de um termo não muito adequado visto que Aroclor é marca registrada da Monsanto Chemical Company e é uma mistura de bifenilas policloradas⁽¹⁾ . Os sinônimos descritos no Chemical Abstracts são: biphenyl chlorinated, chlorinated diphenyl e diphenyl chlorinated. A série completa das 209 estruturas de PCBs é denominada “**congêneres**”. Por volta de 1980, **Ballschmiter e Zell** sistematizaram os 209 congêneres em ordem numérica crescente e atribuíram o nº IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Por exemplo; **Nº IUPAC 128-** corresponde ao composto 2, 2', 3, 3',4 ,4'-hexaclorobifenila.

As misturas de PCBs foram comercializadas com os seguintes nomes:

NOME	PRODUTOR	PAÍS
Aroclor	Monsanto	Estados Unidos
Clophen	Bayer	Alemanha
Phenoclor	Caffaro	Itália
Kanechlor	Kanegafuchi Chem.Comp.	Japão
Fenclor	Prodelec	França

A série Aroclor é numerada e consiste de mistura de diferentes bifenilas e trifénegas

cloradas. Os dois primeiros algarismos representam o tipo molecular e os dois últimos correspondem a porcentagem de cloro no produto, exceção ao Aroclor 1016. Assim , o Aroclor 1254 significa uma mistura de bifenilas cloradas contendo 54% de cloro. Ascarel é a denominação do líquido isolante usado em transformadores e capacitores, que compreende uma mistura de 75% Aroclor 1254 e 25% de triclorobenzeno. Há ainda outros tipos de Ascaréis, conhecidos como: Ascarel tipo A, 60% Aroclor 1260 e 40% de triclorobenzeno e Ascarel tipo B, 70% Aroclor 1254 e 30% de triclorobenzeno.

Está apresentada na Tabela 1 a composição molecular média dos .Aroclors mais conhecidos⁽¹⁾, considerando o percentual dos homólogos clorados.

Tabela 1- Composição molecular média (% massa) dos Aroclors

Homólogo Clorado	Aroclor 1221	Aroclor 1232	Aroclor 1016	Aroclor 1242	Aroclor 1248	Aroclor 1254	Aroclor 1260
0	10						
1	50	26	2	1			
2	35	29	19	13	1		
3	4	24	57	45	2	1	
4	1	15	22	31	49	15	
5				10	27	53	12
6					2	26	42
7						4	38
8							7
9							1

1.3 Vias de penetração e metabolismo

Os PCBs são introduzidos no organismo humano, através das vias respiratória e digestiva e, secundariamente, exceto em casos ocupacionais, pela via cutânea.

As características lipofílicas dos PCBs são responsáveis por sua capacidade de acumular, particularmente em tecidos ricos em lipídeos e é possível estabelecer correlação entre a sua presença e carcinogênese em organismos vivos ⁽⁸⁾. Por todas essas razões, os PCBs foram incluídos na lista de poluentes prioritários e sua presença no ambiente tem merecido grande atenção. Segundo a Organização Mundial de Saúde⁽⁹⁾: "...a excreção em mamíferos faz-se através das fezes, onde os PCBs são determinados como metabólitos fenólicos; em leite humano são determinados como PCBs e nas aves, há considerável acúmulo em ovos". A taxa de excreção nas fezes depende da velocidade de metabolização sendo muito influenciada pelo número e orientação dos átomos de cloro substituídos.

Os PCBs atingem o homem através do ar, da água, do solo e, especialmente, dos

alimentos, onde as Bifenilas Policloradas com menor teor de cloro são passíveis de sofrer metabolização. Por esta razão os resíduos de PCBs indicam a presença de constituintes com maior teor de cloro, independente do grau de cloração do “ alimento contaminado” que se tenha ingerido, pois os que permanecem inalterados são os de alto teor, mesmo que inicialmente presentes em pequenas quantidades.

1.4 PCBs e meio ambiente

A descoberta de PCBs em peixes do mar Báltico atraiu a atenção geral dos pesquisadores. Antes desse evento, que ocorreu por volta de 1966, as várias misturas de PCBs eram consideradas como sendo usadas quase que exclusivamente em sistemas fechados ou perfeitamente controlados. O fato de terem sido encontrados em peixes e posteriormente em aves, aumentou a preocupação , uma vez que o último elo da cadeia é o homem. Alguns cientistas assinalavam com base em extensa bibliografia, a ubiqüidade dos PCBs e a sua acumulação nos ecossistemas , pois foram encontrados em focas do Atlântico Norte, em aves de rapina da Inglaterra, em peixes e crustáceos da Holanda, em espécimes de vida selvagem terrestres dos Estados Unidos, em ursos polares e em peixes de água doce , de lagos situados nas tundras, que não recebem poluentes, a não ser aqueles vindos por via aérea. No zooplâncton, os PCBs foram encontrados em proporções altas nos mares da América do Norte, em valores que se variaram de 2 a 260 mg/kg⁽¹⁰⁾. Tais estudos demonstravam a ubiqüidade dos PCBs .

As possíveis rotas pelas quais os PCBs atingem o meio ambiente foram: vazamento de unidades seladas de transformadores e de trocadores de calor, respingos ou perdas durante a fabricação, vaporização por ocasião das formulações, deposição de resíduos, podendo chegar a 20% as perdas que ocorrem no meio ambiente, desde a manufatura até o uso final.

A separação e a transformação dos PCBs na água pode ocorrer pela evaporação e dissolução, sendo que nos rios a proporção diminui a medida que se afasta da fonte poluidora .

Em 1987, foi implantado um programa de monitoramento compreendendo várias áreas geográficas, com estações de amostragem, objetivando avaliação das fontes de poluição por PCBs. Esse programa denominado “Venetian Lagoon System”, enviou cinco expedições à Antártica, e hoje dispõe de dados sobre um grande número de amostras coletadas. As concentrações dos PCBs encontradas variam de 50-200 pg/g para solo e sedimento e 100-200 pg/L para água do mar. Participando de uma expedição brasileira, **Montone em 1995⁽¹¹⁾**, revela a ocorrência e a distribuição dos PCBs no sistema abiótico (ar, água de chuva e sedimentos marinhos) e biota (krill, moluscos, algas, musgos e liquens) do ambiente antártico marinho.

No ar pode ocorrer fotólise e decomposição fotoquímica dos PCBs por ação da luz solar, onde foram encontrados na concentração de 0,004 µg por metro cúbico de ar em ambientes urbanos normais⁽¹²⁾; no entanto nos ambientes domésticos foram encontrados valores de 0,31 µg

por metro cúbico, devido à existência de equipamentos contendo PCBs, principalmente geladeiras e capacitores de luminárias fluorescentes.

Eventualmente, os PCBs poderão ser lançados ao solo, contaminando-o. Um típico exemplo de contaminação pode ter ocorrido em Estação de Tratamento de Esgoto onde o subproduto, lodo, era empregado na fabricação do chamado “composto”, utilizado como adubo. Dessa forma, se as águas residuárias contiverem PCBs, estes passarão para o “composto” e, através dele para o solo⁽¹³⁾. As plantas que crescem em terreno adubado com o “composto” poderão ter as folhas e caules contaminados por PCBs servirão de alimento para animais ou ser utilizados na alimentação de seres humanos

1.5 PCBs nos Alimentos

Como decorrência da existência de PCBs no ar, na água e no solo, os alimentos podem ser contaminados e atingirem o homem através da cadeia alimentar, como descrito anteriormente. **Kolbye Jr.**⁽¹⁴⁾, relata que as primeiras determinações de PCBs em alimentos ocorreram em 1968, quando trabalhos realizados pelo ” *Food and Drug Administration -FDA*, nos Estados Unidos, detectaram tais produtos no leite e no salmão; assim, em agosto de 1969 foi encontrada contaminação em 5 dentre 12 amostras de leite na cidade de Baltimore. Foi verificado que uma fábrica de equipamentos elétricos, em lugar de usar os PCBs como agente transferidor de calor, utilizava-os como desfolhantes dos acostamentos de estrada, contaminando dessa forma as pastagens. Tal determinação levou o *FDA* em 1970 a estabelecer controle permanente do leite, fixando o teor máximo permitido de PCBs nesse alimento como 0,2 mg/kg, conforme relata **Fries**
⁽¹³⁾.

Fator importante na contaminação de alimentos por PCBs é a sua estocagem e/ou acondicionamento. No México, um estudo realizado em 1976 mostrou a presença de PCBs em cereais industrializados e em 1980, **Albert, Aldana e Ortiz**⁽¹⁵⁾, mostraram a existência de PCBs em amostras de farinha de arroz, cereal usado em alimento infantil, em concentrações muito superiores àquelas permitidas pelo *FDA*. Os autores suspeitaram da possibilidade de que os alimentos tivessem sido contaminados pela própria embalagem e, em 1982, **Albert e Aldana**⁽¹⁶⁾, após constatarem a presença de PCBs em 100 % dos alimentos acondicionados em embalagem de cartão, demonstraram que 73 % destas embalagens continham teores elevados desses produtos. Afirmam os autores que “...a principal fonte de PCBs nos cereais mexicanos é resultado da transferência do papelão reciclado usado como embalagem”.

Um alimento, que merece consideração especial é o leite materno. Em 1977, **Polishuk, Ron e Wassermann**⁽¹⁷⁾, realizaram um estudo cuidadoso do leite materno, encontrando valores médios de 3,1008 mg/Kg na gordura. Trabalho desenvolvido por **Baluja, Hernandez e Gonzalez**⁽¹⁸⁾, na Espanha aponta que, em 20 mães que amamentavam, foram encontrados níveis de $0,25 \pm 0,038$ ppm. **Yakushi et al.**⁽¹⁹⁾, estudaram mulheres que trabalhavam em fábricas de capacitores e que amamentaram seus filhos. O estudo, publicado em 1984, abrangeu o período e

1975 a 1979 e, apesar de os PCBs terem deixado de ser utilizados no Japão em 1972, o leite apresentou valores 10 a 100 vezes mais altos do que o leite de mães não-expostas ocupacionalmente. Em 1985, **Slorach e Vaz⁽²⁰⁾**, publicaram o resultado de uma pesquisa financiada pelo United Nations Environment Program - UNEP/WHO sobre teor de PCBs no leite materno em vários países. Os teores mais elevados foram encontrados em países europeus e no Japão e os valores mais baixos na China, Índia e México. Os resultados na gordura expressos em mg/kg foram os seguintes:

País	Índice	Nº. de amostras
Bélgica	0,81	47
Israel	0,45	52
Japão	0,35	204
Inglaterra	0,63	58
Iugoslávia	0,63	58
Suécia	0,97	50
Alemanha Ocidental	2,10	50

Verifica-se, portanto, que os alimentos constituem importante porta de entrada dos PCBs no organismo humano; desses alimentos é motivo de séria preocupação o fato de que os PCBs passam para o leite materno, afetando muito precocemente o ser humano.

1.6 Destrução e degradação

Como já relatado anteriormente, os PCBs são compostos muito estáveis. Sob determinadas condições, no entanto, eles podem ser degradados por processos químicos, térmicos e bioquímicos. A destruição poderá ser intencional como no caso da incineração, e na decloração com o sódio metálico⁽²¹⁾, ou não intencional como na destruição biológica por meio de bactérias e lodo ativado; a degradação biológica é dependente do grau de cloração e da posição do átomo cloro na bifenila. PCBs com menor grau de cloração são mais facilmente degradados do que aqueles com alto grau de cloração ⁽¹⁾. Na destruição por incineradores emprega-se a combinação de alto aquecimento, cerca de 1200 °C ,por longo tempo de permanência, (maior que 2 segundos). As Bifenilas Policloradas quando submetidas a temperaturas superiores a 400°C, em presença de oxigênio, sofrem oxidação parcial, gerando compostos da classe das dibenzodioxinas policloradas e dos dibenzofuranos policlorados. Estas substâncias são altamente tóxicas e sua presença foi detectada quando do envolvimento de transformadores contendo ascaréis, em incêndios de origem externa aos equipamentos. A quantidade de PCBs introduzida num incinerador deverá ser suficiente para emitir para o ar valores menores que 1 µg/g ⁽¹⁾.

Ainda com relação à degradação no ambiente, a fotólise é o único processo significante. A meia vida atmosférica para a fotodegradação é dependente do grau de cloração e da posição de substituição do cloro no anel aromático⁽¹⁾, como apresentado na Figura 3.

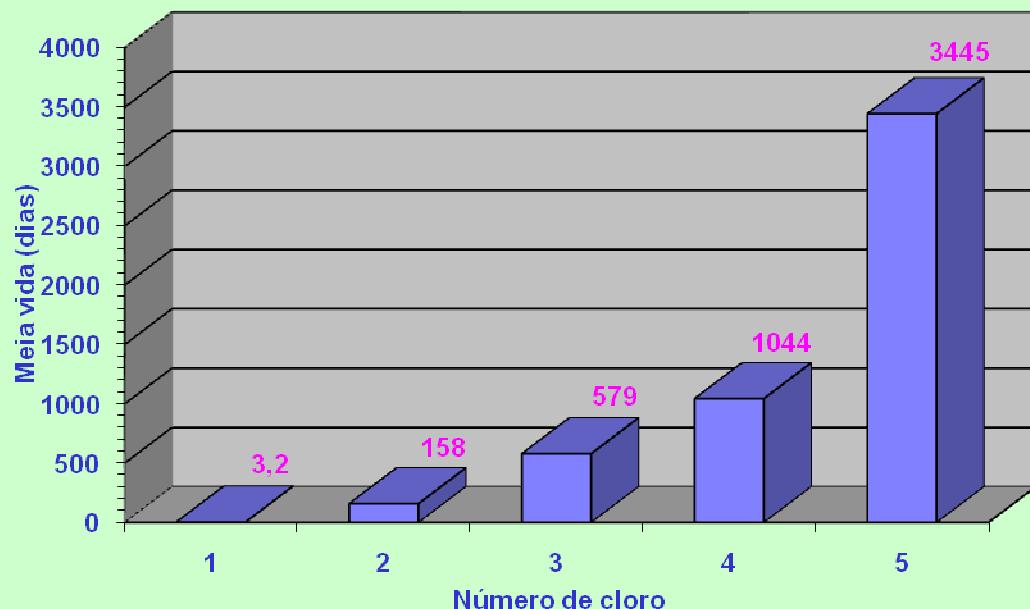


Figura 3- Persistência Ambiental de alguns PCBs

1.7 Exposição ocupacional e seus efeitos toxicológicos

A toxicologia dos PCBs é menos conhecida do que a dos pesticidas organoclorados. Não se espera toxicidade aguda em um produto que foi usado há várias décadas. No entanto, as consequências de toxicidade crônica devem ser investigadas. Investigando-se a toxicidade na ingestão oral em ratos concluiu-se que a Dose Letal (DL 50) provoca após tempo determinado, a morte de 50% das cobaias submetidas ao teste. A DL 50 varia conforme o tipo de PCB, com a espécie de ratos e com o método de ingestão, conforme pode se verificado pelos dados indicados a seguir:

Produto	DL 50 (mg/kg)
Aroclor 1221- 21% Cl	3,980
Aroclor 1232- 32% Cl	4,470
Aroclor 1242- 42% Cl	4,250
Aroclor 1248- 48% Cl	11,000
Aroclor 1254- 54% Cl	1,294
Aroclor 1260- 60% Cl	1,315
Aroclor 1262- 62% Cl	11,300

De acordo com **Lloyd e Moore⁽²²⁾**, “os PCBs são pouco metabolizados e tendem a se acumular em tecidos animais. O acúmulo, particularmente em tecidos e órgãos ricos em lipídeos, parece ser maior no caso de bifenilas com alto teor de cloro”. Segundo a OMS⁽⁹⁾, no caso

de exposição ocupacional têm sido encontrados valores de até 200g/ml quando a determinação é no sangue, e valores de até 700 mg/kg quando a matriz estudada é o tecido adiposo humano.

No caso de trabalhadores expostos a PCBs, há a possibilidade de ocorrer exposição de duas maneiras: contato dérmico e inalação de vapores. Dentre os efeitos verificados em intoxicações crônicas de animais pode-se citar:

- interferência no processo reprodutivo;
- aparecimento de tumores malignos no fígado de ratos;
- interferência no sistema imunológico de coelhos;
- acumulação em tecidos gordurosos, soro e leite;
- efeitos teratogênicos em embriões de galinha;
- distúrbios neurológicos em ratos.

1.8 PCBs no Brasil e medidas de controle

Países altamente industrializados como a Suécia e o Japão, enfrentaram a poluição ambiental por PCBs com leis que proibiam a importação, fabricação, venda e uso sem autorização especial. No Brasil, o uso de PCBs foi introduzido pelos produtos da Monsanto que aqui mantinham as recomendações da matriz americana. O uso e a comercialização de PCBs foram regulamentados, pela Portaria Interministerial N° 19 de 29/01/81 (MIC,MME/MI). Em 1983, a Secretaria do Meio Ambiente (SEMA) através da Instrução Normativa SEMA N° 001, de 15/06/83, disciplinou as condições de manuseio, transporte e armazenamento desses produtos. Com essas medidas surgiu a necessidade de substituir os PCBs dos transformadores por outros isolantes que não acarretassem problemas para o meio ambiente. Entretanto, após sua retirada, feita através de drenagem, seguida de lavagem do transformador com solvente orgânico, persiste um resíduo que se mistura com o novo líquido isolante cujo valor pode ultrapassar os limites de tolerância. Mais recentemente, em 1994, o COBEI-Comitê Brasileiro de Eletricidade, elaborou a Norma a **NBR 8371:1994⁽²³⁾**, que entrou em vigor em 30 de Julho de 1997, revisada em 2005 , onde os valores de PCBs para destino final sofreram modificações relevantes, visando proteção ao meio ambiente.

METODOLOGIA ANALÍTICA

1-Considerações Gerais

A partir da identificação dos PCBs em 1966, e como o comportamento dessas substâncias nos métodos analíticos são semelhantes aos dos pesticidas organoclorados, fica evidenciado, que picos correspondentes a PCBs observados nos cromatogramas foram erroneamente interpretados como DDT seus isômeros e metabólitos, o que indica que muitas análises realizadas nos anos sessenta e anteriores não estavam corretas. A partir de então, os

pesquisadores passaram a se preocupar com o desenvolvimento de métodos para monitorar PCBs nas mais diferentes matrizes.

No período compreendido entre 1957 a 1971, o Aroclor 1242 era usado como amaciante durante a produção de papel e papel carbono. Motivado por isso, **Voogt, Klamer e Brinkman**⁽²⁴⁾ utilizando extração em Soxhlet, purificação em sílica ou alumina desativada e o pp'DDE como padrão interno compararam os valores médios de recuperação obtidos (91%), com dados da literatura (extração efetuada com etanol sódico), não verificando nenhuma diferença apreciável.

Em 1983, **Noren**⁽²⁵⁾, estudando contaminantes inclusive PCBs, no leite humano, testou dois métodos de extração para a gordura empregando sistemas de solventes diferentes. Os níveis de PCBs foram calculados por comparação com três padrões: Clofen A 50, Aroclor 1254 e Aroclor 1260. Os resultados obtidos foram praticamente os mesmos, exceção ao Aroclor 1254, que apresentou 14 % de diferença.

Em 1996, a comparação de dois métodos de extração(extração por agitação com acetonitrila, e em soxhlet com n-hexano-acetonitrila), para a determinação de PCBs em moluscos por CG/DCE foi estudada⁽²⁴⁾.Os resultados mostraram melhor eficiência para a extração com Soxhlet e a separação dos PCBs foi obtida por otimização das condições cromatográficas trabalhando-se com temperatura programada.

A interferência de clorobenzenos e clorofenóis é outro problema na análise de PCBs. **Ojala**⁽²⁷⁾ simulou um estudo a esse respeito trabalhando com padrões onde realizou derivatização com carbonato de sódio e anidrido acético com posterior fracionamento usando coluna de sílica gel. Os resultados do estudo de recuperação mostraram um desvio padrão de 4 a 14 % para os PCBs e clorobenzenos, e 3 a 17% para os clorofenóis, demonstrando, ser possível estudar PCBs na presença de clorofenóis e clorobenzenos.

Os métodos para separar PCBs dos pesticidas clorados descritos na literatura são razoavelmente semelhantes; no entanto, **Vidal et. al.**⁽²⁸⁾ baseando-se nos efeitos da temperatura sobre as áreas dos picos, (em método que utiliza o detector por captura de elétrons combinado com determinação de índice de refração), diferenciaram PCBs de pesticidas organoclorados em sedimento de rio.

Até a década de 80, a grande maioria dos trabalhos publicados faziam referência somente à extração líquido-líquido. Por volta da década de 90, trabalhos mais modernos^(33,34) já referenciam extração com fluido supercrítico (SFE), principalmente em soro, leite humano e amostras ambientais por apresentarem níveis de PCBs da ordem de partes por bilhão (ppb). A vantagem da extração em fluido supercrítico está na possibilidade de se obter grande seletividade com redução da etapa de purificação, que é longa na extração em fase sólida ou líquida. As amostras foram fortificadas com Aroclor 1260, (0,5 e 10 ng), e os resultados foram comparados com os obtidos na extração líquido-líquido. A recuperação obtida pela SFE foi similar às obtidas

pela extração com solvente.

Os primeiros estudos para desenvolvimento de metodologia para análise de resíduos de PCBs em óleo de transformador foram desenvolvidos na década de 80. **Gordon et al.**⁽²⁹⁾, em 1982, propuseram um procedimento de rotina onde os PCBs foram extraídos por partição com a mistura acetonitrila-n-hexano, seguida de purificação em cartucho de sílica gel. O extrato era então concentrado e submetido à cromatografia gasosa em coluna capilar. Os resultados obtidos mostraram que a partição foi efetiva para eliminar interferentes. Os níveis encontrados foram de 26,7 e 9,1 mg/kg relativos ao Aroclor 1260, apresentando um desvio padrão de 1,3 % nos níveis encontrados.

Em 1984, **Sonchik et al.**⁽³⁰⁾ usando quatro tipos de óleos como matriz avaliaram dois sistemas cromatográficos; um, usando ECD e outro HECD. Segundo os autores a vantagem do detector HECD, é que a etapa de purificação é eliminada, ao contrário do ECD. Entretanto, o ideal é sempre realizar a purificação, objetivando obter mais precisão e também aumentar a vida útil do detector. O ECD exibe mais precisão do que o HECD.

No entanto, em óleo de transformador, o trabalho orientador e de aplicação mais difundida é o de **Bellar e Lichtenberg**⁽³¹⁾, que testaram cinco técnicas de purificação: Ácido Sulfúrico, Florisil, Alumina, Sílica Gel e Permeação em Gel. Os resultados obtidos mostraram a mesma eficiência para todas os “clean’up” testados.

Uma importante revisão sobre a determinação de PCBs em óleo mineral para descarte, foi publicado em 1991 por **Voogt**⁽³²⁾, na qual ênfase é dada às etapas de extração, purificação, identificação e quantificação. Nesta revisão, **Voogt** mostrou a importância e a necessidade de se dispor de uma metodologia analítica adequada para implementação de legislação para óleos de descarte. Segundo **Voogt**, o maior problema na análise de PCBs nesta matriz está na purificação, ou seja na capacidade da técnica em remover óleo do extrato para não interferir na etapa de quantificação. Essa importante observação já havia sido feita em 1982 por **Gordon et al.**⁽²⁹⁾, e posteriormente por **Shu et al.**⁽³³⁾, que em 1995, usando a mesma matriz, concluíram que o detector por captura de elétrons (ECD) é o mais adequado para análise de PCBs, devido à sua grande sensibilidade para compostos halogenados, embora também mostre resposta para compostos que não são PCBs tais como: naftalenos halogenados, cloroaromáticos, ftalatos, éster adipatos entre outros que não podem ser diferenciados somente com base no tempo de retenção.

Um dos maiores questionamentos no estudo de PCBs, reside na etapa de quantificação, não somente em óleos de descarte, como também em outros tipos de amostra. A maioria dos métodos publicados na literatura realiza a quantificação como PCBs individuais, ou seja usando congêneres individuais como padrão de referência.

Sauvain et al.⁽³⁵⁾ em 1994, efetuaram comparação entre quatro métodos analíticos para determinação de PCBs em óleo de transformador empregando uma única técnica de

purificação, com a diferenciação apenas na quantificação. Os resultados obtidos pelo método IEC/TC 10 são comparáveis com o “Modelo Aroclor”, com a vantagem de que ele permite a quantificação de amostras alteradas ou misturas de formulações comerciais.

Em 1991, **Pavoni, Sfriso e Racanelli**⁽³⁶⁾ compararam os resultados obtidos com os padrões de Aroclor e congêneres em dois instrumentos analíticos: CG/ECD e CG/MS. A conclusão dos autores é que padrões baseados nas formulações de Aroclor podem ser usados para ambas as técnicas. A técnica CG/ECD apresenta desempenho melhor e de baixo custo aliada a uma grande sensibilidade e precisão numa faixa extensa de concentração, para matrizes diversas, inclusive ambientais, onde se necessita de níveis de detecção bastante baixos.

Fuoco e Colombini⁽³⁷⁾ descreveram metodologias analíticas para eliminar interferentes e estabeleceram critérios para quantificação dos PCBs em diferentes matrizes ambientais. A aplicação da extração em fluido supercrítico e cromatografia acoplada à espectrometria de infravermelho com Transformada de Fourier também foram usadas nesta análise. Segundo esses pesquisadores os estudos com amostras ambientais exigem rigor e envolvem técnicas adequadas de coleta e estocagem das amostras. A separação cromatográfica das misturas de PCBs poderão ser feita por CG ou CLAE embora esta última técnica apresente baixa resolução.

Em 1995⁽³⁴⁾, foi publicado um rascunho do documento da ASTM COMMITTEE D-27, especialmente dedicado à análise de óleo mineral usado como isolante de transformadores. Segundo esse rascunho, o método é aplicável para a determinação de PCBs presentes em misturas conhecidas como “Ascarel”. Para o cálculo de PCBs, poderão ser usadas os padrões de Aroclor”, em análises usuais de rotina. As diferenças devido a fatores de respostas serão minimizadas usando também os padrões de Aroclor ”. Os resultados obtidos deverão ser reportados como PCBs em parte por milhão (ppm), e expressos como Aroclor, que é o padrão usual, devendo ser indicado o tipo de Aroclor presente.

Numa revisão bibliográfica indica que metodologias para determinação de PCBs individuais em óleo de transformador estão muito bem definidas e compreendem : diluição da amostra com solvente orgânico, purificação por cromatografia de adsorção ou com ácido sulfúrico e análise cromatográfica. Para outras matrizes, as metodologias apresentam variações e/ou combinações nas etapas de extração (Soxhlet ou extração em fluido supercrítico, etc.) e de purificação dos extratos, (partição, cromatografia de adsorção, extração em fase sólida). Com relação à quantificação de resíduos de PCBs o critério de seleção da técnica: Modelo Aroclor ou congêneres, depende do objetivo do trabalho, da matriz em estudo e do limite de quantificação a ser alcançado.

Uma publicação do **PAM**⁽³⁸⁾, discutiu a multiplicidade de modelos de quantificação de PCBs, demonstrando serem extremamente desafiadoras as etapas de identificação e quantificação.

O método analítico para determinação de PCBs consiste basicamente de três etapas: extração, purificação e quantificação. Em geral os PCBs são analisados pelo método da cromatografia gasosa, fazendo uso do detector por captura de elétrons ou por cromatografia gasosa de alta resolução- GC-MS. Entretanto todas as técnicas analíticas encontram problemas na detecção dos PCBs , quer seja por deterioração ou por componentes interferentes , normalmente com características físicas e químicas semelhantes à eles- PCBs.

2.1 -Standard Test Method for Analysis of Polychlorinated Biphenyls in Insulating Liquids by Gas Chromatography-Designation: D4059-00

Designada ASTM D 4059- Esta é a Norma Americana usada nos Estados Unidos da América.

1-Escopo

Este Norma especifica um método que determina quantitativamente a concentração dos PCBs em líquidos isolantes elétricos pela cromatografia gasosa. Também é aplicável à determinação dos PCBs presentes na mistura conhecida como “ascarel”,usada como líquido isolante elétrico.

2-Sumário

A amostra é diluída com solvente adequado, geralmente n- hexano.

A solução resultante é purificada para remoção dos interferentes. Uma alíquota da solução purificada é injetada no cromatógrafo gasoso.Os componentes são separados pela coluna cromatográfica. Uma diferença de potencial entre o gás de arraste que passa pela coluna e do gás carregando a amostra, é medido e mostrado como cromatograma. A quantificação é feita comparando-se o perfil cromatográfico da amostra e do padrão obtido nas mesmas condições analíticas.

3- Materiais e Reagentes

Padrão de Aroclor 1242, 1254 e 1260

Óleo isolante – novo, sem uso e isento de PCB

Solvente- n-hexano, heptano ou 2,2,4-trimetil-pentano (isoctano)

Ácido sulfúrico concentrado, p.a.

Adsorvente polar, livre de impurezas eletrolíticas

Nota : poderá ser usado Florisil (60/100 mesh) adequado para esta finalidade. Antes do uso ativar cada lote pelo aquecimento a 130 °C por uma noite dentro de um béquer.

Dicaption-(para determinar a sensibilidade do detector) .

pp'DDE- para estabelecer o tempo de retenção relativa.

Mistura de Aroclor 1242, 1254 e 1260 poderá ser usada como padrão.

4-Amostragem

Obter a amostra de acordo com Praticas D 923

5-Extração

5.1-Preparação da amostra

Pesar 0,1 a 0,2 g do óleo em balão volumétrico de 50 mL e diluir até completar o volume com n-hexano.

Reportar como W em gramas de amostra.

Reportar o volume total da diluição da amostra como V em mL.

6- Purificação (Clean'up)

Para remoção dos interferentes poderá ser usado

6.1- Adsorvente Florisil devidamente ativado

6.2- Tratamento com ácido sulfúrico

Observação: Em muitos casos poderá ser usado a combinação dos dois métodos para remoção dos interferentes.

7 - Análise cromatográfica

Injetar no cromatógrafo uma alíquota de 1 a 5 μ L da amostra purificada, no cromatógrafo nas condições cromatográficas previamente otimizadas com os padrões de Aroclor.

Se necessário diluir a amostra para cair dentro da linearidade do ECD.

8-Quantificação

A quantificação é feita pela medida da resposta de cada pico em ambos os cromatogramas (amostra e padrão) analisadas nas mesmas condições cromatográficas. Calcular a concentração total de PCB somando-se a concentração associada a cada pico no cromatograma.

8.1- Quando o cromatograma mostrar claramente que se trata de apenas um dos Aroclors (1242;1254 ou 1260) , comparar com cada padrão individual identificado.Calcular o conteúdo de PCBs usando resposta do padrão encontrado no cromatograma , comparável ao padrão de Aroclor individual e o valor do conteúdo de PCBs associado com o mesmo pico no cromatograma do padrão (Tabela 1,2 e 3).

Os picos mais importantes para o Aroclor 1242 tem o TRR(tempo de retenção relativa) entre:11 \leq i \leq 146.

Os picos mais importantes para o Aroclor 1254 tem o TRR(tempo de retenção

relativa) entre: $47 \leq i \leq 232$.

Os picos mais importantes para o Aroclor 1260 tem o TRR(tempo de retenção relativa) entre $70 \leq i \leq 528$.

8.2.- Um cálculo simplificado, mas aproximado poderá ser feito quando a amostra contém apenas um único Aroclor.Calcular o PCB total com a equação adequada, escolhendo o pico mais nítido ou mais definido em ambos os cromatogramas , amostra e padrão.O PCB total calculado dessa maneira poderá estar incorreto porque o pico escolhido poderá estar maior ou menor em função do clean'up ou mesmo em função de uma anomalia instrumental.

O PCB total deverá ser a média de no mínimo 3 picos em ambos os cromatogramas.Esse método simplificado de cálculo não poderá ser usado em circunstâncias onde se deseja uma precisão maior.

8.3- Quando a amostra contém mistura de Aroclors poderá ser calculado usando o padrão contendo os três Aroclors.

A concentração de PCBs medida do pico $i=11$ a 78 usando os valores de M(massa injetada (W/P) e R (área do pico) oriundos de padrão de Aroclor 1242; idem para $i=84$ a 174 , usando valores oriundos do padrão de Aroclor 1254, idem para $i= 203$ a 528 , usando valores oriundos do padrão de Aroclor 1260. O conteúdo total de PCBs é a soma da concentração medida de todos os picos do cromatograma: $C=\sum_i C_i$

Onde $i= 11$ a $78+ 84$ a $174+ 203$ a 528

É conveniente o uso do intervalo de tempo de retenção com a finalidade de quantificação do conteúdo de PCBs na mistura. Picos no cromatograma de amostra desconhecida são em seguida comparados com picos comparáveis no cromatograma de padrão. Contudo o conteúdo de PCBs no intervalo $i=11$ a 78 , não é o total de Aroclor 1242, porque o Aroclor 1242 também contém PCBs com tempo de retenção longo.Similarmente a concentração do Aroclor 1254 e 1260 resultante vem de um intervalo de tempo de retenção longos para ambos.

Procedimento mais complexo são necessários para calcular a concentração de Aroclor individual em amostra que contém mistura. Este método é direcionado para determinar o conteúdo de PCB total.

Um analista experimentado pode reconhecer prontamente os componentes da mistura de Aroclor encontrados na amostra de óleo isolante.Contudo calcular a concentração individual para os componentes é inherentemente algo impreciso porque há "overlap" em muitos picos do cromatograma de Aroclor.

Recomenda-se que o conteúdo total de PCB seja calculado por aproximação em partes por milhão na proporção relativa (1:1;3:1,2:1).

9-RESULTADOS

Expressar os resultados em partes por milhão (em peso) de PCB no óleo isolante, usando Aroclor como padrão.

Identificar o tipo de Aroclor presente

AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA Designada ASTM D 4059

O método é mais simples e existe várias maneiras de se fazer a quantificação e todas são consideradas corretas. Existe também um tratamento estatístico que nos permite avaliar o desempenho da metodologia.

Com relação à purificação faz referência apenas à fase estacionária, o que nos permite , caso se deseje, inserir um SPE para purificação.

Essa metodologia é revisada de 5 em 5 anos e permanece inalterada desde 1995.

3.1- Contamination By Polyhlorinated Biphenyls(PCBs)-Method of Determination by Capillary Column Gas Chormatography-IEC (International Electrotechnical Commission) 61619

Designada IEC 61619- Esta é a Norma usada pela Comunidade Européia

1-Escopo

Esta Norma Internacional especifica um método para a determinação da concentração dos PCBs em líquidos isolantes não halogenados por cromatografia gasosa com coluna capilar usando detetor de captura de elétrons.

O Método determina o conteúdo total de PCB e é aplicável quando for necessário uma análise detalhada dos congêneres de PCB.

O método é aplicável para líquido isolante novo, regenerado ou usado contaminado por PCB.

2-Definição

Para fins desta Norma Internacional aplicam-se as seguintes definições:

2.1-Bifenila Policlorada(PCB)

Bifenila é um composto químico de 12 átomos de carbono com dois anéis aromáticos ligados diretamente entre si por uma ligação simples, com 10 átomos de hidrogênio, sendo cinco em cada anel.

Bifenila Policlorada refere-se aos compostos químicos gerados quando estes átomos de hidrogênio são parcial ou totalmente substituídos por cloro.

2.2-Congêneres

Todos os derivados clorados de benilas , independentemente
Do número de átomos de cloro, são denominados Congêneres

Nota: Existem 209 possíveis congêneres de PCB, listados na tabela B1.

A numeração IUPAC é para facilitar a identificação dos congêneres, mas não representa a ordem de eluição cromatográfica.

3-Princípio

Os congêneres de PCBs são determinados por cromatografia gasosa com temperatura programada, usando cromatógrafo com coluna capilar de alta eficiência de separação entre os PCBs individuais ou em pequenos grupos de congêneres sobrepostos.

A sensibilidade do detector por captura de elétrons(ECD) poderá ser reduzida pela presença de óleo mineral. Neste método a amostra é diluída 100 vezes para minimizar esse efeito. Há um procedimento de purificação (clean-up) utilizado para remover muitas impurezas que provavelmente interferem nessa determinação.

Compostos de referência são incluídos para permitir o cálculo do tempo de retenção relativa experimental (ERRTs) que serão comparados com os arquivos de dados dos ERRTs para identificar individual ou grupos dos congêneres . Para quantificação foi adicionado um padrão interno.

RRF- Fator de Resposta Relativa- serão tomados de dados tabelados (9.1) e serão corrigidos pelo fator de resposta relativa experimental (ERRFs) obtidos dos compostos de referência e serão aplicados para identificar picos quantificar congêneres individuais ou em grupos, e os valores somados darão o conteúdo total de PCB.

4- Reagentes e materiais auxiliares

4.1-Reagentes e Padrões

Todos os reagentes e materiais, incluindo aqueles usados no clean-up, deverão ser isentos de contaminação por PCBs ou compostos que respondam no ECD.

4.1.1-Solventes- Hexano, Heptano , Ciclohexano ou Isooctano (2,2,4-trimetil-pentano), grau resíduo.

4.1.2-Hexaclorobenzeno 99% - usado para checar a sensibilidade do detector.

4.1.3-Líquido isolante : verificar se está isento de PCB ou outras substâncias interferentes.

4.1.4- Solução do Congênere C30 10 mg/L

4.1.5- Solução do Congênere 209(DCB)-solução de dodecacloro bifenila 10 mg/L

4.1.6-Solução de calibração dos Congêneres de PCBs selecionados

Mistura de padrão certificado em hexano na concentração de 10 mg/L cada, contendo os seguintes congêneres: 18 ; 18 ; 31 ; 44 ; 52 ; 101 ; 118 ; 138 ; 149 ; 153 ; 170 ; 180 ; 194 e 209.

4.2-Padrão de PCB comercial

4.2.1-Solução de Aroclor 1242;1254 e 1260 em hexano, na concentração 50 mg/L ou mais , normalmente 1000mg/L.

4.2.2-Solução de Aroclor 1242;1254 e 1260 50mg/Kg em óleo isolante isento de PCB adquirida pronta ou preparada a partir do padrão sólido com 99% de pureza no mínimo.

4.2 3-Solução de Aroclor 1242, 1254 e 1260 em óleo isolante novo isento de PCB, na concentração de 50 mg/L.

4.3- Coluna de extração em fase sólida(SPE) de:

500mg/3mL de adsorvente sílica gel(partícula 40 µm

500mg/3mL de adsorvente ácido benzeno sulfônico, com partículas 40 µm

4.4- Adaptador para junção das duas colunas

4.5- Manifold para vácuo nas colunas

5-Sumário

A amostra é diluída com solvente adequado, geralmente hexano.

A solução resultante é purificada para remoção dos interferentes. Uma alíquota da solução purificada é injetada no cromatógrafo gasoso.Os componentes são separados pela coluna cromatográfica. Uma diferença de potencial entre o gás de arraste que passa pela coluna e do gás carregando a amostra, é medido e mostrado como cromatograma. A quantificação é feita comparando-se o perfil cromatográfico da amostra e do padrão obtido nas mesmas condições analíticas.

6-Amostragem

Referência Normativa

Obter a amostra de acordo com IEC 60475:1974- Método de amostragem de líquidos isolantes

Para evitar contaminação cruzada das amostras é recomendado que todo material auxiliar utilizado (tampas tubos conexões) seja descartável, e livre de compostos interferentes.

7-Extração

7.1-Preparação da amostra

Pesar , com resolução de 0,001g, 0,9 a 1,0 g de óleo isolante em balão volumétrico de 10 mL.Adicionar 1 mL do padrão interno.Completar o volume com solvente. Agitar vigorosamente .Caso a solução esteja opaca, adicionar sulfato de sódio, agitar e esperar a solução clarear.Esta é a **solução A**

8- Purificação (Clean'up)

Unir a coluna de ácido benzeno sulfônico ao topo da coluna de sílica gel

Transferir 500 µL (+/-5 µL) de solução A no topo da coluna de ácido sulfônico.

Adicionar 0.5 ml de solvente, aplicar leve vácuo para distribuir a amostra Espere pelo menos 5 segundos antes da eluição. Eluir num fluxo máximo de 2ml/minuto, espere para adicionar o hexano quando este já estiver no nível do adsorvente. Eluir a combinação de colunas com duas vezes 1,0 mL de hexano e coletar num balão volumétrico de 5 mL.Remover a coluna de ácido sulfônico e eluir a coluna de sílica-gel com mais 2 vezes 0,5 mL de hexano coletando no mesmo balão volumétrico de 5 mL Completar o volume com hexano.Agitar para misturar bem.Esta é a **solução B** e deverá ser usada par injeção no cromatógrafo.

Se necessário fazer um clean-up adicional (veja B.5)

9 - Análise cromatográfica

As soluções de PCB,comercial e da amostra são injetadas no cromatógrafo em condições cromatográficas previamente estabelecidas.

A cada 10 amostras inserir uma corrida de padrões apropriados as amostras, geralmente 10 mg/kg e 50 mg/kg de AROCLOR 1260 em óleo branco e amostra testemunha poderão ser usados pra fins de garantia de qualidade analítica.

Integrar o cromatograma para obter o número de picos, o tempo de retenção, área ou altura do pico ,produzido por qualquer sistema de integração cromatográfica.

Determinar o tempo de retenção relativa experimental (ERRT).

Analisar a solução Mix com o procedimento de clean'up , utilizando as mesmas condições cromatográficas da análise da amostra. Identificar todos os picos e calcular o ERRT para cada pico com a equação do item 11.4.

Tabular os resultados de forma semelhante a Tabela A1 e digitar os resultados no arquivo de dados.

Nota- os congêneres 30 e 209 são escolhidos como picos de referencia para determinação do

ERRT, uma vez que ao final de cada cromatograma são isolados dos congêneres que ocorrem em misturas comerciais e permitem a obtenção dos valores de ERRT exatos e repetitivos.

Cálculo do Fator de correção da resposta relativa

O fator de resposta relativo experimental(ERRF) dos congêneres pode variar de instrumento para instrumento, dependendo do modo de injeção e das condições do detetor de captura de elétrons. Ele pode diferir dos originais.

O cromatograma é dividido em 9 segmentos, cada um representado por um dos congêneres listados na tabela 3. Normalmente estes congêneres estão presentes nas misturas comerciais como componentes principais.

Após a injeção de uma alíquota da solução de mix, determinar o fator de resposta relativa para os congêneres listados na tabela 3, usando a equação adequada (item 11.5.3)

Com os valores determinados do ERRF e do RRF teórico mostrado na tabela 3, calcular o fator de correção K i para cada congênere.

A tabela resultante dos fatores de correção de resposta relativa (CDDF) para os possíveis prováveis, será a única a ser utilizada para os arquivos de dados (9.1).

10 -Quantificação

Os cromatogramas devem ser analisados visualmente para verificar picos espúrios, ou outros interferentes.

Comparar os cromatogramas das amostras e dos padrões para identificar os compostos comerciais como Aroclor 1242, 1254 e 1260.

O sistema de aquisição de dados deve produzir uma lista contendo o número do pico com o correspondente número do congênere de PCB e a concentração de PCB, em mg/L para cada pico calculado da concentração do pico do padrão interno.

A massa de cada congênere é calculada pelo método do padrão interno, usando o fator de resposta relativo corrigido, conforme equação adequada (item 11.7.2.2).

A massa de todos os picos individuais são somadas para dar a massa total de PCB, na solução B.

A concentração total de PCB em mg/kg é calculada usando a massa inicial da amostra da alíquota, conforme a equação do item 11.7.2.3.

11-Expressão dos resultados

Os resultados obtidos serão expressos PCB em mg/kg.

12-Limite de Detecção

O Limite de detecção depende de diversos fatores como volume de injeção, modo de injeção, condição do detetor, etc... Para um único pico o limite de detecção é cerca de 0,1 mg/kg. A quantificação é especificada em termos de PCB total e confiável somente acima de 2 mg/kg

13-Precisão

13.1-Repetividade- ainda não determinados

13.2- Reprodutibilidade- ainda não determinados

AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA IEC 61619

1 - O método é extenso, extremamente minucioso , com muitas variáveis que poderá dificultar a obtenção de boa reproduzibilidade entre os laboratórios.

2 - Método é oneroso e além disso gera muito lixo analítico.

3- O Método é datado de 1997, provavelmente já existe no mercado alguns itens que poderiam ser inseridos nesta Norma para facilitar seu manuseio, como por exemplo o uso de apenas um SPE contendo simultaneamente dois adsorventes para purificação do extrato.

4-Não existe a garantia de que os laboratórios seguirão ao pé da letra todos as etapas desta Norma, o que acarretaria o mesmo vício da NBR 13882 vigente.

Esta Norma está em desenvolvimento por uma força tarefa constituída de 11 laboratórios organizados junto ao "CIGRÈ- Conseil International des Grands Réseaux Electriques" , para estabelecer condições padronizadas de análise e níveis de qualidade analítica aceitáveis . O CIGRÉ é uma organização não governamental internacional que objetiva estimular o desenvolvimento e tecnológico do setor elétrico. A força tarefa é constituída por:

- Empresas do setor elétrico: CELESC- SC ;CELG-GO, Furnas Centrais Elétricas - MG , AES Eletropaulo-SP ; CHESF, Cia Energética do São Francisco.
- Prestadoras de serviços: ACS-GO, Brastrafo-SP, Analab-SP, MGM -SP, Diagno- PR , Laboil - RS.

4.1-Norma Brasileira –ABNT NBR 13882:2005

Líquidos isolantes Elétricos - Determinação do teor de bifenilas policloradas (PCB)

1-Objetivo

Esta Norma especifica dois métodos para determinação do teor de bifenila

policlorada(PCB) em líquidos isolantes elétricos não halogenados.

1.2-Esta Norma especifica dois métodos

- a) método A- que corresponde a análise por potenciometria
- b) método B- que corresponde a análise por cromatografia gasosa

O resultado obtido pelo método A não pode ser comparado ao obtido pelo método B, pois o método A não identifica a interferência de contaminantes halogenados. O método A determina o teor de PCB e ou compostos clorados presentes na amostra, e o método B o teor e o tipo de PCB.

2- REFERÊNCIAS NORMATIVAS

As normas relacionadas a seguir contem disposições que, ao serem citadas neste texto, constituem prescrições para esta Norma.

ABNT NBR 8371:2005-Ascarel para transformadores e capacitores- Características e riscos.

ABNT NBR 8840:1992-Guia de amostragem de líquidos isolantes- Procedimento

3- Método A – Potenciometria

3.1.-Aparelhagem

Existem vários instrumentos para a medição do teor de cloro por eletrodo seletivo disponível comercialmente.

3.1.2-A aparelhagem e o procedimento devem estar de acordo com as instruções do fabricante.

3.2-Expressão dos resultados

Expressar o teor de compostos em termos de Aroclor 1242, conforme indicado no instrumento.

NOTA- Se o valor obtido for superior aos definidos pela ABNT NBR 8371, deve ser realizada a análise por cromatografia gasosa- Método B.

4- Método B- Cromatografia Gasosa.

4.1-Princípio do método

A amostra de óleo é tratada para eliminação de interferentes e analisada por cromatografia gasosa. O resultado é obtido pela comparação de áreas obtidas no cromatograma com a análise prévia de soluções padrão em curvas de calibração, obtidas nas mesmas condições.

4.2-Equipamentos

4.2.1-Cromatógrafo á gás com detector de captura de elétrons

4.2.2-Vidraria de laboratório(béquer, balão volumétrico, microseringa de vidro , pipetas , e frascos com tampa rosqueável)

4.3-Reagentes

4.3.1-hexano- grau análise de resíduo

4.3.2-coluna de extração em fase sólida(SPE) com silicato de magnésio (Florisil)- 1000 mg/6mL

4.4-Interferência

Um problema que pode ocorrer na análise por cromatografia gasosa é a identificação errônea dos picos do cromatograma, provocada principalmente pelos produtos de oxidação do óleo isolante. Quanto mais oxidado estiver o óleo maior a probabilidade de interferência.

4.4.1- Tratamento para purificação

- a) percolar cerca de 4 mL da amostra pela coluna de extração em fase sólida e recolher em frasco adequado.
- b) retirar alíquota de 0,5 mL e diluir a 10 mL com hexano (diluição 1:20);
- c) analisar conforme 4.5.4.

4.5 -Procedimento de análise

Esta norma não indica sistemas específicos de cromatografia e o analista tem a responsabilidade de garantir a qualidade do seu sistema cromatográfico.

A preparação de coluna, a configuração o equipamento e a utilização das voas técnicas de laboratório são necessidades básicas para garantir a qualidade dos valores e

resultados obtidos nesta norma. As subseções 4.5.1 e 4.5.2 podem ter suas indicações modificadas a critério do analista desde que seja garantida a qualidade dos cromatogramas obtidos.

4.5.1.1- Sistema com coluna empacotada

4.5.1.2-Sistema com coluna capilar

Fica a critério do laboratório a escolha dos sistemas de colunas bem como das melhores condições de operação do cromatógrafo em função da coluna escolhida.

4.5.2-Amostragem

Coletar a amostra de acordo com a ABNT NBR 8840.

A amostra deverá ser encaminhada ao laboratório em frasco de vidro âmbar de no mínimo 50 mL ,contendo tampa rosqueável e batoque de polietileno entre a tampa e o frasco.

4.5.3-Preparação da Soluções padrão

A escolha de um determinado tipo Aroclor como padrão define o valor a ser quantificado na amostra sob análise.

- a)- soluções de Aroclor 1242
- b)-soluções de Aroclor 1254
- c)-soluções de Aroclor 1260
- d)-soluções de mistura de Aroclor 1242/1254/1260.

Estas soluções devem ser utilizadas para montagem de 3 curvas de calibração cobrindo a faixa de análise que vai de 2,0 mg/L a 500 mg/L.

Todas as soluções padrão devem ser analisadas por cromatografia gasosa , nas mesmas condições das amostras. As áreas obtidas em cada cromatograma devem ser utilizadas com as respectivas concentrações , para preparação das curvas de calibração supracitadas.

4.5.4-Análise

Injetar no cromatógrafo uma alíquota do extrato diluído da amostra a ser analisada.Se o cromatograma indicar saturação deve ser feita diluição do extrato.

Comparar o perfil cromatográfico da amostra e do padrão, identificar e quantificar com a respectiva curva do Aroclor ou mistura de Aroclor correspondente.

4.5.5-Cálculos

A quantificação do PCB na amostra é realizada pela interpolação em uma das curvas-padrão preparadas anteriormente.

4.5.6-Expressão dos resultados

Expressar em mg/L de PCB em Aroclor 1242 ; Aroclor 1254; Aroclor 1260, ou em mistura de Aroclor 1242/1254/1260, conforme o padrão utilizado para quantificação.

4.6-Limites do método

O limite de quantificação para este método foi determinado como sendo 2,0 mg de PCB por litro de óleo isolante.

4.7-Repetibilidade e Reprodutibilidade

Ainda não foram estabelecidas.

AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA NBR 13882

Existem alguns pontos nesta metodologia que poderiam ser melhoradas:

1. **Extração**-“pesar” a amostra- diluir em volume conhecido do solvente e proceder à purificação.
2. **Purificação**- da maneira descrita o SPE de florisil está saturado, o que inviabiliza a purificação propriamente dita.
3. Alternativa seria trocar pelo SPE com duas fases estacionárias simultâneas (Num único cartucho).
4. **Quantificação**- Preparar o padrões em peso, em óleo isolante isento de PCB, e submetê-los à mesma purificação aplicada na amostra. Dessa forma os resultado obtidos não precisariam ser dividido por 0,87.
(densidade assumida para o óleo isolante).

À semelhança da IEC 61619, quando a identificação for uma Mistura dos 3 Aroclors, dividir o cromatograma em 3 e calcular um fator de resposta para cada segmento: Aroclor 1242;1254 e 1260, tendo em vista que a resposta de cada um não é a mesma no ECD.(assumida como se fosse igual).

5. Expressão dos resultados

- a. Os resultados seriam expressos em mg/kg de Aroclor 1242 ou 1254ou 1260 ou

Mistura de Aroclor 1242/1254/1260.

6. Repetibilidade e Reprodutibilidade- Provavelmente seriam mais uniformes os resultados obtidos, tendo em vista que o método seria mais simples .

5 -VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO (39)

Demonstrar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade , rastreabilidade e confiabilidade é exigência crucial

Já que dados analíticos não confiáveis podem levar o analista a tomar decisões errôneas com prejuízos irreparáveis. Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve passar pelo processo de validação. A validação de um método é um processo contínuo que inicia no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo do seu desenvolvimento.

A maioria dos órgãos reguladores do Brasil e de outros países exige a validação de metodologia analítica e, para isso, tem estabelecido documentos oficiais que são diretrizes a serem adotadas no processo de validação (EURACHEM, 1998;USP,2000;INMETRO, 2003). Um processo de validação bem definido e documentado oferece às agências reguladoras evidências objetivas de que os métodos e os sistemas são adequados para o uso desejado.

O processo de validação consiste na avaliação de diversos critérios, ou seja, seletividade , linearidade, gráfico analítico, sensibilidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e a precisão são considerados os mais relevantes porque permitem estimar os erros a variações embutidos nos resultados analíticos.

5.1-Seletividade-capacidade do método em detectar o analito de interesse, na presença de outros componentes da matriz.

5.2-Linearidade- Refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito enquadrados em faixa analítica especificada.A linearidade pode ser avaliada por meio da variância ponderada ou por meio da relação entre a concentração recuperada e a de fortificação que deve ser linear.

5.3-Função da resposta (gráfico analítico)- o gráfico analítico deve apresentar os dados estatísticos de intersecção, da equação de regressão linear, o coeficiente de correlação ou de determinação e a concentração estimada dos calibradores(solução padrão). O gráfico analítico poder ser construído usando-se no mínimo, cinco valores de concentração enquadrados no intervalo definido.

5.4-Sensibilidade- é a capacidade do método distinguir, com determinado nível de confiança duas concentrações próximas.

Em métodos sensíveis , uma pequena diferença na concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido.

NOTA: Tornou-se comum o uso errôneo desse termo para designar método com baixo limite de detecção.

5.5-Limite de detecção—menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob condições experimentais estabelecidas.

5.6-Limite de Quantificação- menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra, com exatidão, e precisão aceitáveis , sob as condições experimentais adotadas.

5.7-Exatidão- definida como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo analítico e constitui a chave para o propósito da validação.

5.8-Precisão- é o parâmetro que avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra . Usualmente é expressa como desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação (CV) de diversas medidas.

Em análise de resíduos, que é o caso da análise de PCBs, a validação do método ocorre, usualmente, por meio de ensaios de recuperação, uma vez que esse processo gera todas as informações necessárias para a avaliação do procedimento analítico. Além disto, são realizadas no próprio laboratório, sem necessidade de obtenção de materiais de referência certificados, adesão de outros laboratórios ou existência prévia de métodos validados .

Para determinar os parâmetros indispensáveis à validação são necessárias amostras contendo o analito de interesse em concentrações conhecidas. Essas amostras no estudo de resíduos, são obtidas adicionando-se os compostos a serem analisados na amostra controle, também denominada "amostra testemunha".

Denomina- se “nível de fortificação” a concentração em que o analito é adicionado na amostra controle..A escolha do nível de fortificação depende do propósito do estudo a ser realizado.

A recuperação consiste na relação percentual entre a concentração determinada mediante aplicação do procedimento analítico e o nível de fortificação. Os parâmetros para validação de métodos tem sido definidos em diferentes grupos de trabalho de organizações nacionais ou internacionais. A União Internacional de Química Pura e Aplicada(IUPAC), redigiu um documento técnico que define um guia para validação de métodos analíticos que tem sido utilizado pala ISO (RIBANI,2004).A Norma Internacional ISO/IEC 17025, que é uma norma específica para laboratórios de ensaio e de calibração, apresenta a “validação de métodos” como um dos requisitos técnicos importantes na qualidade assegurada dos laboratório de ensaio, bem como a documentação do trabalho de validação.

6-AMOSTRAGEM

NBR 8840- Fixa as condições a serem adotadas para amostragem de líquidos isolantes de recipientes e equipamentos elétricos e NB 789- Ascaréis para transformadores e Capacitores.

7- ETIQUETAGEM DAS AMOSTRAS

Após a coleta , amostra de óleo isolante para análise de PCBs deverá ser identificada com uma etiqueta amarrada com barbante ou similar ao frasco que contem a amostra.

Segue neste relatório uma sugestão de etiqueta (tag).

Medida -0,11m largura por 0,16 m comprimento

Confeccionada em poliéster ou cartolina. Poderá ser confeccionado também em laminado de alta resistência.

Deverá ser preenchida com caneta tipo esferográfica (não molhável)

AMOSTRA	
Empresa	Subestação/Usina
Equipamento	Nº Série
Fabricante	Ano fabricação
Tensão	Potência
Ponto de amostragem	Volume
Temperatura amostra	Temperatura ambiente
Data coleta	Coletado por:
Nº amostra	
Objetivo	

Neste Relatório, também estamos juntando sugestões de modelos de etiqueta, que acompanharão todas as etapas no que consiste a disposição ambientalmente saudável dos PCBs.

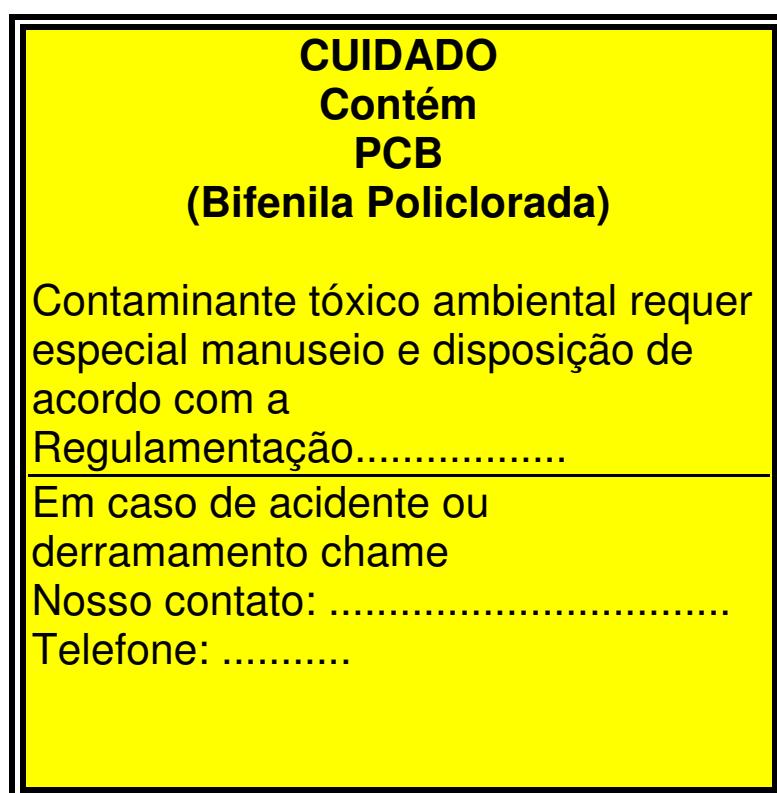
Etiqueta 01

-Amostra Ambiental

Medida 0,25m largura por 0,50 m comprimento

Confeccionada em material resistente(vinil) com suporte adesivo sensível à pressão.

Tinta de impressão –resistente ao desbotamento



Etiqueta 02-Equipamento tipo Capacitor

Medida 0,25m largura por 0,50 m comprimento

Confeccionada em material resistente(vinil) com suporte adesivo sensível à pressão.

Tinta de impressão –resistente ao desbotamento



Etiqueta 03-Equipamento tipo Transformador

Medida 0,25m largura por 0,50 m comprimento

Confeccionada em material resistente(vinil) com suporte adesivo sensível à pressão.

Tinta de impressão –resistente ao desbotamento

Este equipamento contém

**PCB
(Bifenila Policlorada)**

Transformador

Nº de série:

Data:

Etiqueta 04-Etiqueta para Transporte

Medida-0,50m largura por 0,80 m comprimento
Confeccionada em material flexível resistente
Pigmento de tinta automotiva com adesivo especialmente formulado.

**CUIDADO Contém PCB
(Bifenila Policlorada)**

Para remoção adequada contatar Agência de
Proteção Ambiental

Telefone:

Etiqueta 05-Deverá ser afixada no equipamento e ou recipiente que contém o fluído isolante

Medida 0,20m largura por 0,30 m comprimento

Confeccionada em material resistente(vinil) com suporte adesivo sensível à pressão.

Tinta de impressão –resistente ao desbotamento

Certificado

**O fluido dielétrico contido nesta
unidade foi analisado para
determinar o teor de PCB.
O certificado baseado no teste da
amostra indica que contém menor
que 50ppm de PCB e foi classificado
como NÃO PCB conforme NBR
13882:2005**

Equipamento:

Nº de Série:

Data:

Etiqueta 06-Para ser afixada em equipamento cujo teor de PCB seja < 50 ppm conforme NBR 8371

Medida 0,50m largura por 0,50 m comprimento

Confeccionada em material resistente(vinil) com suporte adesivo sensível à pressão.

Tinta de impressão –resistente ao desbotamento



Etiqueta 07- Para ser colocada em local de deposição dos PCBs antes da o tratamento adequado (incineração)

Medida 0,60m largura por 0,90 m comprimento

Confeccionada em material resistente(vinil) com suporte adesivo sensível à pressão e ou afixada por parafuso

Tinta de impressão –resistente ao desbotamento

**Resíduo para Descarte
Lei Federal proíbe descarte inadequado
Se encontrado contate um Agente de Segurança Pública
mais próximo ou Autoridade Ambiental**

Nome:.....

.....

Endereço:..... **Telefone:**.....

.....

Cidade:..... **Estado:**..... **País:**.....

Peso(kg):.....Data

Remoção:.....Data

Estocagem:.....

Referências Bibliográficas

01. ERICSON, M.D. Analytical Chemistry of PCBs. Stonenham: Butterwort, 1-53, (1986).
02. NISBET, I.C.T.; SARUFIM, A.F. - Tates and routes of transport of PCBs in the environment. Environ.Hlth Perspect.,60:201-9,(1985).
03. PEAKALL, D.B.; LICER, J.L.; BLOON, S.E. - Embryonic mortality and chrosomal alteration caused by Aroclor 1254 in ring doves. Environm.Hlth.Perspect., Research 1:103-104,(1972).
04. SMITH, A.J. Polychlorinated Biphenyls. In; Bennet, G.F.; Feats, F.S.Wilder, I. Hazardous materials spills handbook. New York, Mc Graw-Hill (1982).
05. JENSEN, S.; JOHNELS, A.G.; OLSSON, M.; OTTLERIND, G. - DDT and PCBs in marine animals from Swedish waters. Nature,224: 247-250, (1969).
06. LLOYD, J.W.; MOORE, R.M.; WOLF, B.S. e STEIN, H.P. Polychlorinated Biphenyls. J.Occup.Med. 18:109-113,(1976).

- 07. KURATSUNE, M.; YOSHIMURA, T.; MATSUZAKA, J.; YAMAGUCHI, A.** - Yusho- a poisoning caused by rice oil contaminated with Polychlorinated Biphenyls. HSMHA Hlth Rep.,36:1083-91,(1971).
- 08. ANDERSON, H.A.** - Utilization of adipose tissue biopsy in characterizing human halogenated hydrocarbon exposure. Environm.Hlth Perspect.60:121-131,(1985).
- 09. WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Polychlorinated Biphenyls and terphenyl (Environmental Health Criteria), Geneva, (1976).
- 10. NOGUEIRA, D.P.** Policloreto de Bifenila: um Problema de Saúde Pública. Rev. Bras. Saúde Ocupacional, pg. 56-61, 1987.
- 11. MONTONE, R.C.** - Determinação de Bifenilos Policlorados (PCBs) no ambiente Antártico marinho. Tese de Doutoramento, 98 p Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
- 12. MAC LEOD, K.E.** Polychlorinated Biphenyl in indoor air. Environm.Sci. Technol. 15:926-8,(1981).
- 13. FRIES, G.F.** Potential Polychlorinated Biphenyl residues in Animal Products from application of contaminated sewage sludge to land. J.Environm.Qual.,II:14-9,(1982).
- 14. KOBYE JUNIOR, A.C.** Food exposures to Polychlorinated Byphenyls. Environm.Hlth. Perspect., Research Triangle Park,60:193-9,(1985).
- 15. ALBERT, L.; ALDANA, M.C.P.; ORTIZ, E.** - Residuos de Policlorobifeniles em cereales industrializados mexicanos. Rev.Soc.Quim.Mex.,24:107-12,(1980).
- 16. ALBERT,L .et alii.** Polychorinated biphenyls in Mexican cereals and their packings. J.Environm.Sci.Hlth.,17:515-25,(1982).
- 17. POLISHUK, Z.W.; RON, M.; WASSERMANN, M.; CUCOS, S.; WASSERMANN D.; LEMESCH, C.** - Pesticides in people. Pesticides Monit.J.,10:129-9,(1977).
- 18. BALUJA, G.; HERNANDEZ, L.M.; GONZALEZ, M.J.; RICO, M.C.** Presence of organochloride pesticides, polychlorinated biphenyls, and mercury in Spanish human milk samples. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 28:573-7,(1982).
- 19. YAKUSHI, T.; WATANABE, I.; KUWABARA, K.; TANAKA, R; KASHIMOTO, T.; KUNITA, N.; HARA, I.** Postnatal transfer of PCBs from exposed mothers to their babies:influence of breastfeeding. Arch. Environm.Hlth., 39:368-75,(1984)
- 20. SLORACH, S.A. & VAZ, R.** PCBs levels in breast milk:data from the UNEP/WHO pilot project ion biological monitoring and some other recent studies. Environ.Hlth.Perspect,Research Triangle Park.,60:21-6,(1985)

21. PALEOLOGOU, M.; PURDY, W.C.; MISRA, S.K.; KORCZAK, S.Z Evaluation of a novel dechlorination reaction as an analytically useful derivatization reaction. *Intern. J. Environm. Anal. Chem.*, 50:215-42,(1993).
22. LLOYD, J.W.; MOORE, R.M.; WOOLF, B.S.; HARVEY, P.S. Polychlorinated Biphenyls. *J. Occup. Med.*, 18:109-13,(1976).
23. NBR 8371\2005 - Ascarel para transformadores e capacitores-Características e Riscos . Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (2005).
24. VOOGT, P.; KLAMER, J.C.; BRINKMAN, U.A.T. - Identification and Quantification of Polychlorinated Biphenyls in Paper and Paper Board Using Fused Sílica Capillary Gas Chromatography. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 32:45-52,(1984).
25. NOREN, KOIDU. Some Aspects of the Determination of Organochlorine Contaminants in Human Milk. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.* 12: 277-83,(1983).
26. PIÑEIRO, MARIAE. A; LOZANO, J. S.; YUSTY, M. A. L.; BARROS, S. T. C. G. - Comparison of two extraction methods for determination of PCBs and PCTs in Mussels from Galicia. *Talanta* 43 :487-491,(1996).
27. OJALA, M. - Simultaneous Separation and Determination of Chlorobenzenes, PCBs and Chlorophenols using Sílica Gel Fractionation and CG/DCE Analysis. *J. High Resolution Chromatography*, 16 (11):679-82(1993).
28. VIDAL, L.H.; TREVELIN, W.R.; LANDGRAF, M.D.; REZENDE, M.O.O. - Gas Chromatographic Method for Discriminating between Chlorinated Pesticides and Polychlorobiphenyls in Mixtures. *Analytica Chimica Acta*, 269:205-10(1992).
29. GORDON, R.J.; SZLTA, J.; FAEDER, E.J. - Determination of Polychlorinated Biphenyls in Transformer Oils by Capillary Gas Chromatography. *Anal. Chem.* 54:478-81,(1982).
30. SONCHIK, S.; MADELEINE, D.; MACEK, P.; LONGBOTTOM, J. - Evaluation of Sample Preparation Techniques for the Analysis of PCBs in Oil. *J. of Chrom. Science*, 22(7):265-271 .(1984).
31. BELLAR, T. A.; LICHTENBERG , J. J. - The Determination of Polychlorinated Biphenyls in Transformer Fluid and Waste Oils.(Report) - EPA-600/4-81-045,(1982).
32. VOOGT, P. - The Determination of Polychlorinates Biphenyls in Waste Mineral Oils:a review. *Chemosphere* ,23(7):901-14 (1991).
33. SHU, Y. Y.; DOEDALL, J. E.; CHIU ,C.; LAO, R. C. - Interference of Transformer oil matrices to the Internal Standards on PCB Quantification. *Inter. J. Anal. Chem.*, 60:185-94(1995).
34. DRAFT DOCUMENT D-4059-95-REV. ASTM COMMITTEE D-27: 1-15(1995).
35. SAUVIN, J. J.; ALENCASTRO, L. F.; TARRADELLAS, J.; CAMENZIND, R. ; KARLAGANIS,

- G.; VUILLEUMIER, C.** - Comparison of four Quantification Methods for the Determination of PCBs in Transformer oils. Fresenius J.Anal.Chem.350:555-562 (1994).
- 36. PAVONI, B.; SFRISO, A.; RACCANELLI, S.** - Quantification of PCBs in Environmental Samples: Comparison of results obtained with different analytical Instruments (GC-ECD,GC-MS) and Standards. Intern. J.Environ.Anal.Chem.44:11-20(1991).
- 37. FUOCO, R.; COLOMBINI, M. P.** - Polychlorobiphenyls in the Environment: Analytical Procedures and Data Evaluation. Microchemical Journal,51:106-21,(1995).
- 38. PESTICIDE Analytical Manual.** 3.ed.s.l.:U.S.Departament of Health and Human Services.FDA,1994.v.1,cap.5,section 504-10.
- 39. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATIONS OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE.** **Validation of analytical procedures:** methodology. [London], 1996. 8p.(ICH Harmonised Tripartite Guideline). Disponível em:<<http://www.ich.org/ich1.html>>.