



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS

**MEDIDA DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA SOLAR
BIOLOGICAMENTE ATIVA ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DA
DOSIMETRIA DE ESPORO E SUA COMPARAÇÃO COM
MEDIDAS OBTIDAS POR DETECTORES FÍSICOS**

**RELATÓRIO FINAL DE PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
(PIBIC/CNPq/INPE)**

**Fabício Baú Dalmas (UFSM, Bolsista PIBIC/CNPq)
E-mail: fabricao@lacesm.ufsm.br**

**Dra. Lúcia Schuch Boeira (INPE, Orientadora)
E-mail: lucia@lacesm.ufsm.br**

COLABORADORES

**Dr. Nelson J. Schuch (CRSPE/INPE)
Dr. Nobuo Munakata (Rikkyo University - Tokyo/Japão)**

Maio de 2003

Dados de Identificação:

Processo:

100570/2003-8

Bolsista:

Fabício Baú Dalmas

Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

Orientador:

Dra. Lúcia Schuch Boeira

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE

Título do Projeto:

Medida da radiação ultravioleta solar biologicamente ativa através da utilização da dosimetria de esporo e sua comparação com medidas obtidas por detectores físicos

Local de Trabalho/Execução do Projeto:

- Observatório Espacial do Sul – OES/RSU/INPE-MCT
- Laboratório de Ciências Espaciais de Santa Maria – LACESM/CT/UFSM-MEC
- Laboratório de Troposfera – Estratosfera – CRSPE/RSU/INPE-MCT
- Laboratório de Radiação Ultravioleta – Ozônio Atmosférico – CRSPE/RSU/INPE-MCT

Pesquisadores e Estudantes Colaboradores:

- Dr. Nelson Jorge Schuch - INPE
- Acadêmico André Passaglia Schuch – UFSM
- Acadêmico Fábio Pacheco Menezes – UFSM
- Acadêmico Cassiano Roman – UFSM
- Acadêmica Liana Franco Padilha – UFSM
- Acadêmico Ricardo Guarnieri – UFSM

Participante da Cooperação Brasil-Japão em Ciências Espaciais Básicas diretamente envolvidos no Projeto:

- Dr. Nobuo Munakata – Rikkyo University-Tokio/Japão



ÍNDICE GERAL

1- INTRODUÇÃO.....	5
2 - DESENVOLVIMENTO TEÓRICO	7
2.1. A radiação ultravioleta.....	7
2.2. O ozônio atmosférico	9
2.3. Efeitos biológicos da radiação ultravioleta solar	11
2.4. Métodos para monitorar a radiação UV biologicamente ativa.....	13
2.5. Critérios para qualificação e caracterização de dosímetros biológicos	15
2.5.1. Critérios fotobiológicos.....	15
2.5.2. Critérios radiométricos	16
2.5.3. O papel da medida UV espectral na dosimetria biológica	17
2.6. Dosimetria de esporo	19
3 - METODOLOGIA	23
3.1. Equipamentos utilizados pelo Programa de Monitoramento do Ozônio e Radiação Ultravioleta.....	23
3.1.1. Espectrofotômetro Brewer	23
3.1.2. UV-Biômetro	24
3.1.3. UV-Radiômetro	25
3.2. Dosímetro de esporos.....	26
3.2.1. Produção de esporos.....	26
3.2.2. Preparo de slides.....	27
3.2.3. Exposição solar	29
3.2.4. Contagem de viáveis	31



4 - RESULTADOS	32
4.1. Experimentos realizados em dezembro de 2002.....	32
4.2. Experimentos realizados em Março de 2003	40
5 - CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS.....	46
6 - BIBLIOGRAFIA.....	48
7 – ANEXOS.....	53
7.1. Certificados dos resumos.....	53
7.2. Cópia dos resumos/ Abstracts submetidos e aprovados.....	56



1- INTRODUÇÃO

A radiação solar é um dos fatores fundamentais para a vida na Terra. Além de efeitos benéficos e indispensáveis, a radiação solar pode causar danos à muitos organismos e, assim, pode também ser considerada como um fator de estresse ambiental importante para a vida na Terra. A descoberta nas últimas duas décadas da redução do ozônio atmosférico global e do fenômeno do buraco de ozônio tem causado um grande interesse científico devido ao possível aumento da intensidade de radiação ultravioleta solar na superfície terrestre (Kirchhoff 1995, Kirchhof et al. 1996). Um aumento na intensidade de radiação UV-B pode causar efeitos adversos na Biosfera. O ácido desoxirribonucléico (DNA), o material genético das células, é o principal alvo da radiação UV solar a nível molecular (McGregor 1999, Cadet et al. 1992), e portanto, danos biológicos incluindo riscos à saúde humana (Bednarska et al. 2000, Beissert and Schwarz 1999, Meyer-Rochow 2000, Van de Leun et al. 1993), à ecossistemas terrestres e aquáticos tem sido e também será no futuro uma preocupação global (Ries et al. 2000, Rousseaux et al. 1999). Conseqüentemente, o monitoramento da radiação UV solar tem sido realizado mundialmente.

A energia absoluta na porção UV-B do espectro solar ocupa uma fração muito pequena da insolação total e, provavelmente, é a porção mais vulnerável às mudanças e perturbações das condições ambientais tais como variações de composição química da atmosfera, meteorológicas e geográficas (Kirchhof 1995). Devido a sua pequena intensidade, a medida de radiação UV solar na superfície da Terra é extremamente difícil. Espectrorradiômetros têm sido desenvolvidos para evitar estas dificuldades e, atualmente, estes equipamentos são capazes de produzir medidas espectrais da mais alta qualidade. No entanto, estes equipamentos são caros e necessitam de uma calibração e manutenção rigorosas para produzir resultados precisos e, assim, limitados a determinados locais.

Sabe-se que existe uma relação inversa entre a intensidade espectral solar e o espectro de absorção da molécula de DNA. A intensidade solar diminui grandemente quando o comprimento de onda torna-se mais curto e a absorção de radiação pela molécula de DNA ocorre em comprimentos de onda curtos. Portanto, é difícil e impraticável estimar efeitos



biológicos através de determinações físicas do espectro solar. Para o estudo de efeitos biológicos através de determinações físicas utilizam-se espectros de ponderação, os quais atribuíram pesos maiores a comprimentos de onda de maior interação biológica, e a sensibilidade biológica nos diferentes comprimentos de onda é descrita por um espectro de ação (McKinley e Diffey 1987; 1999, Yoon et al. 2000).

Determinações biológicas realizadas sobre a luz solar natural são fáceis, mas para que um sistema biológico possa ser utilizado como um sensor útil, a amostra/sistema deve cumprir várias exigências, como: deve permitir fácil transporte e manipulação à campo; deve ser suficientemente sensível e o efeito biológico avaliado deve ser afetado somente pela radiação e não por outros fatores ambientais. Entre os métodos citados e propostos na literatura como biosensores solares capazes de medir diretamente o efeito biológico causado pela radiação UV, o método biológico baseado na inativação de esporos de *Bacillus subtilis* desenvolvido por Munakata (1980), apresenta várias propriedades adequadas para sua utilização como um dosímetro solar biológico, incluindo sua simplicidade e facilidade de uso e transporte para o local de teste e armazenamento prolongado estável antes e depois da exposição.

Este trabalho teve como objetivo comparar as medidas de radiação ultravioleta solar obtidas através da dosimetria de esporo com as obtidas pelos detectores físicos UV-Biômetro, UV-Radiômetro e Espectrofotômetro Brewer instalados no OES.



2 - DESENVOLVIMENTO TEÓRICO

2.1. A radiação ultravioleta

A radiação ultravioleta (UV) representa uma pequena fração da energia radiante total que atinge a superfície da Terra. É de grande importância na estruturação da atmosfera terrestre e também tem grande ação na biosfera (Frederick e Lubin, 1994; Frederick e Lubin, 1988; Madronich, 1993). A radiação UV influencia na distribuição de temperatura, na fotoquímica e na dinâmica através de sua absorção pelos constituintes atmosféricos, determinando as estruturas da estratosfera, mesosfera e termosfera inferior (Brasseur e Solomon, 1984). A radiação UV que atinge a biosfera varia com o tempo e localização.

Dentre os fatores que afetam a quantidade e distribuição da radiação UV, pode-se citar: o ângulo solar zenital; espessura e distribuição vertical da coluna de ozônio; absorção e espalhamento por aerossóis e gases atmosféricos; absorção, espalhamento e reflexão por nuvens; albedo do solo; altitude e latitude geográficas (Madronich, 1993; WHO, 1994).

Uma classificação universalmente adotada para a radiação ultravioleta baseia-se em critérios de acordo com a sua interação biológica. De acordo com este critério, a radiação é classificada em UV-A, 320 nm – 400 nm; UV-B, 280 nm – 320 nm, e UV-C, < 280 nm (Robinson, 1966). A radiação na faixa do UV-A compreende aproximadamente 6,3% da emissão da energia total do Sol (Frederick e Lubin, 1994). A absorção pela atmosfera é muito fraca e em consequência a maior parte da radiação UV-A atinge o solo.

A radiação na faixa UV-B corresponde a 1,5 % da energia total do Sol (Frederick e Lubin, 1994), tendo o maior efeito biológico na superfície terrestre (Kirchhoff, 1995). Esta faixa é fortemente absorvida pelo ozônio, mas uma parcela significativa ainda atinge a superfície terrestre. A radiação na faixa UV-C corresponde a cerca de 1% da emissão solar (Frederick e Lubin, 1994) e não atinge a superfície terrestre devido à forte absorção na atmosfera pelo ozônio e oxigênio molecular (Figura 2.1). Sua importância reside em dirigir a química da estratosfera e a formação da camada de ozônio.

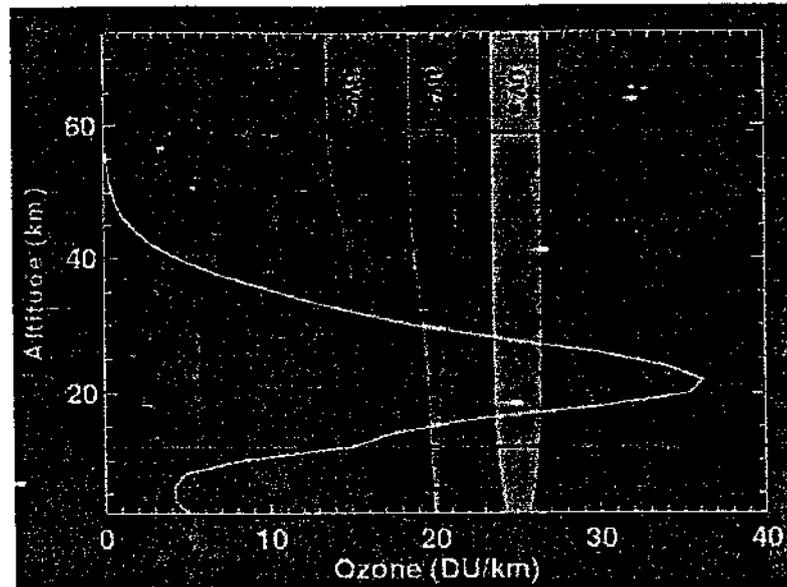


Figura 2.1. Penetração da Radiação Ultravioleta na atmosfera terrestre (Fonte: <http://jwocky.gsfc.nasa.gov>)

A Radiação Ultravioleta do tipo B (Radiação UV-B) corresponde a uma pequena parcela da energia solar total incidente na superfície terrestre. Entretanto, a Radiação UV-B é a que possui maior interação biológica. Na faixa de 280 para 320 nm (UV-B) a intensidade de radiação cresce rapidamente, isto é, a intensidade é muito maior em 320 do que em 280 nm. A sensibilidade biológica comporta-se de forma contrária: a maior interação da radiação com os seres vivos ocorre nos menores comprimentos de onda. Devido a esse fator, os dados de Radiação UV-B total são ponderados com um espectro de ação, como exemplo o Espectro de Ação de Eritema (McKinlay e Diffey, 1987), ou seja, é atribuído um peso para cada comprimento de onda na faixa analisada.

Como mencionado acima, a irradiância biologicamente ativa é melhor considerada sob a forma de uma energia ponderada. Para um “espectro de intensidade de radiação” $E(\lambda)$ e um “espectro de ação” $S(\lambda)$ a “intensidade espectral ponderada” para um efeito biológico particular é definida pelo produto $E(\lambda)S(\lambda)$. Integrando-se o produto $E(\lambda)S(\lambda)$ sobre todos os comprimentos de onda obtém-se a intensidade de radiação efetiva (taxa de energia efetiva), resultado da convolução das intensidades espectrais com o espectro de ação; integrando esta irradiância efetiva sobre um período de tempo, obtém-se a Dose de



Radiação, em unidades de energia por área [J/m^2]. A expressão a seguir representa matematicamente o conceito de dose:

$$\text{Dose} = \iint E(\lambda)S(\lambda)d\lambda dt$$

A dose é uma quantidade de energia ponderada para uma dada ação biológica a que, por exemplo, uma pessoa foi exposta num processo de irradiação. Uma definição muito importante é a dose eritematosa mínima, que uma vez aplicada produz após um período de 24 horas sinais de queimadura na pele (situação eritematosa). Surge daí a definição do MED (*Minimum Erythema Dosis*) que é a quantidade de energia mínima capaz de causar um eritema.

2.2. O ozônio atmosférico

O ozônio atmosférico assume um papel de importância vital para a biosfera terrestre, pois absorve a radiação ultravioleta proveniente do Sol. A radiação correspondente à faixa do UV-B, incidente na superfície, é a que apresenta a maior suscetibilidade às variações da quantidade de ozônio, além de ser a responsável pelos maiores danos aos sistemas biológicos. A região atmosférica onde as moléculas de ozônio estão preferencialmente localizadas é a estratosfera, definida entre 15 e 50 km de altura.

A Figura 2.2. apresenta a seção reta de absorção molecular para o ozônio na temperatura de 226 K para a faixa 290-325 nm (Molina e Molina, 1986). Observa-se que a seção reta de absorção molecular decai exponencialmente com o comprimento de onda na região espectral considerada, ou seja, a absorção de radiação pelo ozônio é mais intensa em comprimentos de onda mais curtos.

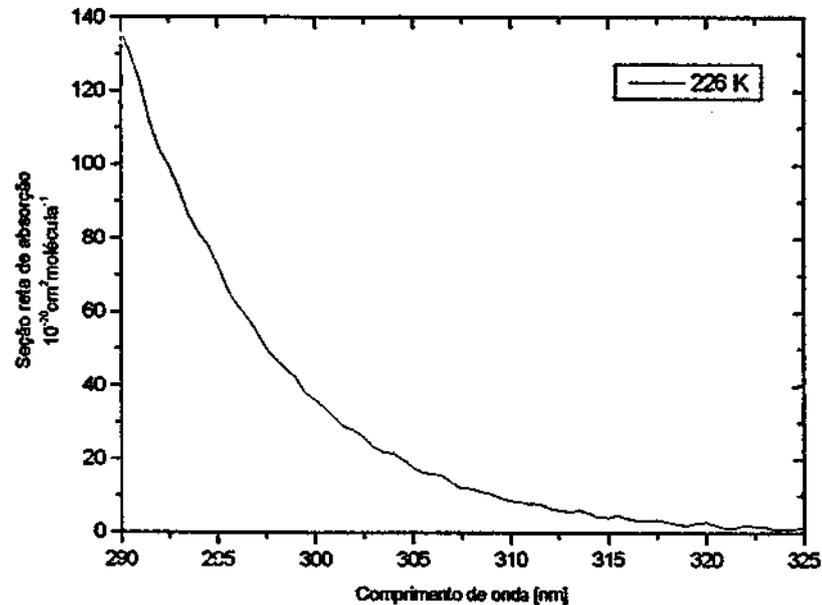


Figura 2.2. Seção de absorção molecular de ozônio na faixa de 290 a 325 nm (Fonte: Molina e Molina, 1986).

Quando se quer estudar a absorção de radiação solar, é importante saber a quantidade total de moléculas de ozônio no caminho ótico da radiação solar. Surge então a definição de “ozônio total” ou “coluna total de ozônio”. A unidade adotada para a Coluna Total de Ozônio é a Unidade Dobson (UD). Uma Unidade Dobson (1 UD) equivale a uma coluna atmosférica de ozônio de 0,001 cm de espessura, comprimida nas condições normais de temperatura e pressão, 0°C e 1 atm. Uma Unidade Dobson contém $2,69 \cdot 10^{16}$ moléculas de Ozônio, numa coluna de base unitária de área 1 cm^2 .

No início dos anos 1980s foi constada uma grande redução no ozônio durante a primavera austral no continente antártico (Chubachi, 1984; Farman et al., 1985). Esta mudança drástica na coluna total de ozônio foi verificada ser muito grande em profundidade e extensão, mas restrita à região da Antártica. Este fenômeno, que é sazonal, foi batizado com o nome de Buraco de Ozônio Antártico (Solomon, 1990; Anderson et al, 1991). O buraco de ozônio é definido geograficamente como a área onde a coluna total de ozônio é menor que 220 UD.



Uma redução significativa do ozônio poderia acarretar um aumento no fluxo da radiação UVB na superfície terrestre, sendo estimado que uma redução de 1 % no ozônio total poderia acarretar um aumento de 1,2 % da radiação UV biologicamente ativa (Krzýscin, 1996; McKenzie et al., 1991).

2.3. Efeitos biológicos da radiação ultravioleta solar

A molécula de DNA está frequentemente exposta a agentes, naturais ou artificiais, que provocam modificações na sua estrutura e na sua composição química. Dentre os agentes naturais, os efeitos da interação da radiação ultravioleta solar do tipo B no DNA têm causado um grande interesse científico, justamente pelo fato de que o dano causado no DNA é o evento inicial numa variedade de reações fotobiológicas críticas, como por exemplo, o bloqueio das rotas de duplicação e transcrição do DNA, que resultam em processos de morte celular como a apoptose. Em outros casos, as lesões que são fixadas no genoma como mutações, alteram o código genético inicial, podendo resultar em processos de tumorigênese.

A radiação UV-B produz principalmente dois tipos de lesões (Fig. 2.3), os dímeros de pirimidina ciclobutano (CPDs) e os dímeros de pirimidina-pirimidona ou 6-4 fotoprodutos, que são originados pela ligação covalente de duas pirimidinas adjacentes, principalmente entre timinas. Quando estas lesões não são corrigidas corretamente pela maquinaria de reparo do DNA, elas podem ter efeitos no processo de morte celular, envelhecimento, mutagênese e carcinogênese.

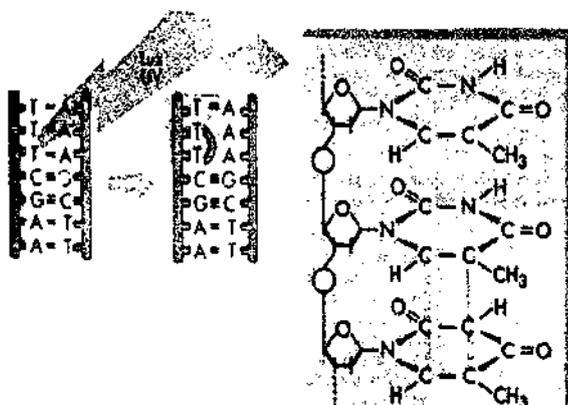


Figura 2.3. Efeito da irradiação UV sobre uma molécula de DNA, causando a dimerização entre bases nitrogenadas, principalmente entre Timinas.



Pelo fato de a molécula de DNA ser o material genético da célula e, portanto, presente em todos os seres vivos, qualquer dano na sua estrutura ou composição pode desencadear uma série de conseqüências nos seres humanos, ecossistemas terrestres e aquáticos.

Nos seres humanos, a exposição à radiação UV por curto período pode induzir a eritema, ou queimadura solar, o qual, se grave o bastante, pode resultar em formação de bolhas e destruição da superfície da pele com infecções secundárias e efeitos sistêmicos, similares a queimaduras de primeiro ou segundo grau por calor (WHO, 1994).

Entretanto, exposições por longos períodos muitas vezes induzem doenças degenerativas na pele, além de tumores pigmentados (melanomas) e não pigmentados (não melanomas). No Brasil, segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer, Ministério da Saúde, o principal câncer que atinge a população brasileira é o câncer de pele não-melanona.

Efeitos intensos da radiação UV nos olhos consistem-se no desenvolvimento de cataratas e fotoconjuntivites, as quais são desconfortáveis, mas normalmente reversíveis e facilmente prevenidas com o uso apropriado de proteção ocular (óculos com filtros contra UV).

Um efeito positivo da radiação UV é a formação da vitamina D₃ a partir do *7-dehydrocholesterol* (Tevini, 1993a). Esta é uma vitamina essencial ao corpo, pois regula o metabolismo do cálcio e do fosfato e previne o raquitismo.

Nos ecossistemas terrestres, a radiação UV pode interferir no crescimento das plantas. O grau de efetividade da radiação UVB varia de espécie para espécie. Quando sensibilizadas as plantas muitas vezes exibem uma redução na altura, no peso seco, na área das folhas, na atividade fotossintética e na floração. Enzimas fotossintéticas, caminhos metabólicos e pigmentos fotossintéticos podem ser afetados diretamente ou indiretamente pela radiação UVB, resultando na diminuição da atividade fotossintética (Tevini, 1993b)

Nos ecossistemas aquáticos, a radiação UV pode causar efeitos adversos no fitoplâncton, base de toda a cadeia alimentar aquática que serve como alimento para os consumidores

primários (como larvas de peixes e camarão), os quais por sua vez são consumidos pelos consumidores secundários e terciários (peixes). O fitoplâncton orienta-se dentro da coluna de água usando fatores externos, assim os mecanismos de mobilidade e orientação são prejudicados pela exposição à radiação UVB (WHO, 1994; Häder, 1993). Esta inabilidade do fitoplâncton de ajustar sua posição dentro da coluna de água causa massiva inibição da fotossíntese (WHO, 1994; Vernet et al. 1994).

2.4. Métodos para monitorar a radiação UV biologicamente ativa

Para avaliar os riscos biológicos provocados pela radiação UV, é necessário um sistema preciso e seguro que pondere a irradiância espectral de acordo com a resposta biológica considerada. Em geral, três métodos para quantificar a eficiência biológica da radiação UV ambiental podem ser utilizados: (1) espectroradiômetros ponderados, onde quantidades radiométricas ponderadas biologicamente são derivadas dos dados espectrais pela multiplicação com o espectro de ação de uma reação fotobiológica relevante, como exemplo: dano ao DNA, formação de eritema, câncer de pele, redução de produtividade de plantas terrestres ou sensibilidade de ecossistemas aquáticos à radiação UV; (2) uso de substâncias químicas que possuam sensibilidades espectrais semelhantes a uma curva de resposta biológica e (3) dosímetros biológicos que ponderam diretamente a luz solar incidente em relação à eficiência biológica dos diferentes comprimentos de onda e a interação entre eles.

Para a avaliação de riscos é necessária uma medida segura da dose ativa biologicamente, o qual é dada pela ponderação da irradiância espectral incidente com a eficiência biológica dos diferentes comprimentos de onda. A dose ativa biologicamente pode ser medida diretamente através da utilização de dosímetros biológicos como a dosimetria de esporos.

Acredita-se que o principal dano molecular causado pela radiação UV é a formação de fotoprodutos no DNA. A indução de fotoprodutos é intrinsecamente invariável, ou seja, sua formação é independente das mudanças de tempo e calibração, os quais são inevitáveis para detectores físicos (Hieda 1999).



Idealmente, a resposta espectral de um dosímetro biológico deve ser idêntica aquela do efeito fotobiológico considerado. Muitos dosímetros biológicos são baseados em bactérias, vírus ou biomoléculas como detectores sensíveis à radiação UV e grandemente refletem a sensibilidade do material genético da vida à radiação UV. Como existe uma grande evidência de que o dano causado no DNA pela radiação UV é o evento inicial numa variedade de reações fotobiológicas críticas, tais como: imunossupressão, promoção de tumor e fotocarcinogêneses em humanos, e apresenta um papel central nos efeitos adversos da radiação UV nas plantas terrestres e para uma certa extensão em ecossistemas aquáticos, dosímetros biológicos baseados na capacidade da luz solar de danificar o DNA são especialmente apropriados para medir as implicações biológicas da radiação UV na superfície da terra (Horneck 1999). Além disso, muitos sistemas dosimétricos biológicos são caracterizados por um aumento exponencial da sensibilidade espectral nos menores comprimentos de onda na região ultravioleta. Portanto, eles respondem de uma maneira muito sensível a pequenas variações nos menores comprimentos de onda do espectro solar que são modulados pelo ozônio e, também, seus espectros de ação são similares aquele obtido para o dano no DNA (Fig. 2.4). O espectro de ação de esporos de *Bacillus subtilis* TKJ6312, utilizado na dosimetria de esporo, foi obtido através da interpolação de valores da taxa de inativação de esporos determinada experimentalmente utilizando o “Okazaki large spectrograph” (Munakata et al. 2000). O espectro de ação de indução de eritema (McKinley and Diffey 1987) é uma referencia estabelecida pela “Commission International de l’Eclairage (CIE) e o espectro de dano ao DNA foi originalmente compilado por Setlow (1974).

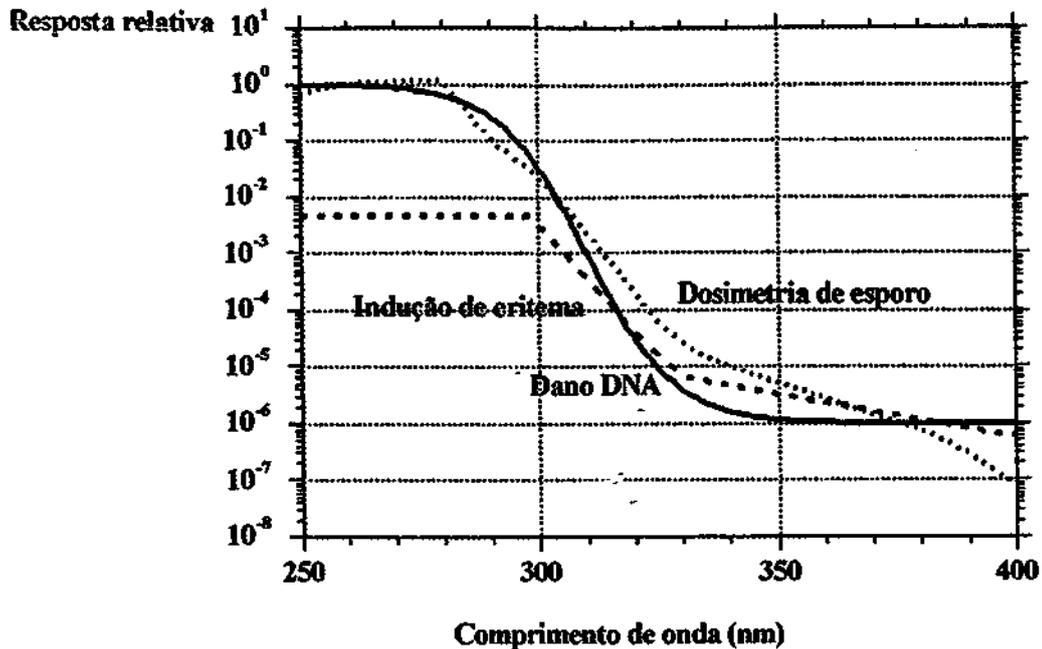


Figura 2.4. Espectro de ação Eritema, DNA e Esporo. (Fonte: Munakata et al. 2002).

2.5. Critérios para qualificação e caracterização de dosímetros biológicos

2.5.1. Critérios fotobiológicos

A dosimetria biológica é especialmente válida quando é indicativa de um processo fotobiológico significativo, tais como: efeitos da radiação UV na saúde humana e balanço de ecossistemas. A vantagem de um dosímetro biológico reside na coincidência de sua resposta espectral para aquela do fenômeno considerado. Embora quase todos os espectros de ação de efeitos biológicos adversos da luz solar diminuam com o aumento do comprimento de onda na região UV-A e UV-B, a proporção de declínio varia consideravelmente. Mesmo assumindo o mesmo ponto final, eles podem ser diferentes para espécies diferentes e mesmo para cepas. Este fenômeno reflete a complexidade de uma variedade de mecanismos celulares para processar o dano induzido pela radiação UV. A maioria dos espectros de ação utilizados na ponderação de medidas espectrais para obter a radiação biologicamente ativa foram determinados por organismos expostos a radiação



monocromática. A luz solar, entretanto, é policromática e radiações de diferentes comprimentos de onda podem interagir. Portanto, se existe a possibilidade de um efeito interativo da radiação solar, e se esta hipótese for comprovada, então o espectro de ação monocromático deveria ser complementado pelo espectro de ação policromático.

2.5.2. Critérios radiométricos

Dosímetros biológicos devem preencher os mesmos critérios como para qualquer outro sistema dosimétrico, como a reprodutibilidade do sistema e suas propriedades ópticas. Um conjunto de critérios foi estabelecido pelo projeto BIODOS da Comissão Européia, um projeto para desenvolver sistemas dosimétricos biológicos para monitorar o impacto da radiação UV ambiental na saúde humana e biosfera. A eficiência da radiação UV solar deve ser quantificada em unidades de medida que possam ser comparadas com outras medidas (como exemplo, dados calculados de espectroradiômetros) e devem possibilitar a conversão para outras unidades de importância média/fotobiológica (como exemplo MED).

Para obter dados reprodutíveis, o procedimento deve ser padronizado, o sistema sensível biológico deve ser bem definido (como exemplo por cepas bem definidas geneticamente), a operação do dosímetro deve ser independente de condições ambientais (temperatura, umidade relativa, chuva, etc.) e deve ser estável com o tempo. Exigências rígidas foram estabelecidas para as propriedades radiométricas, o qual incluem a curva de identificação, o espectro de ação, a linearidade da resposta, aditividade da resposta, a resposta absoluta e relativa, o potencial de interações policromáticas, sua dependência com a temperatura e umidade relativa e o design da entrada óptica. A viabilidade de dosímetros biológicos deve ser comprovada pela intercomparação com espectroradiômetros ponderados biologicamente. Para aplicações a campo, os dosímetros biológicos devem cumprir exigências importantes, como: ser robusto, apresentar estabilidade por longo período de tempo, ser de fácil manuseio, seguro e baixo custo (Horneck 1999, Bais and Kazadzis 1999, Gillotay and Bolsee 1999, Hieda 1999).



2.5.3. O papel da medida UV espectral na dosimetria biológica

Espectroradiômetros e sistemas dosimétricos biológicos apresentam princípios de operação diferentes, o que faz a comparação de suas medidas difícil. Pode-se distinguir três principais diferenças entre estes métodos, que são: a geometria da entrada óptica, o tempo de medida e a sensibilidade espectral relativa (Bais e Kazadzis 1999). Os efeitos produzidos por estas diferenças devem ser levados em consideração antes de realizar uma comparação direta destes dois sistemas.

2.5.3.1. Geometria

Os tipos mais comuns de medidas espectrais da radiação UV solar são aquelas representadas pela irradiação global e direta. A primeira é também conhecida como irradiância ponderada pelo cosseno, desde que todos os fluxos de fótons são monitorados como o produto do cosseno de seus ângulos de incidência. Além destes dois tipos de medidas, existe a chamada fluxo actínico que representa a radiação que receberia um sensor esférico. Existem poucos equipamentos capazes de medir espectralmente o fluxo actínico. Cada um destes três tipos de medidas apresentam aplicabilidade diferente, o qual esta intimamente relacionada a superfície que recebe a radiação. Alguns sensores biológicos são expostos similarmente a objetos esféricos, enquanto outros são próximos a exposição em superfície plana. Existe grande diferença entre estes tipos de medidas e, portanto, é importante caracterizar corretamente as propriedades de exposição dos dosímetros biológicos antes de compará-los com medidas físicas. Atualmente, muitos espectroradiômetros são capazes de registrar separadamente a irradiância direta, difusa e global, permitindo a simulação de geometria de exposição de sensores biológicos, o qual resulta em comparações que são mais adequadas.

2.5.3.2. Tempo de medida

A varredura espectroradiométrica necessita de vários minutos para completar o registro de um completo “scan”. Isto pode introduzir significantes incertezas e erros, especialmente quando medidas durante condições atmosféricas altamente variáveis são realizadas. Ao contrário, piranômetros de resposta rápida ou detectores de banda larga podem seguir muito aproximadamente a variação da radiação a campo no tempo, fornecendo medidas com tempo de resolução da ordem de um segundo. Nas medidas espectrais, a variabilidade da radiação a campo pode levar a distorção do espectro, alterando desta forma as características espectrais. A variação da radiação ambiental durante um dia claro é muito pequena, assim, mesmo a média de dados de um detector de banda larga seria suficiente para a comparação com medidas espectrais. Por outro lado, durante dias nublados a variação pode ser elevada, causando dificuldades nas comparações.

2.5.3.3. Sensibilidade Espectral

Nos sensores biológicos, como muitas moléculas orgânicas nos tecidos vivos contêm cromóforos que absorvem eficientemente na região UV-B (Madronich 1993), a radiação é estimada por seu impacto nos organismos. Como exemplo desse impacto, pode-se citar a fotossíntese, morte de bactérias ou microrganismos, dano no DNA, eritema e aparecimento de câncer de pele. Para quantificar esse impacto, detectores de UV biológicos integram a radiação solar em relação ao comprimento de onda e tempo e, assim, fornecem um registro de dose biologicamente ativa total em relação a um determinado período independente de mudanças nas condições de tempo.

Os detectores biológicos, geralmente estão baseados em um dos processos biológicos mencionados acima, o qual são estimulados pela radiação UV solar e são caracterizados por um único espectro de ação. A determinação do espectro de ação para cada sistema biológico é uma tarefa difícil, e erros na determinação do espectro de ação podem causar erros na irradiância ponderada biologicamente. Deve-se mencionar, que respostas

biológicas podem refletir interações entre diferentes comprimentos de onda da região UV. Interações sinérgicas entre radiação UV de diferentes energias foram relatadas para diferentes pontos finais biológicos, especialmente para sistemas proficientes no reparo de DNA. Tais interações potenciais não estão incorporadas nos espectros de ação determinados pelas fontes de radiação monocromática. Se estas interações fossem conhecidas, elas poderiam ser facilmente levadas em consideração na ponderação biológica de medidas espectrais.

2.6. Dosimetria de esporo

A dosimetria de esporo consiste na utilização de *Bacillus subtilis* TKJ6312 para medir a radiação ultravioleta solar biologicamente ativa. Este método baseia-se na perda da capacidade formadora de colônia devido ao dano causado no DNA da bactéria, *Bacillus subtilis*, pela radiação ultravioleta. A bactéria pertencente a espécie *Bacillus subtilis* tem a forma de um cilindro de aproximadamente 3-5 μm de comprimento e 1 μm de largura (Figura 2.5).

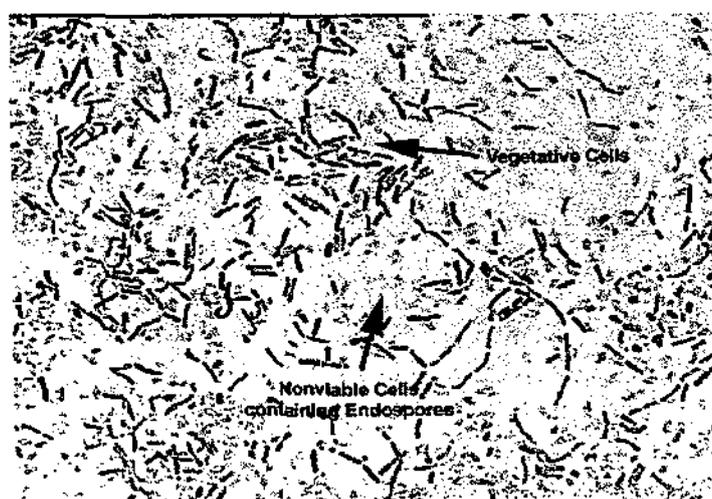


Figura 2.5. Micrografia de *Bacillus subtilis* em coloração de Gram.

Algumas espécies de bactérias Gram positivas (principalmente dos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina* y *Thermoactinomyces*), dispõem de uma série de estratégias adaptativas quando se vêem submetidas à privação de nutrientes em seu meio ambiente.

Estas bactérias, além do crescimento vegetativo, podem apresentar um estilo de vida alternativo que implica na formação de esporos, processo de diferenciação celular. Os esporos apresentam uma morfologia e uma composição enzimática e química que lhes confere resistência a condições pouco propícias ao crescimento vegetativo, como: ausência de nutrientes, baixa disponibilidade de água ou temperatura elevada. O conteúdo de água diminui de 75-80%, nas células vegetativas, para 15-20% nos esporos, os quais apresentam uma baixa atividade metabólica (dormentes) comparada à das células vegetativas (Black 1996).

As células vegetativas quando submetidas a condições adversas formam esporos como uma estratégia de sobrevivência (Figura 2.6).

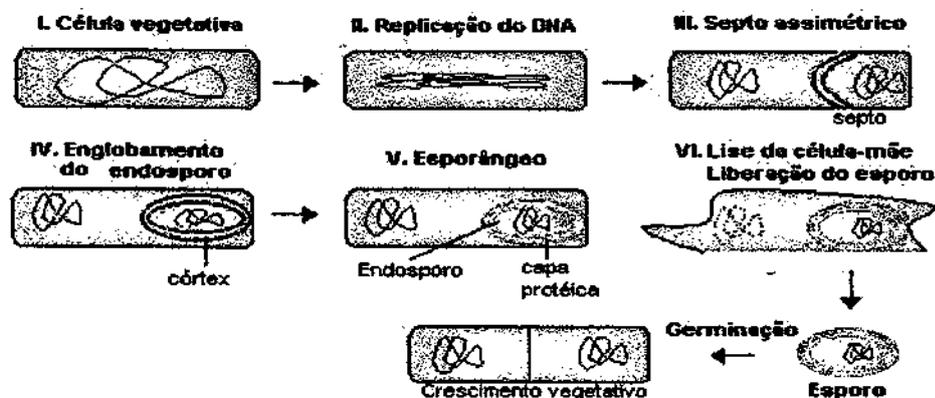


Figura 2.6. Processo de diferenciação celular de uma célula vegetativa para a formação de esporo.

Este processo de diferenciação celular segue os seguintes passos:

- Replicação e condensação do DNA formando uma estrutura filamentosa paralela ao eixo longitudinal da célula.

- Divisão celular assimétrica decorrente da invaginação da membrana plasmática em posição distal da célula, formando-se um septo que origina os dois compartimentos.
- Expressão gênica compartimentalizada.
- Englobamento do pré-esporo pela célula-mãe a qual produzirá uma série de novas moléculas que serão depositadas ao redor do pré-esporo, organizando a córtex e a capa de proteínas que envolverão o esporo maduro.
- Morte programada da célula mãe e concomitante liberação do esporo maduro.

O esporo (Figura 2.7) quando encontra condições propícias para o crescimento, germina e retoma a forma vegetativa.

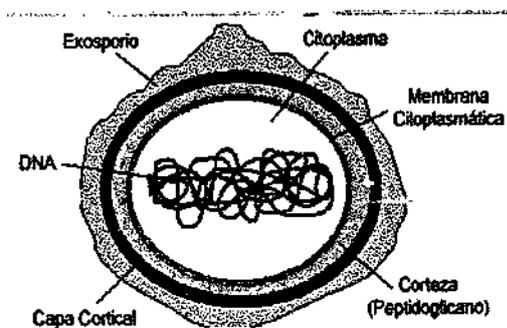


Figura 2.7. Estruturas de um esporo

Embora o DNA nos esporos é muito bem protegido de muitos parâmetros tóxicos ambientais, a exposição à radiação UV solar causa a formação de “esporo fotoprodutos” entre resíduos de timinas adjacentes em uma maneira similar à formação de dímeros de pirimidina ciclobutano ou fotoprodutos 6-4 nas células vegetativas.

Bactérias formadoras de esporos desenvolveram um sistema único de reparo para enfrentar a formação de “esporo fotoprodutos” no DNA. O dano não é somente reparado pela presença do “reparo por excisão de nucleotídeo”, mas também por uma enzima de conserto completamente especializada para os fotoprodutos (Munakata 1974).

Esta liase esporo fotoproduto é uma das mais criativas estratégias adaptativas empregada por bactérias formadoras de esporos. O duplo mecanismo de reparo operando na



germinação e crescimento das células foi geneticamente analisado usando combinações de mutantes. Uma das cepas apresentou mutações em ambos os sistemas de reparo e produziu esporos hipersensíveis à radiação UV. A cepa de *Bacillus subtilis* deficiente nos dois mecanismos de reparo do DNA foi denominada de TKJ6312. Estes esporos foram inativados para 37% de sobrevivência quando expostos a 0.8 J/m^2 a 254 nm (Munakata e Rupert 1975). Em experimentos realizados posteriormente foi demonstrado que estes esporos com dupla mutação são extremamente sensíveis quando expostos à luz solar natural e a dose letal foi obtida em poucos minutos (Munakata 1989).

Existem dois aspectos importantes na cinética de inativação de esporos deficiente no reparo relevantes para a dosimetria. Um é a hipersensibilidade que permite medidas em curta duração. O outro é a rígida cinética exponencial em contraste a esporos proficiente no reparo que exibem moderado “shoulder” na curva de sobrevivência. Devido à cinética exponencial, a dose recebida pelos esporos pode ser determinada por uma medida de qualquer duração. Esta generalização parece ocorrer para qualquer radiação monocromática de comprimentos de onda entre 150 nm e 400 nm, e, portanto, para todos os componentes da radiação UV solar genotóxica (Munakata et al. 2000). Entretanto, é seguro assumir que esta cinética exponencial também permanece verdadeira para a radiação solar natural, apesar do fato de que neste caso, a radiação é policromática e o componente de comprimento de onda exhibe mudanças incessantes.

No laboratório, as curvas de sobrevivência foram obtidas pela irradiação de esporos em suspensão aquosa. Entretanto, em experimentos a campo, é inconveniente realizar exposições em solução aquosa. A introdução de amostras secas grandemente ampliou a aplicabilidade da dosimetria. Como os esporos deviam ser re-suspensos em água antes da determinação da habilidade de formar colônias, o método de secar e recuperar os esporos precisou ser desenvolvido. Nas primeiras tentativas, a suspensão contendo um número fixo de esporos (cerca de 5×10^8) foi adicionada num filtro de membrana ($0.25 \mu\text{m}$) com a utilização de sucção fraca, e a extração foi realizada esfregando com uma pipeta ou pela utilização de ultra-som (Munakata 1980). Este método de recuperação dos esporos foi laborioso e algumas vezes incerto. Posteriormente, quatro amostras contendo cerca de 10^6

esporos e suspensas em agarose de baixo-derretimento foram adicionadas no filtro de membrana e este procedimento foi satisfatório em assegurar uma completa recuperação por aquecimento de pedaços do filtro em água a 75°C por 15 min (Munakata et al 1996, Munakata et al 1998).

Com a utilização de esporos suspensos em agarose e adicionados em filtro de membrana, o espectro de ação de inativação dos esporos foi obtido (Figura 2.4) abrangendo os comprimentos de onda de 254 nm a 400 nm (Munakata et al 1996, Munakata et al 2000). O espectro de ação destes experimentos é o mais extensivo atualmente, e utilizado para as comparações quantitativas com detectores físicos através de cálculos de eficiência como formulado por Setlow (1974).

3 - METODOLOGIA

3.1. Equipamentos utilizados pelo Programa de Monitoramento do Ozônio e Radiação Ultravioleta

3.1.1. Espectrofotômetro Brewer

O Espectrofotômetro Brewer modelo MK III 167 (SCI – TEC Instruments Inc.) é um equipamento que efetua medidas de radiação através de varreduras do espectro, determinando o fluxo de energia nos diferentes comprimentos de onda. O Brewer mede UV em uma faixa que varia de 286,5 nm a 363 nm, com uma resolução de 0,5 nm. Assim, para cada comprimento de onda, a cada 0,5 nm, é medida uma quantidade de energia particular.

O Brewer é um equipamento totalmente automatizado, contendo seu próprio microprocessador que controla as operações internas do instrumento, como os prismas, filtros, grade de difração, micrômetro e outras partes móveis dotadas de motores. O microprocessador está ligado a um microcomputador que contém os programas de operação do instrumento, bem como de redução e armazenamento de dados. O instrumento

Brewer é composto por três partes: tripé, *tracker* e espectrofotômetro propriamente dito (Figura 3.1).

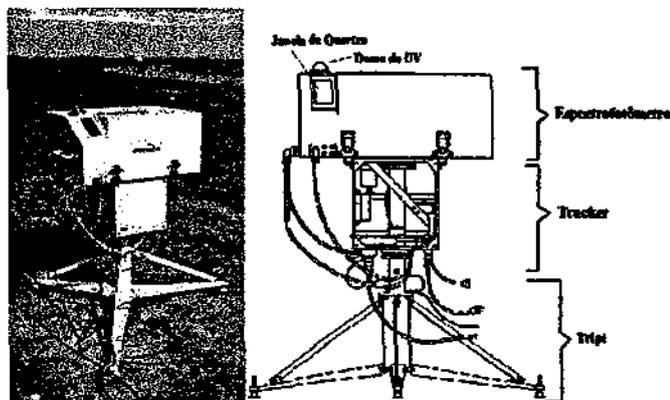


Figura 3.1. Espectrofotômetro Brewer modelo MK III 167 (SCI - TEC Instruments Inc.) com esquema evidenciando suas partes, instalado no OES.

Os dados de Ultravioleta são gravados no formato *Uvdddyy.167*, onde *ddd* representa dia Juliano e *yy* o ano. O número 167 é o número de identificação do equipamento. Esses arquivos são mais complicados, pois armazenam as medidas de ultravioleta em cada comprimento de onda medido. É necessário um software para interpretar as medidas. O software chama-se *Brewer Spectrophotometer UV Data Files Analysis Program* e mostra o valor de índice ultravioleta em cada medida UV realizada ao longo de um dia, bem como o horário e o ângulo solar zenital, além da potência de radiação UV medida a cada 30 min e a energia integral diária.

3.1.2. UV-Biômetro

O princípio de medição do UV-Biômetro modelo 501 A (Solar Light Co.) baseia-se na detecção de luz por um elemento de fósforo com um diodo de GaAs (Arseneto de Gálio). A Radiação Solar que incide sobre um domo de quartzo do aparelho é parcialmente filtrada, de modo que apenas os comprimentos de onda na faixa de 280-340nm excitam o componente de fósforo. O sensor possui uma sensibilidade semelhante ao Espectro de Ação Eritema (Mckinlay-Diffey), simulando a sensibilidade da pele humana ao UV-B. A radiação é instantaneamente medida e o tempo de integração utilizado é de uma hora. Os resultados obtidos são em MED/h, sendo gravados em um *dataloger* conectado a um computador para a transferência de dados.

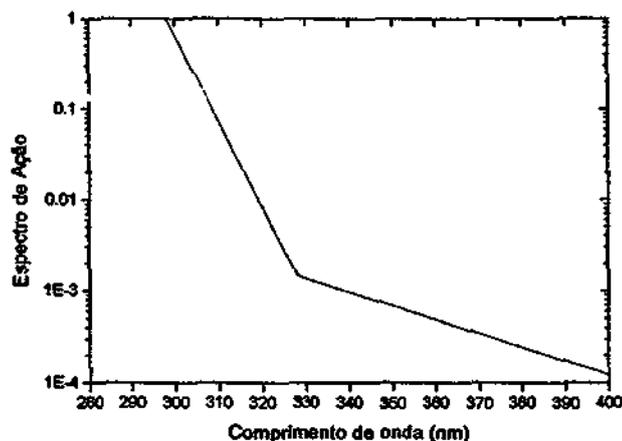


Figura 3.2. Espectro de ação de Eritema de McKinlay-Diffey (1987) que o UV-Biômetro modelo 501 A (Solar Light Co.) simula.

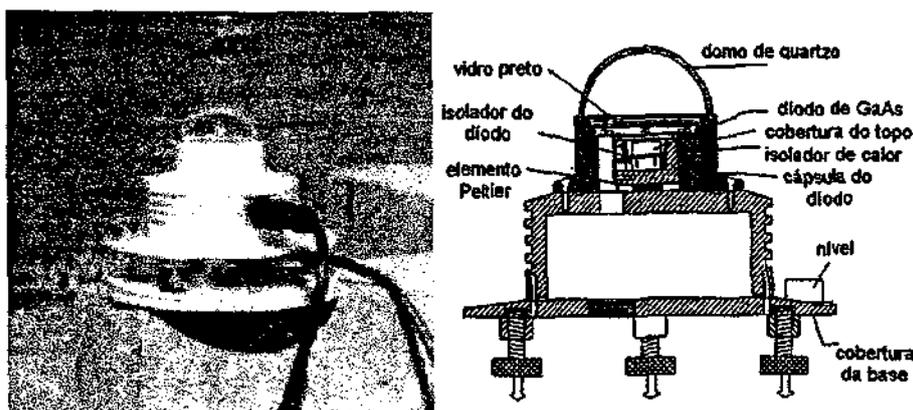


Figura 3.3. UV-Biômetro modelo 501 A (Solar Light Co.) e diagrama de suas estruturas internas, instalado no OES.

3.1.3. UV-Radiômetro

O Radiômetro UV-B modelo MS-210W (da EKO Instruments) instalado no OES efetua medidas de radiação ultravioleta incidente em uma faixa de 280 a 315 nm. Ao contrário do Brewer, que mede energias em comprimentos de onda particulares, o radiômetro mede a energia total naquela faixa. É efetuada uma medida por minuto.



Os dados desse instrumento são armazenados em um equipamento específico para este fim. Esses dados são copiados periodicamente e gravados em um Banco de Dados, onde são convertidos para formato texto, podendo-se assim obter dados de radiação ultravioleta.

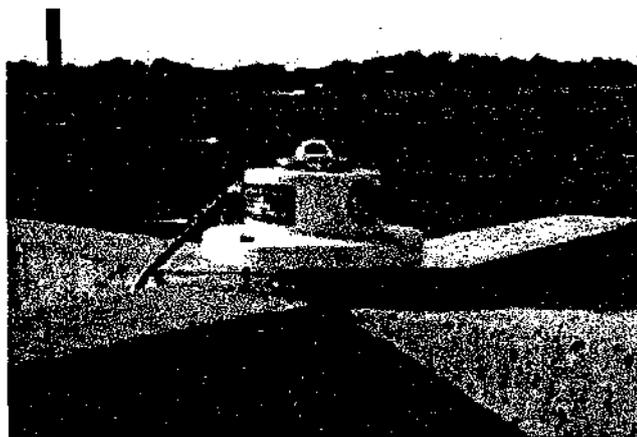


Figura 3.4. Radiômetro UV-B modelo MS-210W (da EKO Instruments) instalado no OES.

3.2. Dosímetro de esporos

O preparo do dosímetro de esporos pode ser dividido em quatro etapas, que são:

- ✓ Produção de esporos
- ✓ Preparo de slides
- ✓ Exposição solar
- ✓ Contagem de viáveis ou determinação de sobreviventes

3.2.1. Produção de esporos

Para a produção de esporos, a cepa de *Bacillus subtilis* TKJ6312 é semeada em meio apropriado para esporulação (meio para esporulacao de Schaeffer modificado). Após a incubação por 5 dias a 37°C, os esporos são coletados e purificados para a preparação da suspensão de esporos. A suspensão de esporos deve conter no mínimo 10^9 esporos/ml, abaixo deste número concentrar a suspensão ou preparar novamente. O número ideal de esporos na membrana deve ser de 1×10^6 esporos/ml ($> 1 \times 10^6$ pode causar "shield", $< 1 \times 10^6$ pode ocorrer a morte de todos os esporos). A suspensão de esporos pode ser observada em microscópio de contraste de fase (os esporos devem ser refracteis), mas a melhor



maneira é aquecer a suspensão a 70-75° C para eliminar todas as células vegetativas presentes. Esta suspensão de esporos pode ser mantida por longo tempo a 4° C.

3.2.2. Preparo de slides

Preparar a membrana contendo os esporos e fixar no slide.

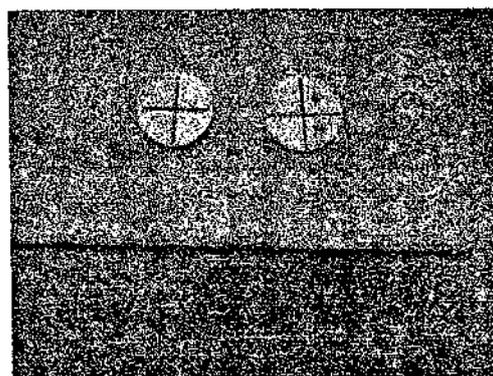
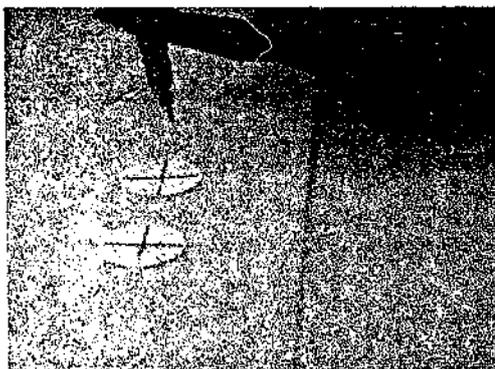
Preparo da suspensão de esporos para ser adicionada na membrana

Adicionar em tubo eppendorf com rosca:

- ✓ 100 µl de Blue Dextran (1mg/ml)
- ✓ 200µl de Agarose (0.8%)
- ✓ 5 µl da suspensão de esporos contendo 10^{10} esporos (pode ser adicionado até 15 µl dependendo do número de esporos na suspensão)

Preparo da membrana

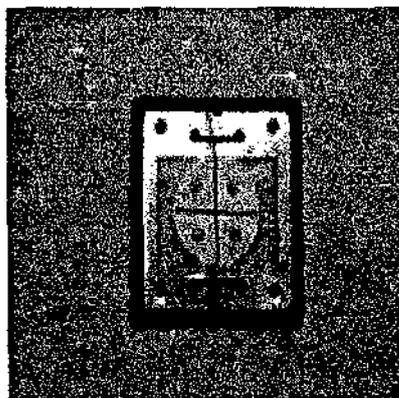
- ✓ Colocar os filtros de membrana (0.1 µm; Diameter: 25 mm; Color: white; Surface: plain) no aparato de filtração 12 “manifolds”
- ✓ Dividir a membrana em quatro partes
- ✓ Adicionar 5 µl da suspensão de esporos na membrana como nas ilustração abaixo.



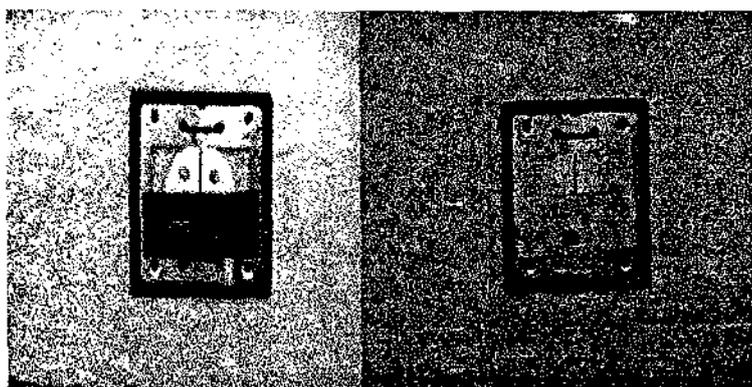
- ✓ Aplicar vácuo moderado por 3-4 min
- ✓ Retirar as membranas do filtro e aguardar até que estejam secas

- **Preparo do slide:**

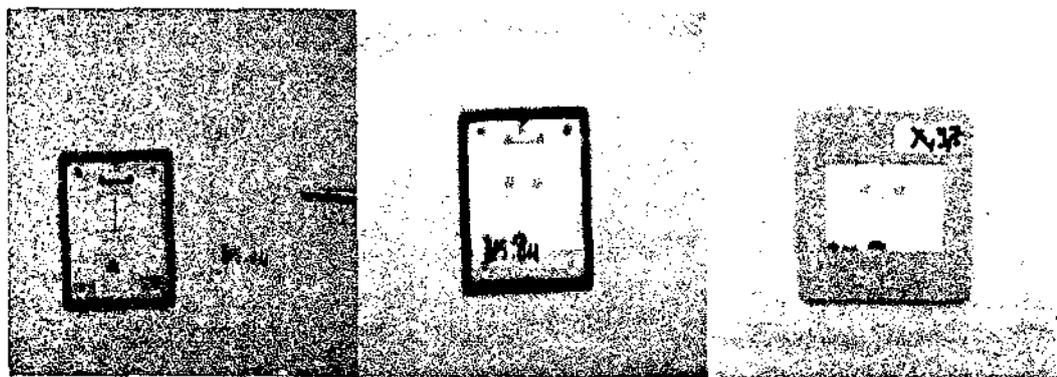
- ✓ Colocar o filtro de membrana contendo os esporos no slide (marca Gepe), conforme ilustração abaixo



- ✓ Colocar o cartão preto em duas amostras, conforme ilustração abaixo, para evitar a exposição a radiação solar. Estas amostras são utilizadas como amostras controle.



- ✓ Colocar o filtro fino (BSP04 ou BPS07) e fechar o slide, conforme ilustração abaixo. O tipo e o número de cada filtro a ser utilizado depende da irradiação esperada, ou seja, deve-se considerar a época do ano, hora do dia e local que a amostra vai ser exposta.



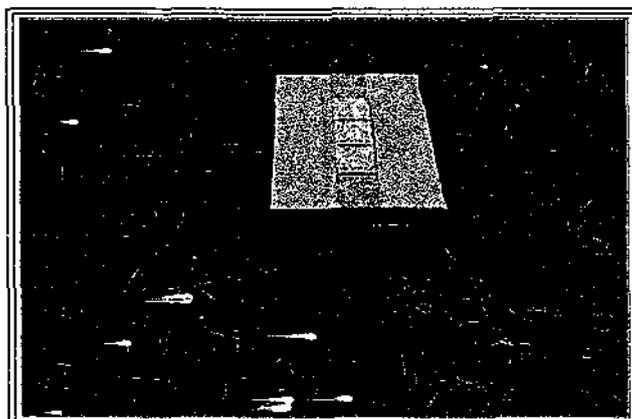
- ✓ Enrolar o slide com o filme grosso (BPS07), conforme ilustração abaixo. Neste caso, o número de camadas a serem adicionadas é também de extrema importância e, depende das variáveis citadas anteriormente.



- ✓ Selar as pontas do plástico antes de dobrar e prender com uma fita.

3.2.3. Exposição solar

Até o momento, as exposições de dosímetros de esporos estão sendo realizadas no Observatório Espacial do Sul (29° 26' 24" S e 53° 48' 38" W, 500m), em São Martinho da Serra. As exposições por curto período de tempo, a saber, exposições por 10 e 20 min e exposições diárias, foram realizadas principalmente para a caracterização do dosímetro biológico e sua comparação com os detectores físicos utilizados pelo Programa de Monitoramento do Ozônio Atmosférico e de Radiação Ultravioleta. Para as exposições diárias, a escolha e a combinação dos filtros (BPS04, BPS07 e BPS10) a serem utilizados é de extrema importância para a obtenção do valor da dose de inativação de esporos (SID). Para as exposições por curto período de tempo (10 a 20 min) os filtros não são utilizados. A ilustração abaixo mostra a exposição de dosímetros de esporos por um período de um dia no OES.



A resposta angular de um dosímetro é um fator importante no caso do fluxo solar global incidente em um superfície plana. Um detector ideal para a comparação com espectroradiômetros deve exibir leituras de intensidade dependente do cosseno do ângulo incidente. A resposta angular do dosímetro de esporos foi determinada utilizando o Okazaki large spectrograph (Munakata et al 2000). As amostras foram inclinadas de um posição perpendicular normal (0°) para 30 , 45 e 60° com um goniômetro ajustável manualmente, e a sobrevivência para a irradiância de 300 e 313 nm determinada. Foi observado um pequeno desvio ($<10\%$) da resposta de cosseno, exceto para 60° a 300 nm. Portanto, a resposta do dosímetro de esporo é próxima ao cosseno com a tendência de exibir uma eficiência moderadamente menor em ângulos maiores.

3.2.4. Contagem de viáveis

Após a exposição solar, os slides são abertos e os filtros guardados para medir a transmitância. A mancha azul contendo os esporos é cortada e adicionada em um tubo de ensaio, conforme ilustração abaixo.



Após adição de 1 ml de H₂O esteril, os tubos são aquecidos em banho-seco a 70-75°C por 15 min. O volume de amostra/diluição é selecionado dependendo da contagem esperada e adicionado em outro tubo de ensaio contendo 3 ml de agar 0.9%. Imediatamente após agitar, a amostra de esporos contendo agar é vertida na placa contendo o meio de contagem. Após a incubação por 24 h a 37°C, é realizada a contagem do número de unidades formadoras de colônia (UFC). Um valor simples do logaritmo natural da fração de sobrevivência é calculado e definido como “dose de inativação de espora” (SID) conforme a fórmula:

$$SID = -\ln (N_e/N_c)$$

Onde, N_e e N_c representam o número de unidades formadoras de colônia para as amostras expostas e controle, respectivamente.



4 - RESULTADOS

Comparações dos resultados de radiação UV biologicamente ativa obtidos através da dosimetria de esporo com os resultados de medidas de radiação ultravioleta obtidos através de detectores físicos instalados no Observatório Espacial do Sul (OES), em São Martinho da Serra, foram realizadas com o objetivo de obter a caracterização do dosímetro biológico em relação aos métodos físicos utilizados pelo Programa de Ozônio Atmosférico e Radiação Ultravioleta.

4.1. Experimentos realizados em dezembro de 2002

Exposições solares do dosímetro de esporo por um curto (15 min) e longo (diária) período de tempo foram realizadas de 20 a 29 de dezembro de 2002 no OES. Foram realizadas duas exposições de 10 min para cada dia em horário de elevada intensidade de radiação solar, ou seja, a primeira exposição foi realizada das 12:20 às 12:30 h e a segunda das 12:30 às 12:40 h. Para a exposição diária, o experimento iniciou em torno das 22:00 h do dia anterior e o slide contendo os esporos foi recolhido após o pôr-do-sol.

Na Figura 4.1, são mostrados os resultados diários da Dose de Inativação de Esporos (SID) medidos através da Dosimetria de Esporo e resultados diários da Dose Eritematosa Mínima (MED) medidos através do UV-Biômetro. A MED diária foi calculada somando-se os valores de MED a cada hora medidos pelo UV-Biômetro. Os valores diários, mínimo e máximo, obtidos da SID foram 15,74 e 144,91 e, da MED foram 5,85 e 29,52, respectivamente.

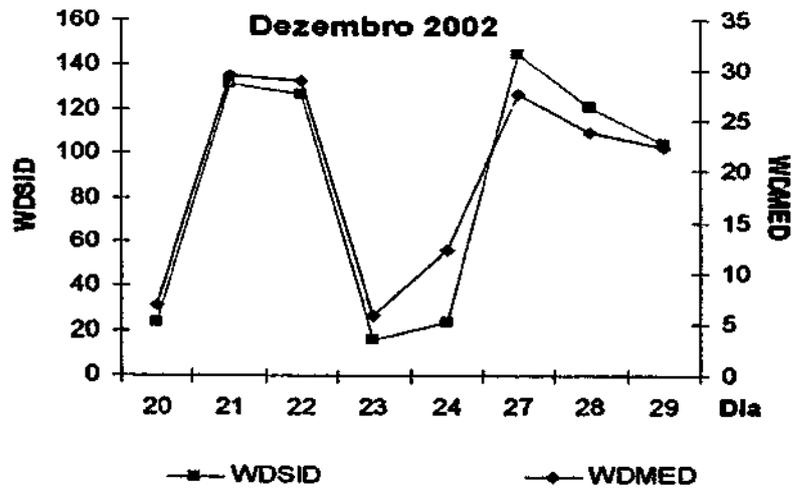


Figura 4.1. Comportamento da dose de inativação de esporos diária (WDSID) e Dose eritematosa mínima diária (WDMED) medidas de 20 a 29 de dezembro de 2002 no OES.

Para ambas as medidas (SID e MED), foi observado um comportamento similar no período analisado (Figura 1), e através da análise de regressão linear foi obtido um índice de correlação de 0.973 entre WDSID e WDMED para o período de 19 a 24 de março de 2003 (Figura 4.2).

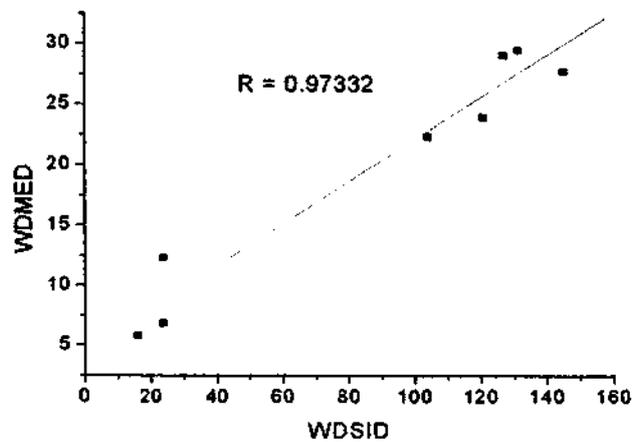


Figura 4.2. Dose de Inativação de Esporos diária (WDSID) versus Dose Eritematosa Mínima diária (MED) medidas de 20 a 29 de dezembro de 2002 no OES.

Para posterior estudo e caracterização da dosimetria de esporo referente as exposições solares realizadas em dezembro de 2002, análises foram realizadas para comparar a SID diária e a energia integral diária na faixa de 280 a 315 nm medida através do UV-Radiômetro. Este equipamento foi utilizado porque a medida da radiação UV-B é efetuada a cada minuto e, assim, uma menor interferência das condições climáticas na medida de radiação pode ser obtida para a comparação com o dosímetro biológico, o qual integra diretamente o efeito biológico em relação ao tempo de exposição (Figura 4.3).

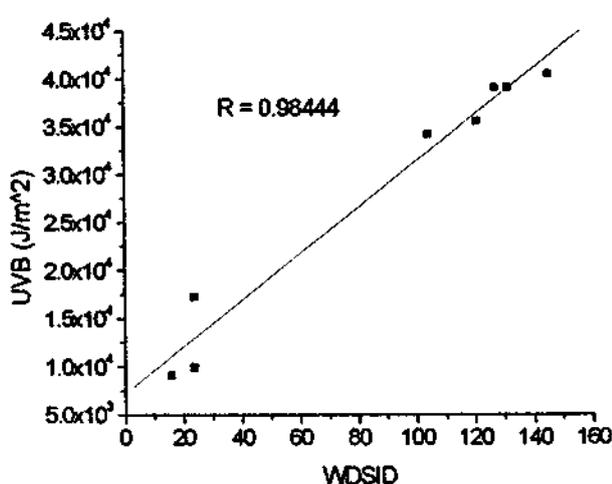


Figura 4.3. Dose de Inativação de Esporos diária (WDSID) versus Energia Integral Diária (UVB) medida pelo UV-Radiômetro no período de 20 a 29 de dezembro de 2002 no OES.

Os resultados demonstraram que um aumento na radiação UV-B incidente na superfície causou um aumento na SID diária apresentado uma variação diretamente proporcional e um índice de correlação de 0.984 (Figura 4.3).

Embora coeficientes de correlação extremamente elevados foram obtidos para ambas as comparações realizadas (WDSID x WDMED e WDSID x UVB), um índice de correlação mais elevado foi obtido quando a SID diária foi comparada com a energia integral diária na faixa de 280 a 315 nm (0.984, Figura 3) do que quando comparada com a MED diária (0.973, Figura 2), o que provavelmente reflete a eficiência do espectro de ação do esporo e espectro de indução de eritema (MED). Adicionalmente, comparações entre a SID diária e

a energia integral diária na faixa de 290 a 363 nm medida pelo Espectrofotômetro Bréwer foram realizadas. Neste caso, um índice de correlação similar ao obtido quando a energia integral diária foi medida pelo UV-Radiômetro foi encontrado (Figura 4.4).

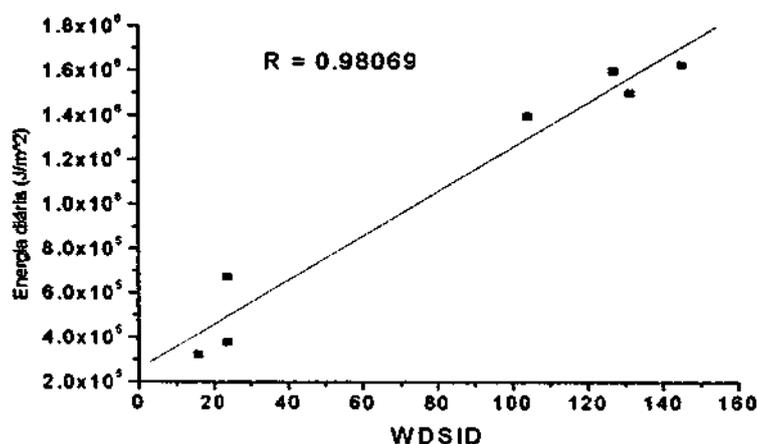


Figura 4.4. Dose de Inativação de Esporos diária (WDSID) versus Energia Integral Diária medida pelo Espectrofotômetro Brewer no período de 20 a 29 de dezembro de 2002 no OES.

Exposições por um curto período de tempo (10 min), conforme especificado acima, foram realizadas com o objetivo de comparar a eficiência biológica do dosímetro de esporos. Para este estudo foi comparada a SID observada com a SID calculada. A SID observada corresponde ao valor da SID obtida através da exposição solar do dosímetro de esporos dividida pelo tempo de exposição para obter a SID/min. A SID calculada corresponde a integral do espectro de eficiência obtido através da multiplicação do espectro de ação do esporo pela irradiância espectral obtida pelo Espectrofotômetro Brewer no horário correspondente a metade da exposição (12:30, horário local). Na Figura 4.5, são mostrados espectros de eficiência referentes aos dias 20, 21 e 22 de dezembro de 2002.

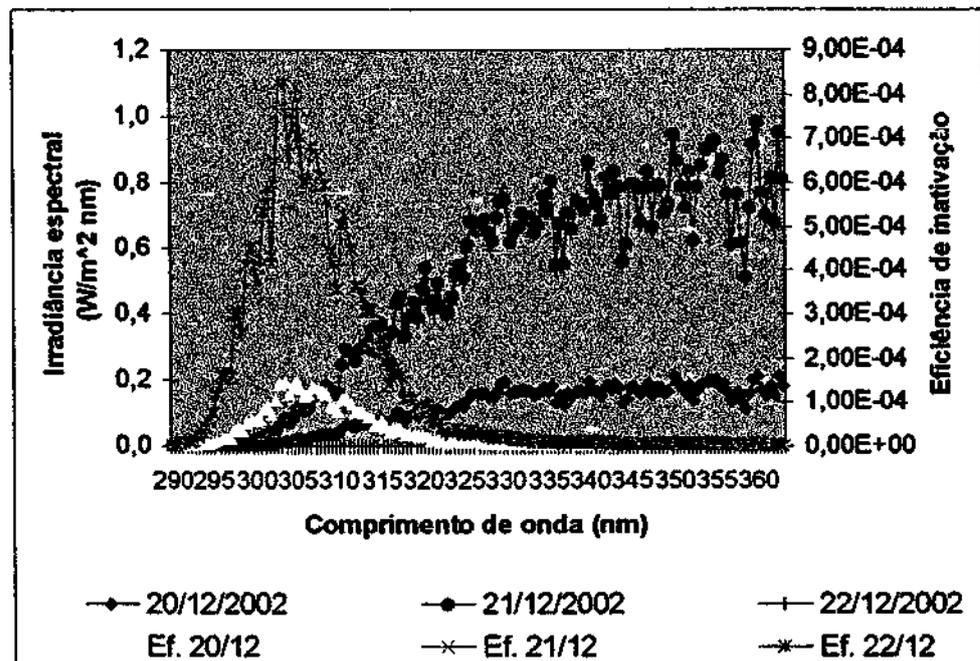


Figura 4.5. Espectro de eficiência para a SID e irradiância espectral observada as 12:30 nos dias 20,21 e 22 de dezembro de 2002 em São Martinho da Serra.

Pode-se observar claramente na Figura 4.5, que existe uma relação inversa entre a intensidade espectral solar e a eficiência biológica da radiação ultravioleta. Em outras palavras, a intensidade solar diminui grandemente quando o comprimento de onda torna-se mais curto e a atividade biológica ocorre em comprimentos de onda curtos, demonstrando, assim, como é impraticável estimar efeitos biológicos através de determinações físicas do espectro solar. Analisando a Figura 4.5, verifica-se que a faixa de comprimento de onda compreendida entre 300 a 315 nm contribuiu grandemente para a inativação de esporos.

Na Figura 4.6, estão representadas as estimativas da SID calculada e SID observada referente às exposições solares realizadas em dezembro de 2002. Observa-se que as duas estimativas apresentaram um comportamento similar e, geralmente a SID/observada apresentou valores menores do que a SID calculada.

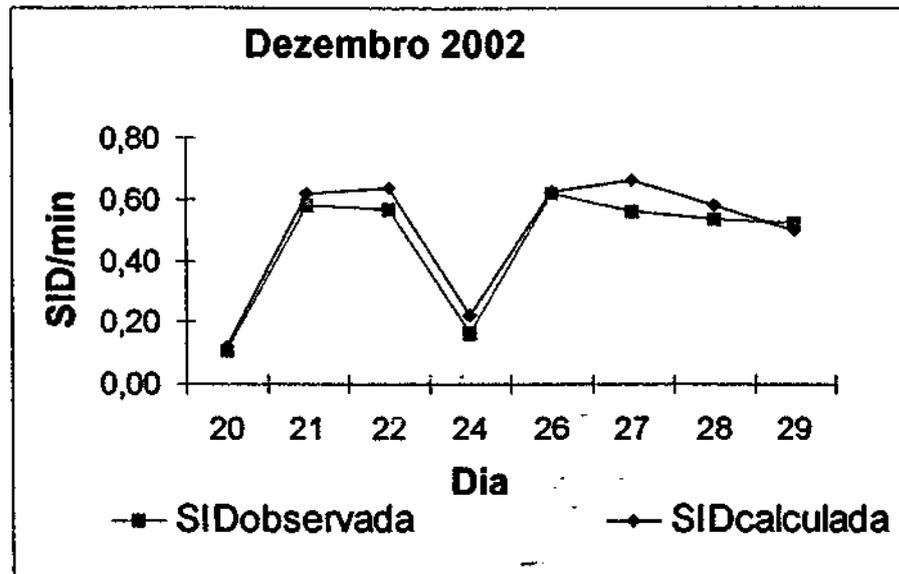


Figura 4.6. Comportamento da SID observada versus SID calculada referente ao período de exposição solar realizado em dezembro de 2002 no OES.

A razão $SID_{observada}/SID_{calculada}$ variou de 0,761 a 1,052, apresentando um valor médio de 0,914 (Tabela 4.1). Através da análise dos dados apresentados na Tabela 1, é importante enfatizar que a maior diferença encontrada entre a SID observada e a SID calculada ocorreu justamente no único dia nublado (24/12/2002) quando comparado com os outros dias do período analisado, apesar de que nenhum dia do mês de dezembro em que foram efetuadas as exposições solares apresentou condição de céu limpo. A maioria das estimativas da SID calculada exibiu valores moderadamente mais elevados quando comparada com as estimativas da SID observada (Tabela 1). Esta tendência indica que algum erro sistemático e inerente pode estar envolvido nesta análise. Como mencionado acima, alguma desta discrepância pode ser atribuída a condições de tempo e ao intervalo de tempo entre as medidas de radiação efetuada pelo Espectrofotômetro Brewer. Este equipamento mede a radiação a cada 30 minutos e necessita de aproximadamente 5 min para realizar um “scan” completo.



Tabela 4.1. Valores da SID observada e SID calculada referente às exposições solares realizadas em dezembro de 2002 no OES.

Data	Condições de tempo	SIDobservada	SIDcalculada	Razão SIDobs./SIDcalc.
20/12/2002	Brisa, nuvens esparsas	0,110	0,119	0,924
21/12/2002	Ensolarado, nuvens esparsas	0,579	0,619	0,935
22/12/2002	Ensolarado, nuvens esparsas	0,568	0,635	0,894
24/12/2002	Nublado	0,167	0,219	0,761
26/12/2002	Ensolarado, nuvens esparsas	0,616	0,625	0,986
27/12/2002	Ensolarado, nuvens esparsas	0,560	0,664	0,843
28/12/2002	Ensolarado com nuvens	0,532	0,579	0,920
29/12/2002	Ensolarado com nuvens	0,522	0,496	1,052

Sabe-se que equipamentos com menor frequência de medidas, no caso do Brewer a cada 30 min, podem acarretar imprecisão na descrição do real comportamento da radiação em dias com nuvens e resultar em medidas de energia incoerentes. Outro fator que pode ter contribuído para as diferenças entre SID observada e SID calculada refere-se ao tempo de exposição dos dosímetros de esporos. A dosimetria de esporo apresenta um efeito

acumulativo em relação ao período de exposição. Nestes experimentos, dois dosímetros foram expostos por 10 min e utilizados para calcular a SID/min e, a irradiância espectral utilizada para o cálculo foi obtida pelo Espectrofotômetro Brewer no horário correspondente a metade da exposição (12:30). Portanto, mudanças abruptas de tempo podem naturalmente causar as diferenças encontradas.

Apesar de todas as incertezas que podem estar envolvidas nas estimativas efetuadas, desde parâmetros relacionados à calibração do espectrofotômetro e exatidão das medidas até exatidão e precisão relacionada às análises microbiológicas e tempo de exposição do dosímetro de esporos, um comportamento similar (Figura 4.6) e um elevado índice de correlação (0,981) foi encontrado quando comparado a SID observada com a calculada (Figura 4.7).

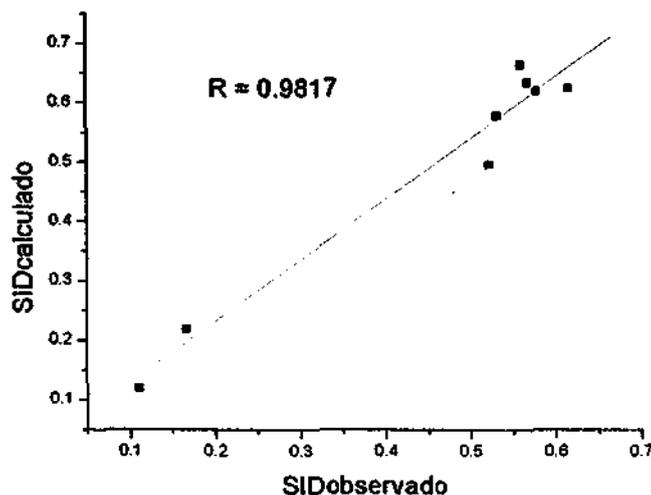


Figura 4.7. SID observada versus SID calculada referente as exposições realizadas de 20 a 29 de dezembro de 2002 no OES.

4.2. Experimentos realizados em Março de 2003

As exposições solares de dosímetros de esporos realizadas em março de 2003 no OES seguiram um protocolo similar aquele utilizado nas exposições efetuadas em dezembro de 2002. Neste caso, no período de 19 a 24 de março de 2003 exposições por 15 min e diárias foram realizadas. Foram efetuadas duas exposições de 15 min para cada dia, sendo que a primeira exposição foi realizada das 12:28 às 12:43 h e a segunda das 12:43 às 12:58 h.

Na Figura 4.8, são mostrados os resultados diários da Dose de Inativação de Esporos (SID) obtidos pela exposição diária dos dosímetros de esporos e resultados diários da Dose Eritematosa Mínima (MED) medidos através do UV-Biômetro. Os valores diários, mínimo e máximo, obtidos da SID foram 15,38 e 56,78, e da MED foram 4 e 17,56, respectivamente.

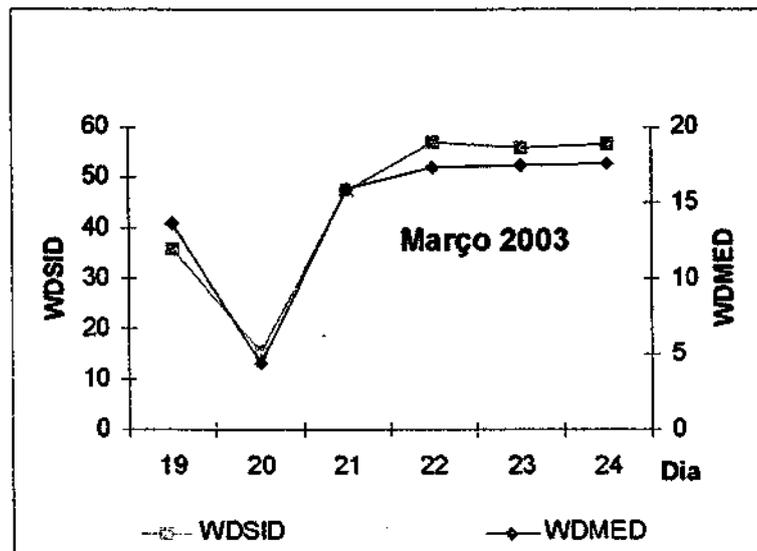


Figura 4.8. Comportamento da dose de inativação de esporos diária (WDSID) e Dose eritematosa mínima diária (WDMED) medidas de 19 a 24 de março de 2003 no OES.

Um comportamento similar foi observado para ambas as medidas (SID e MED) no período analisado (Figura 4.8), e através da análise de regressão linear um índice de correlação de 0.977 foi obtido quando a WDSID foi comparada com WDMED, (Figura 4.9).

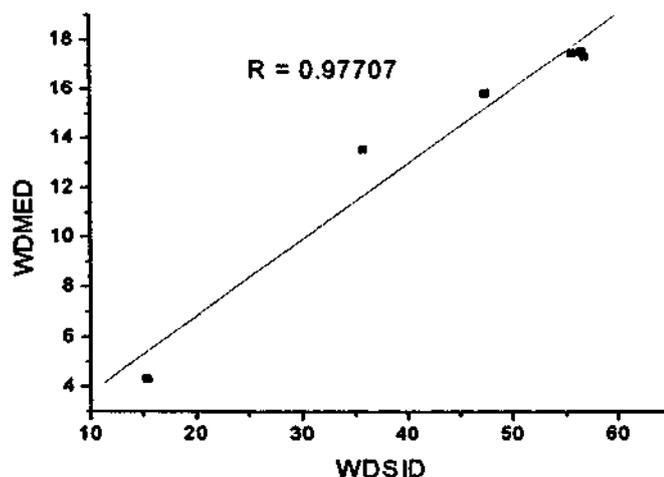


Figura 4.9. Dose de Inativação de Esporos diária (WDSID) versus Dose Eritematosa Mínima diária (MED) medidas de 19 a 24 de março de 2003 no OES.

A análise realizada para comparar a SID diária e a energia integral diária na faixa de 280 a 315 nm medida através do UV-Radiômetro referente ao período de exposição de março de 2003, confirmou os resultados obtidos nas exposições anteriores (dezembro de 2002) e a variação diretamente proporcional entre a SID e a radiação UVB (Figura 4.10).

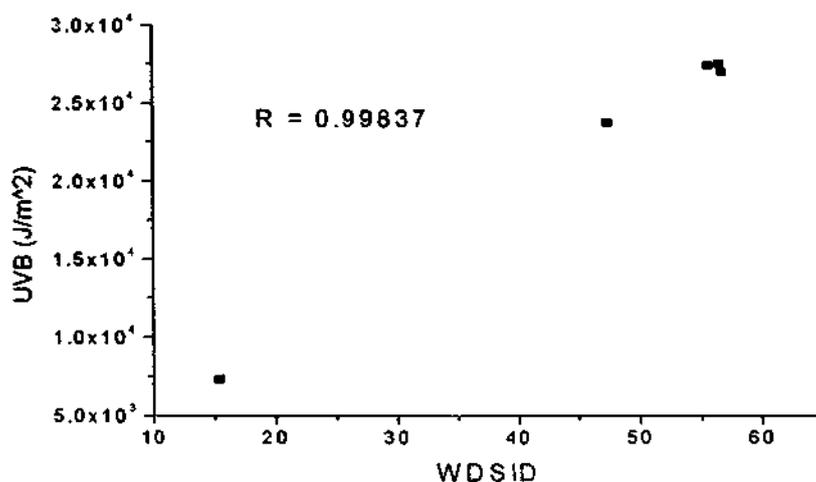


Figura 4.10. Dose de Inativação de Esporos diária (WDSID) versus Energia Integral Diária (UVB) medida pelo UV-Radiômetro no período de 19 a 24 de março de 2003 no OES.

A mesma tendência para ambas as correlações (WDSID x WDMED e WDSID x UVB) efetuadas, quando comparado os dois períodos analisados (dezembro de 2002 e março de 2003), foi observada. Para as exposições realizadas em dezembro de 2002 os índices encontrados para as correlações WDSID x WDMED e WDSID x UVB foram 0,973 e 0,984 e para as exposições realizadas em março foram 0,977 e 0,998, respectivamente.

Para os experimentos realizados em março de 2003, os dosímetros de esporos foram expostos à radiação solar por 15 min para calcular a SID e comparar com os resultados obtidos experimentalmente. Duas exposições de 15 min foram efetuadas em cada dia analisado (19 a 24 de março). Nesta série de exposições, o que diferiu dos experimentos anteriores (dezembro de 2002) foi que o espectrofotômetro Brewer foi programado para fazer medidas de radiação no início e final de cada exposição. Por exemplo, os dosímetros foram expostos à radiação solar das 12:28 às 12:43 (primeira exposição) e das 12:43 às 12:58 (segunda exposição) e medidas de radiação pelo espectrofotômetro Brewer foram efetuadas às 12:28, 12:43 e 12:58 h. Para o cálculo da SID, as medidas de radiação efetuadas às 12:28 e 12:43 h e as medidas realizadas às 12:43 e 12:58 h foram utilizadas para calcular a SID correspondente a primeira e segunda exposição, respectivamente.

As estimativas da SID calculada e SID observada referente às exposições solares realizadas em março de 2003 estão representadas na Figura 4.11.

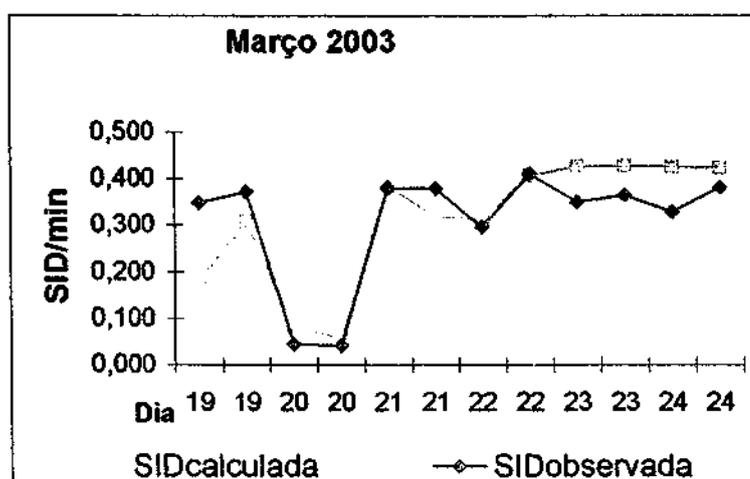


Figura 4.11. Comportamento da SID observada versus SID calculada referente ao período de exposição solar realizado em março de 2003 no OES.

Analisando os resultados mostrados na Figura 4.11, verifica-se, de uma maneira geral, um perfil semelhante para ambas às estimativas realizadas. No entanto, claramente observa-se um comportamento variável (Figura 4.11) e uma discrepância entre a SID calculada e observada (Tabela 4.2). Por exemplo, nos dias 19 e 21 (segunda exposição) as doses observadas foram maiores, enquanto que para os dias 20, 23 e 24 as doses calculadas foram maiores. Para a primeira exposição realizada no dia 21 e ambas as exposições realizadas no dia 22, valores bastante próximos para a SID observada e calculada foram encontrados, apresentando uma razão de 0,988, 0,947 e 1,012, respectivamente (Tabela 4.2). Considerando o período total analisado, a razão $SID_{observada}/SID_{calculada}$ variou de 0,531 a 1,901, apresentando um valor médio de 0,989 (Tabela 4.2). Como esperado devido a maior discrepância entre SID observada e calculada, um menor índice de correlação para as exposições realizadas em março (0,847) do que em dezembro (0,981) foi observado, figura 4.12.

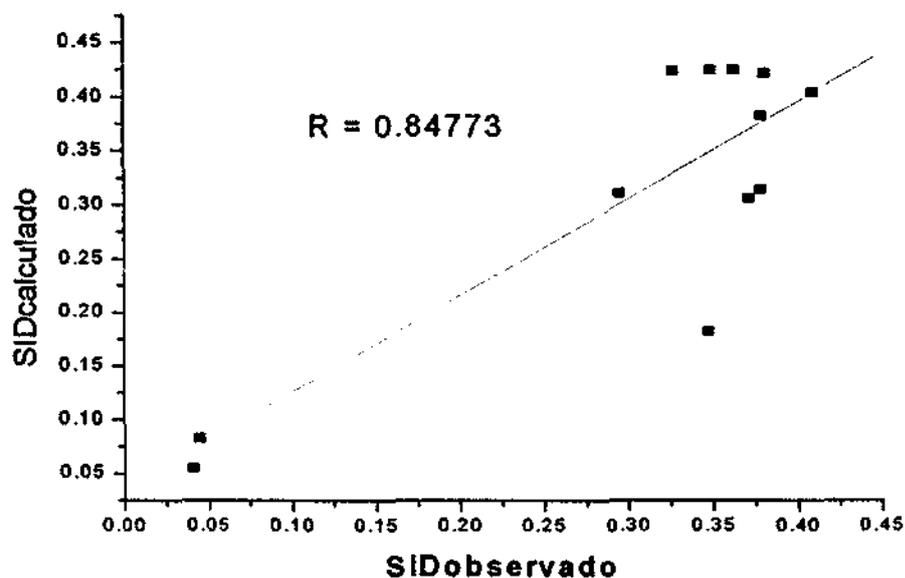


Figura 4.12. SID observada versus SID calculada referente as exposições realizadas de 19 a 24 de março de 2003 no OES.



Tabela 4.2. Valores da SID observada e SID calculada referente às exposições solares realizadas em março de 2003 no OES.

Data Horário	Condições de tempo	SIDobservada	SIDcalculada	Razão SIDob./SIDcal.
19/03/2003 12:28-12:43	Ensolarado e nublado	0,347	0,182	1,901
19/03/2003 12:43-12:58		0,371	0,306	1,211
20/03/2003 12:28-12:43	Nublado	0,044	0,083	3,531
20/03/2003 12:43-12:58		0,040	0,055	0,733
21/03/2003 12:28-12:43	Nublado	0,379	0,383	0,988
21/03/2003 12:43-12:58		0,378	0,315	1,201
22/03/2003 12:28-12:43	Nublado	0,295	0,311	0,947
22/03/2003 12:43-12:58		0,409	0,405	1,012
23/03/2003 12:28-12:43	Ensolarado com nuvens esparsas	0,349	0,425	0,821
23/03/2003 12:43-12:58		0,363	0,425	0,853
24/03/2003 12:28-12:43	Ensolarado com nuvens esparsas	0,327	0,424	0,771
24/03/2003 12:43-12:58		0,381	0,422	0,901



A causa das discrepâncias encontradas entre a SID observada e a calculada nas exposições realizadas em dezembro de 2002 e março de 2003 podem ser devidas ao espectrofotômetro ou dosímetro de esporos, ou ambos e, um maior número de exposições de dosímetros de esporos à radiação solar no futuro são necessárias para esclarecer esta questão.



5 - CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

Este trabalho teve como objetivo comparar as medidas de radiação ultravioleta solar biologicamente ativa obtidas através da dosimetria de esporo com as medidas de radiação ultravioleta obtidas pelos detectores físicos UV-Biômetro, UV-Radiômetro e Espectrofotômetro Brewer instalados no OES. Estas comparações foram realizadas como um método para validar e obter a caracterização do dosímetro biológico em relação aos equipamentos utilizados pelo Programa de Ozônio Atmosférico e Radiação Ultravioleta.

Considerando as condições experimentais utilizadas e através da análise dos resultados obtidos, pode-se concluir que a dosimetria de esporo, o qual apresenta como princípio a medida de um dano real na molécula de DNA causada pela radiação ultravioleta solar e, assim, apresenta elevada sensibilidade nos menores comprimentos de onda da radiação solar (faixa correspondente ao UV-B), é um método eficiente para o monitoramento da radiação ultravioleta solar biologicamente ativa. Esta constatação é decorrente dos bons resultados obtidos através dos altos índices de correlação entre a dose de inativação de esporos (SID) e medidas de radiação ultravioleta obtidas pelos equipamentos utilizados neste estudo.

Portanto, a dosimetria de esporo é um método capaz de avaliar os riscos potenciais causados pela exposição de sistemas biológicos a radiação ultravioleta solar, e desta forma, avaliar o impacto da radiação ultravioleta ambiental na saúde humana e Biosfera. Estes dados iniciais são de fundamental importância para a posterior utilização da dosimetria de esporo para o estudo da exposição pessoal a radiação ultravioleta solar e sua utilização em locais onde o monitoramento da radiação solar através de detectores físicos não são realizados devido seu alto custo e manutenção, complementando assim as medidas de radiação ultravioleta solar obtidas pelos equipamentos utilizados pelo Programa de Ozônio Atmosférico e Radiação Ultravioleta instalados no OES.

Durante o período vigente da bolsa, iniciada em Janeiro de 2003, o bolsista participou do 4th International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations – 4th



ICEMP e 6º Congresso da Sociedade Brasileira de Mutagenese e Teratogenese Ambiental – SBMCTA, realizados de 4 a 8 de Maio de 2003, em Florianópolis-SC, sendo co-autor do trabalho Biological measurements of ambient UV radiation in Brazil and Japan. No mesmo evento, participou do curso “Mutação e reparo de DNA. Os devidos certificados e a cópia do resumo apresentado estão em anexo no final deste trabalho.

6 - BIBLIOGRAFIA

- Anderson, J. G., Thoohey, D.W., Brune, W. H. (1991). Free radicals within the Antarctic vórtice: the role of CFCs in Antarctic ozone loss. *Science*, v. 251, p. 39-52.
- Bais, A.F. e Kazadzis, S. (1999). The role of spectral UV measurements in biological dosimetry, their advantages and limitations. In: *Biological UV dosimetry, a tool for assessing the impact of UV radiation on health and ecosystems* (Ed. Rettberg, P., Horneck, G., Khan, C.B., Amanatidis, G.T.), European Commission-Air Pollution Research Report, v. 71, p. 105-114.
- Bednarska, K., Wachowicz, B., Buczynski, A. (2000). UV-B-induced generation of free radicals in blood platelets. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 55, p. 109-112.
- Beisert, S., Schwarz, T. (1999). Mechanisms involved in ultraviolet light-induced immunosuppression. *Journal of Investigation of Dermatology Symposium Proceedings*, v. 4, n. 1, p. 61-64.
- Black, J.G. *Microbiology Principles and Applications*. Prentice Hall, 3^o ed., p. 151-153, 1996
- Brasseur, G., Solomon, S. (1984). *Aeronomy of the middle atmosphere*. Dordrecht: D. Reidel, p. 441.
- Cadet, J., Anselmino, C., Douki, T., Voituriez, L. (1992). Photochemistry of nucleic acids in cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 15, p. 277-298.
- Chubachi, S. (1984). Preliminary result of ozone observations at Syowa station from Feb 1982 to Jan 1983. *Mem. Natl. Inst. Polar Res., Spec. Issue Jpn*, v. 34, p.13-19.
- Dahlback, A., T. Henriksen, S. Larsen e K. Stamnes. (1989). Biological UV-Doses and the effect of an ozone layer depletion. *Photochem. Photobiol*, v. 49, p. 621-625.
- Farman, J. C., Gardiner, B. G., Shanklin, J. D. (1985). Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClO_x/NO_x interaction. *Nature*, v.315, p. 207-210.



- Frederick, J. E., Lubin, D. (1988). The budget of biologically active ultraviolet radiation in the earth-atmosphere system. *Journal of Geophysical Research*, v. 93, n. D4, p. 3825 – 3832.
- Frederick, J. E., Lubin, D. (1994). Solar ultraviolet irradiance at Palmer Station, Antarctica. In: Weiler, C. S.; Penhale, P. A. ed. *Ultraviolet radiation in Antarctica: measurements and biological effects*. Antarctica Research Series, v. 62, p. 43 – 52.
- Gillotay, D. E Bolsee, D. (1999). Full optical characterisation of biological detectors. In: *Biological UV dosimetry, a tool for assessing the impact of UV radiation on health and ecosystems* (Ed. Rettberg, P., Horneck, G., Khan, C.B., Amanatidis, G.T.), European Commission-Air Pollution Research Report, p. 71, v. 115-126.
- Häder, D. P. (1993). Effects of enhanced solar ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. In: Tevini, M. ed. *UV-B radiation and ozone depletion: effects on humans, animals, plants, microorganisms and materials*. Boca Raton: Lewis Publishers, cap. 6, p. 155 – 192.
- Hieda Kotaro (1999). Action spectroscopy. In: *Biological UV dosimetry, a tool for assessing the impact of UV radiation on health and ecosystems* (Ed. Rettberg, P., Horneck, G., Khan, C.B., Amanatidis, G.T.), European Commission-Air Pollution Research Report, v. 71, p. 127-131.
- Horneck, G. (1999). Biological UV dosimetry, general aspects. In: *Biological UV dosimetry, a tool for assessing the impact of UV radiation on health and ecosystems* (Ed. Rettberg, P., Horneck, G., Khan, C.B., Amanatidis, G.T.), European Commission-Air Pollution Research Report, v. 71, p. 132-139.
- Kirchhoff, V. W. J. H. (1995). Ozônio e radiação UV-B. Transtec Editorial, p. 72.
- Kirchhoff, V. W. J. H., Schuch, N. J., Pinheiro, D. K.; Harris, J. M. (1996). Evidence for an ozone hole perturbation at 30° South. *Atmospheric Environment*, v. 30, n. 9, p. 1481-1488
- Krzýscin, J. W. (1996). UV controlling factors and trends derived from the ground-based measurements taken at Belsk, Poland, 1976 – 1994. *Journal Geophysical Research*, v. 101, n. D11, p. 16797 – 16805.



- Madronich, S. (1993). UV radiation in the natural and perturbed atmosphere. In: Tevini, M. ed. UV-B radiation and ozone depletion: effects on humans, animals, plants, microorganisms and materials. Boca Raton: Lewis Publishers, cap. 2, p. 17 – 69.
- McGregor, W.G. (1999). DNA repair, DNA replication, and UV mutagenesis. *Journal of Investigation of Dermatology Symposium Proceedings*, v. 4, n. 1, p. 1-5.
- McKenzie, R. L., Matthews, W. A., Johnston, P. V. (1991). The relationship between erythematous UV and ozone, derived from spectral irradiance measurements. *Geophysical Research Letters*, v. 18, n. 12, p. 2269 – 2272.
- McKinlay, A. F. e B. L. Diffey, A. (1987). A action reference spectrum for ultraviolet-induced erythema in human skin. In: Passchler and Bosnjakovic ed. Human exposure to ultraviolet radiation: Risks and regulations. Amsterdã (Holanda), p. 17-22.
- Meyer-Rochow, V.B. (2000). Risks, especially for the eyes, emanating from the rise of solar UV-radiation in the Arctic and Antarctic regions. *International Journal of Circumpolar Health*, v. 59, n. 1, p. 38-51.
- Molina, L. T.; Molina, M. J. (1986). Absolute absorption cross sections of ozone in the 185 to 350 nm wavelength range. *Journal of Geophysical Research*, v. 91, n. D13, p. 14501-14508.
- Munakata, N. (1974). Ultraviolet sensitivity of *Bacillus subtilis* spores upon germination and outgrowth. *Journal of Bacteriology*, v.120, n.3, p. 59-65.
- Munakata, N. (1980). Biologically effective dose of solar ultraviolet radiation estimated by spore dosimetry in Tokyo since 1980. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, v. 58, n. 3, p. 386-392.
- Munakata, N. (1989). Genotoxic action of sunlight upon *Bacillus subtilis* spores: monitoring studies at Tokyo, Japan. *Journal of Radiation Research*, v. 30, p. 338-351.
- Munakata, N. E Rupert, C.S. (1975). Effects of DNA-polymerase-defective and recombination-deficient mutations on the ultraviolet sensitivity of *Bacillus subtilis* spores. *Mutation Research*, v. 27, p. 157-169.
- Munakata, N., Morohoshi, F., Hieda, K., Suzuki, K., Furusawa, Y., Shimura, Ito, T. (1996). Experimental correspondence between spore dosimetry and spectral photometry of



- solar ultraviolet radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, v. 63, n. 1, p. 74-78.
- Munakata, N., Ota, M., Watanabe, S. (1998). Monitoring of solar-UV exposure among schoolchildren in five Japanese cities using spore dosimeter and UV-coloring labels. *Japanese Journal of Cancer Research*, v. 89, p. 235-245.
- Munakata, N., Kazadis, S., Bais, A.F., Hieda, K., Ronto, G., Rettberg, P. And Horneck, G. (2000). Comparisons of spore dosimetry and spectral photometry of solar UV-radiation at four sites in Japan and Europe, *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology*, v. 72, p. 739-745.
- Ries, G., Heller, W., Puchta, H., Sandermann, H., Seidlitz, H.K., Hohn, B. (2000). Elevated UV-B radiation reduces genome stability in plants. *Nature*, v. 406, n. 6791, p. 98-101
- Robinson, N. (1966). *Solar radiation*. Amsterdam: Elsevier Publishing Company, p. 347.
- Rousseaux, M.C., Ballaré, C.L., Giordano, C.V., Scopel, A.L., Zima, A.M., Brachitta, M.S., Searles, P.S., Caldwell, M.M., Diaz, S.B. (1999). Ozone depletion and UVB radiation: impact on plant DNA damage in southern South America. *Journal of PNAS*, v. 96, n. 26, p. 15310-15315.
- Solomon, S. (1990). Progress toward a quantitative understanding of Antarctic ozone depletion. *Nature*, v. 347, p. 347-354.
- Solomon, S., Garcia, R. (1986). On the depletion of Antarctic ozone. *Nature*, v. 321, p. 755-758.
- Tevini, M. (1993a). Molecular biological effects of ultraviolet radiation. In: Tevini, M. ed. *UV-B radiation and ozone depletion: effects on humans, animals, plants, microorganisms and materials*. Boca Raton: Lewis Publishers, cap. 1, p. 1 – 15.
- Tevini, M. (1993b). Effects of enhanced UV-B radiation on terrestrial plants. In: Tevini, M. ed. *UV-B radiation and ozone depletion: effects on humans, animals, plants, microorganisms and materials*. Boca Raton: Lewis Publishers, cap. 5, p. 125 – 153.
- Van der Leun, J. C.; Grujil, F. R. (1993). Influences of ozone depletion on human and animal health. In: Tevini, M. ed. *UV-B radiation and ozone depletion: effects on humans,*



- animals, plants, microorganisms and materials. Boca Raton: Lewis Publishers, cap. 4, p. 95 – 123.
- Vernet, M.; Brody, E. A.; Holm-Hansen, O.; Mitchell, B. G. (1994). The response of Antarctic phytoplankton to ultraviolet radiation: absorption, photosynthesis and taxonomic composition. In: Weiler, C. S.; Penhale, P. A. ed. Ultraviolet radiation in Antarctica: measurements and biological effects, Antarctica Research Series, v. 62, p. 143 – 158.
- World Health Organization. (1994). Ultraviolet radiation. Environmental Health Criteria 160, Geneva.
- Yoon, J.H., Lee, C.S., O'Connor, T.R., Yasui, A., Pfeifer, G.P. (2000). The DNA damage spectrum produced by simulated sunlight. *Journal of Molecular Biology*, v. 299, n. 3, p. 681-693.

7 – ANEXOS

7.1. Certificados dos resumos/ Abstracts apresentados



4th ICEMHP
4th International Conference
on Environmental Mutagens in
Human Populations



C E R T I F I C A D O

Fabrizio Bau Dalmas

participou da **4th International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations - 4th ICEMHP e 6° Congresso da Sociedade Brasileira de Mutagênese Carcinogênese e Teratogênese Ambiental SBMCTA**, realizados de 04 a 08 de Maio de 2003, em Florianópolis-SC.

Lucia Regina Ribeiro
Lucia Regina Ribeiro
Presidente SBMCTA

Lucymara Fassarela A. de Lima
Lucymara Fassarela A. de Lima
1ª Secretária SBMCTA



4th ICEMHP
4th International Conference
on Environmental Mutagens in
Human Populations



C E R T I F I C A D O

Fabrcio Bau Dalmas

participou do Curso "Mutação e reparo de DNA", ministrado durante a 4th International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations - 4th ICEMHP e 6o Congresso da Sociedade Brasileira de Mutagênese Carcinogênese e Teratogênese Ambiental SBMCTA, realizados de 04 a 08 de Maio de 2003, em Flori n polis-SC.

Lucia Regina Ribeiro
Lucia Regina Ribeiro
Presidente SBMCTA.

Lucymara Fassarela A. de Lima
Lucymara Fassarela A. de Lima
1ª Secretária SBMCTA

7.2. Cópia dos resumos/ Abstracts submetidos e aprovados

BIOLOGICAL MEASUREMENTS OF AMBIENT UV RADIATION IN BRAZIL AND JAPAN

Nobuo S. Amelata¹, Fábio P. Menezes², Fabrício B. Dalmas², André P. Schuch², Liana F. Padilha², Nelson J. Schuch², Lúcia S. Boeira³. ¹Rikkyo University, 171-8501, Tokyo, Japan.

²Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, 97110-970, Santa Maria-RS, Brazil.

³Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE/RSU/OES, 97110-970, P.O.Box 5021, Santa Maria-RS, Brazil.

Solar-UV radiation is considered to be the primary culprit for skin cancers by producing mutations in tumor suppressor genes and oncogenes. It is important to evaluate factors determining the level of the exposure to environmental UV radiation in order to assess the carcinogenic risk. As methods of UV dosimetry, biological systems offer certain advantages over physical meters, since biologically effective doses based on the absolute effectiveness are directly determined without recourse to calibrations and model-based calculations. Spore dosimetry system for measurement of solar-UV radiation employing dried spores of *Bacillus subtilis* strain TKJ6312 (*uvr spi*) has been developed and made to be applicable under various environmental conditions and in a variety of geometrical and temporal modes. Continuous monthly measurements are performed at about 15 sites worldwide including two sites in South America (São Martinho da Serra and Punta Arenas) and 6 sites in Japan. Yearly total doses derived from the sums of monthly values correlated primarily with latitude, but there are variations due mostly to weather. Values of the cumulative yearly doses in SID (Spore Inactivation Dose) at São Martinho da Serra (29.4°S) in Brazil were 22,000 and 26,000 in 2000 and 2001, respectively, in contrast to 16,000 and 24,000 at Nishihara (26.2°N) in Japan. These results demonstrate that in Brazil, people are exposed to much higher doses of UV than in Japan, and suggest that the higher level of exposure is one factor for much higher skin cancer incidences among Brazilians (~35 per 10⁵) compared to Japanese (1~4 per 10⁵). SUPPORTED BY: INPE, CNPq and Rikkyo University.

**MEDIDA DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA SOLAR BIOLÓGICAMENTE
ATIVA ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DA DOSIMETRIA DE ESPORO E SUA
COMPARAÇÃO COM MEDIDAS OBTIDAS POR DETECTORES FÍSICOS**

Fabrício B. Dalmás²² (UFSM, Bolsista PIBIC/CNPq)
Dra. Lúcia S. Boeira²³ (RSU/INPE-MCT)
Dr. Nelson J. Schuch²⁴ (RSU/INPE-MCT)

RESUMO

A radiação solar é um dos fatores fundamentais para a vida na Terra. Além de efeitos benéficos e indispensáveis, a radiação solar pode causar danos a muitos organismos e, assim, pode também ser considerada como um fator de estresse ambiental importante para a vida na Terra. A descoberta nas últimas duas décadas do fenômeno do buraco de ozônio tem causado um grande interesse científico devido ao possível aumento da intensidade de radiação ultravioleta solar na superfície terrestre. De fato, se esta exceder os limites a partir dos quais os mecanismos de defesa, inerentes a cada espécie, se tomarem ineficazes, poderão ser causados vários danos a nível biológico e, assim efeitos adversos em ecossistemas terrestres, aquáticos e na saúde do homem. Conseqüentemente, o monitoramento da radiação UV solar tem sido realizado mundialmente. Este trabalho teve como objetivo utilizar a dosimetria de esporo para monitorar a radiação ultravioleta solar e comparar os resultados obtidos através deste método biológico com os obtidos através de detectores físicos. A dosimetria de esporo consiste da utilização de esporos de *Bacillus subtilis* TKJ 6312 (hipersensíveis à radiação UV solar), sendo a vulnerabilidade do biossensor atribuída à sensibilidade fotoquímica de seu DNA. O preparo das amostras para exposição solar consiste de quatro etapas: (1) produção de esporos, (2) preparo de slides, (3) exposição solar, (4) contagem de sobreviventes (ou viáveis) através do método de contagem microbiológica padrão. A dose biologicamente ativa é expressa em termos da dose de inativação de esporos (SID), correspondendo a: $SID = -\ln(Ne/Nc)$, onde Ne e Nc representam a média de UFC na amostra exposta e controle, respectivamente. Exposições solares do dosímetro de esporo por um curto (10 a 15 min) e longo (diária) período de tempo foram realizadas de 20 a 29 de dezembro de 2002 e de 19 a 24 de março de 2003 no Observatório Espacial do Sul (OES). Para as exposições diárias, e através da análise de regressão linear, foram encontrados elevados índices de correlação entre SID diária versus MED diária obtida através do UV-Biômetro (Modelo 501A da Solar Light) e entre SID diária versus energia integral diária na faixa de 280 a 315 nm medida pelo UV-Radiômetro (Modelo MS-210W da EKO Instruments). Neste caso, índices de correlação de 0.973 a 0.998 foram observados para ambas as séries de exposições realizadas. Para as exposições por curto período de tempo (10-15 min), a SID observada experimentalmente foi comparada com a SID calculada através do espectro de eficiência obtido pela multiplicação do espectro de ação do esporo pela irradiância espectral obtida pelo Espectrofotômetro Brewer (Modelo MK III 167, da SCI – TEC instruments inc.). Neste caso, índices de correlação de 0.981 e 0.847 para as exposições realizadas em dezembro de 2002 e março de 2003, respectivamente, foram encontrados. Através da análise dos resultados obtidos e, considerando as condições experimentais utilizadas neste trabalho, pode-se concluir que a dosimetria de esporo é um método eficiente para avaliar os riscos potenciais causados pela exposição de sistemas biológicos à radiação ultravioleta solar.

²² Aluno do Curso de Ciências Biológicas, UFSM. E-mail: fabricao@lacesm.ufsm.br

²³ Orientadora; Pesquisadora do Centro Regional Sul de Pesquisas Espaciais. E-mail: lucia@lacesm.ufsm.br

²⁴ Chefe do Centro Regional Sul de Pesquisas Espaciais. E-mail: njschuch@lacesm.ufsm.br