

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO DA
CIDADE DE SÃO CARLOS E SUA TOXICIDADE EM
CULTURAS DE CÉLULAS PULMONARES**

Rita de Kássia Silva do Nascimento*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRA EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

**Orientadora: Prof.^a Dr.^a Roberta Cerasi Urban
Coorientador: Prof. Dr. Valtencir Zucolotto**

***bolsista CAPES**

**São Carlos – SP
2022**

Nascimento, Rita de Kássia Silva do

Material particulado atmosférico da cidade de São Carlos e sua toxicidade em culturas de células pulmonares / Rita de Kássia Silva do Nascimento -- 2022. 92f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos
Orientador (a): Roberta Cerasi Urban.
Banca Examinadora: Pedro Sérgio Fadini, Renata Rank Miranda.
Bibliografia

1. MP10. 2. Toxicidade. 3. Células pulmonares. I. Nascimento, Rita de Kássia Silva do. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Ronildo Santos Prado - CRB/8 7325



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Rita de Kássia Silva do Nascimento, realizada em 31/03/2022.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Roberta Cerasi Urban (UFSCar)

Prof. Dr. Pedro Sergio Fadini (UFSCar)

Profa. Dra. Renata Rank Miranda (IFSC/USP)

A Deus e a Santa Rita de Cássia por todas as bênçãos e proteções a mim e aos meus, ao longo desta caminhada, em tempos pandêmicos.

Aos meus pais, Sebastião e Ana Cláudia, aos meus irmãos, Neto e Júnior e o caçulinha Rickelme, por todo o amor, suporte, apoio e proteção ao longo da vida. Sei o quanto foi difícil me ver partir para outra cidade sozinha. Agradeço a compreensão pela prioridade que é a educação na minha vida, apesar de não entenderem muito bem a escolha de ser química.

Às minhas amadas sobrinhas Eva, Laura, Ágatha Sophia e Dayla pelos momentos de alegria proporcionados por um sorriso. Que vocês cresçam entendendo a minha ausência e que eu possa servir de inspiração.

Às minhas amigas Thayanna, Cleiciane e Yasmin pelos momentos de lazer e descontração que, apesar de raros, me reenergizam.

Ao casal de amigos prof. Rogilson e Darilena Porfírio pelo constante apoio, partilha de experiências e por todos os ensinamentos.

Vocês são muito especiais para mim e os dedico o trecho de um discurso escrito por La Boétie: “A amizade é nome sagrado, coisa santa: só pode existir entre gente de bem, nasce da mútua estima e se conserva não tanto por meio de benefícios, mas pela vida boa e pelos costumes bons.”.

Ao Marcos Augusto pelo apoio na realização deste mestrado e companheirismo que foram de extrema importância. Agradeço por todo seu amor, calma e aconchegos para o meu ser. Sou muito feliz ao seu lado.

“Eu, filho do carbono e do amoníaco,
Monstro de escuridão e rutilância,
Sofro, desde a epigênese da infância,
A influência má dos signos do zodíaco.

Profundissimamente hipocondríaco,
Este ambiente me causa repugnância...
Sobe-me à boca uma ânsia análoga à ânsia
Que se escapa da boca de um cardíaco.

Já o verme — este operário das ruínas —
Que o sangue podre das carnificinas
Come, e à vida em geral declara guerra,

Anda a espreitar meus olhos para roê-los,
E há-de deixar-me apenas os cabelos,
Na frialdade inorgânica da terra!”

(Augusto dos Anjos)

AGRADECIMENTOS

À prof.^a Roberta pela oportunidade, disposição, aprendizado e pelas diversas formas de colaboração para o desenvolvimento deste trabalho. Seu acolhimento ao me recepcionar na UFSCar foi muito importante. Sou grata por toda a dedicação, carinho e amizade em nosso convívio. Você é inspiradora!

Ao Prof. Pedro S. Fadini, Guilherme M. Grosseli e todos os colegas do LBGqA pela receptividade, convivência e “cafés”. Em especial ao Jonatas S. Carvalho, Natasha L. C. Rosa, João Vítor e Caroline Scaramboni (USP-Ribeirão Preto) pelas colaborações para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Eduardo C. Alexandrina pela realização das coletas e organização das amostras que possibilitaram a realização deste trabalho.

Aos profs. Felipe C. Wouters e Moacir R. Forim, e a M.^a Clara S. Aguiar pelo auxílio nas análises complementares por Q-TOF LC-MS e GC-MS-MS.

Ao prof. V. Zucolotto pela coorientação e a Renata pela solicitude e disponibilidade para auxílio com as análises biológicas, grupo GNano-IFSC-USP.

Ao prof. Fillipe V. Rocha e ao Mauro A. Lima pelo auxílio na complementação das análises biológicas.

A todos os funcionários, técnicos e professores que direta e/ou indiretamente colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho e que ajudam para que as atividades acadêmicas e as pesquisas não parem.

A todas as pessoas na linha de frente do combate ao Covid-19 e as de serviços essenciais que não pararam para que todas as demais pudessem ter o mínimo de comodidade ao passar por esta pandemia, e as que infelizmente vieram a falecer por isso.

Por fim, agradeço à Capes e a Fapesp pela bolsa concedida de demais financiamentos para a realização desta pesquisa.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

9,10-Ant	9,10-antraquinona
Ace	Acenafteno
Acy	Acenaftileno
Ant	Antraceno
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i> (Agência de Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças)
BaA	Benzo[a]antraceno
BaP	Benzo[a]pireno
BbF	Benzo[b]fluoranteno
BcdP	6H-benzo[cd]piren-6-ona
BeP	Benzo[e]pireno
BghiP	Benzo[ghi]perileno
BjF	Benzo[j]fluoranteno
BkF	Benzo[k]fluoranteno
Conama	Conselho Nacional de Meio Ambiente
Chry	Criseno
DBahA	Dibenzo[a,h]antraceno
DCF	2',7'-diclorofluoresceína
DCFH ₂	Diclorodiidrofluoresceína
DMSO	Dimetilsulfóxido
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Flt	Fluoranteno
Flu	Fluoreno
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
H ₂ DCFDA	Diacetato de 2',7'-diclorofluoresceína
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)
IcdP	Indeno[1,2,3-cd]pireno

LDM	Limite de detecção do método
MP	Material particulado
MP _{0,1}	Material particulado com diâmetro de partícula $\leq 0,1 \mu\text{m}$
MP _{2,5}	Material particulado com diâmetro de partícula $\leq 2,5 \mu\text{m}$
MP ₁₀	Material particulado com diâmetro de partícula $\leq 10 \mu\text{m}$
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio
Nap	Naftaleno
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PBS	Tampão fosfato-salino
Phe	Fenantreno
PMF	<i>Positive Matrix Factorization</i> (Fatoração de Matriz Positiva)
Pronar	Programa Nacional de Controle da Poluição do Ar
Pyr	Pireno
S/N	Relação sinal/ruído
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 – Condições cromatográficas para as análises de HPAs e derivados por CG-EM.....	24
TABELA 3.2 – Razões m/z dos íons monitorados e tempos de retenção para cada analito e os padrões internos utilizados nas análises de HPAs e derivados por CG-EM.....	24
TABELA 3.3 – Condições cromatográficas para as análises de açúcares por CG-EM.....	27
TABELA 3.4 – Razões m/z dos íons monitorados e tempos de retenção para cada analito e os padrões internos utilizados nas análises de açúcares por CG-EM ..	28
TABELA 3.5 – Equações lineares das curvas analíticas, coeficientes de correlação (r), faixas lineares e padrões internos correspondentes aos analitos para as análises de açúcares por CG-EM.....	30
TABELA 3.6 – Condições cromatográficas para as análises de íons por CI	31
TABELA 3.7 – Tempos de retenção para as análises de cátions e ânions por CI	31
TABELA 3.8 – Equações lineares das curvas analíticas, coeficientes de correlação (r) e faixas lineares para as análises de cátions e ânions por CI	32
TABELA 3.9 – Concentrações médias de MP_{10} testadas	35
TABELA 4.1 – Equações lineares das curvas analíticas, coeficientes de correlação (r), faixas lineares e padrões internos correspondentes aos analitos para as análises de HPAs e derivados por CG-EM.....	40
TABELA 4.2 – Concentrações médias e seus respectivos desvios padrões ($ng\ m^{-3}$) de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nas amostras coletadas em São Carlos nos períodos seco e chuvoso em 2016	42
TABELA 4.3 – Concentrações médias e seus respectivos desvios padrões ($ng\ m^{-3}$) de açúcares, polióis e anidroaçúcares nas amostras coletadas em São Carlos nos períodos seco e chuvoso em 2016.....	48

TABELA 4.4 – Comparação das concentrações de levoglucosano (ng m^{-3}) em regiões paulistas e amazônica	50
TABELA 4.5 – Concentrações médias e seus respectivos desvios padrões ($\mu\text{g m}^{-3}$) de cátions e ânions nas amostras coletadas em São Carlos nos períodos seco e chuvoso em 2016.....	51

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Esquema da distribuição do tamanho de partícula no material particulado com os principais modos, fontes e mecanismos de formação e remoção	4
FIGURA 1.2 – Distribuição do MP inalável no ser humano em relação ao tamanho das partículas	5
FIGURA 1.3 – Estrutura dos HPAs considerados prioritários pela USEPA e ATSDR.....	9
FIGURA 1.4 – Mecanismos de formação de adutos entre HPAs e DNA	11
FIGURA 3.1 – Localização da área de estudo.....	19
FIGURA 3.2 – (a) Amostrador de grandes volumes, AGV MP ₁₀ , com destaques para os filtros (b) antes e (c) após a amostragem de MP ₁₀	21
FIGURA 3.3 – Fluxograma das análises realizadas com as amostras de MP ₁₀ ..	22
FIGURA 4.1 – Concentrações de MP ₁₀ ($\mu\text{g m}^{-3}$) nas amostras coletadas na cidade de São Carlos por 24 h em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de caixa mostra as médias (X), medianas (–), <i>outliers</i> (◦), percentis de 25% e 75%, mínimo (\perp) e máximo (\top) das concentrações	38
FIGURA 4.2 – Médias mensais das somas das concentrações de HPAs (ng m^{-3}) nas amostras coletadas em São Carlos por 24 h em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de barras mostra as médias das concentrações de cada HPA empilhados e identificados em cores distintas	43
FIGURA 4.3 – Médias mensais do BaPE (ng m^{-3}) para as amostras coletadas em São Carlos por 24 h em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de barras mostra as médias do BaPE e o desvio padrão (I)	44
FIGURA 4.4 – Médias mensais das concentrações de Oxi- e Nitro-HPAs nas amostras coletadas por 24 h em São Carlos em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de barras mostra as médias das concentrações de cada derivado de HPA em cores distintas e os desvios padrões (I)	45

FIGURA 4.5 – Médias mensais das somas das concentrações dos (a) açúcares (ng m^{-3}) e (b) polióis (ng m^{-3}) na 1ª coluna e anidroaçúcares (ng m^{-3}) na 2ª coluna nas amostras coletadas em São Carlos por 24 h em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. Os gráficos de barras mostram as médias das concentrações de cada sacarídeo empilhados e identificados em cores distintas.....	49
FIGURA 4.6 – Médias mensais das somas das concentrações de íons ($\mu\text{g m}^{-3}$), cátions na 1ª coluna e ânions na 2ª coluna, nas amostras coletadas por 24 h em São Carlos em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de barras mostra as médias das concentrações de cada íon empilhados e identificados em cores distintas	52
FIGURA 4.7 – Fontes de emissão do MP_{10} atmosférico coletado em São Carlos em 2016. O gráfico de setores mostra as contribuições das 4 fontes de emissão (%) identificadas	53
FIGURA 4.8 – “ <i>Fingerprints</i> ” dos fatores encontrados no estudo de <i>source apportionment</i> . O gráfico de barras mostra como cada fator (fonte de emissão) está distribuído (%) nos analitos	54
FIGURA 4.9 – Viabilidade celular das células de alvéolo pulmonar humano tumorais (A549) expostas aos extratos (concentrações de 5, 10, 20 e 40 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ dos extratos) das amostras de MP_{10} coletadas em São Carlos em 2016 por (a) 24 h e (b) 72 h. Os gráficos de barras mostram as médias das viabilidades celulares, obtidas em duplicatas independentes com triplicatas técnicas, em relação ao controle com o filtro branco, das células expostas ao MP_{10} e os desvios padrões (I). As diferenças significativas (*) foram estabelecidas por Anova one-way + pós teste Dunnett ($\alpha = 0,05$).....	56
FIGURA 4.10 – Cromatograma da análise de HPAs das amostras para a razão m/z 77	57
FIGURA 4.11 – Cromatograma da análise de HPAs das amostras para a razão m/z 127	58

- FIGURA 4.12 – Viabilidade celular das células de pulmão humano a) fibroblastos não tumorais (MRC5) e b) alvéolos tumorais (A549), expostas à concentração de $16,52 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ dos extratos de MP_{10} por 24 e 72 h. Os gráficos de barras mostram as médias das viabilidades celulares, obtidas em duplicatas independentes com sextuplicatas técnicas, em relação ao controle com o filtro branco, e os desvios padrões (I). As diferenças significativas (*) foram estabelecidas por Anova one-way + pós teste Dunnett ($\alpha = 0,05$) 59
- FIGURA 4.13 – EROs das células de pulmão humano tumorais (A549), expostas à concentração $20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ dos extratos de MP_{10} por 24 h e 72 h. O gráfico de barras mostra as médias das EROs por células viáveis, obtidas em triplicatas independentes com triplicatas técnicas, em relação ao controle com o DMSO, e os desvios padrões (I). As diferenças significativas (*) foram estabelecidas por Anova one-way + pós teste Dunnett ($\alpha = 0,05$) 61
- FIGURA 4.14 – Proliferação celular das células de pulmão humano tumoral (A549) expostas à concentração de $20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ dos extratos de MP_{10} por 72 h. O gráfico de barras mostra as médias das proliferações celulares, obtidas em triplicatas independentes com quadriplicatas técnicas, em relação ao controle com o DMSO, e os desvios padrões (I). As diferenças significativas (*) foram estabelecidas por Anova one-way + pós teste Dunnett ($\alpha = 0,05$)..... 62

RESUMO

MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO DA CIDADE DE SÃO CARLOS E SUA TOXICIDADE EM CULTURAS DE CÉLULAS PULMONARES. A poluição do ar por MP é uma das principais causas de problemas de saúde em muitas regiões do mundo. Esse pode estar associado aos mais de 500 compostos com efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos já identificados no MP, que podem ser originados de diferentes fontes naturais e antrópicas. Assim, o presente estudo propôs investigar a composição química do MP₁₀ da cidade de São Carlos-SP e sua toxicidade em células pulmonares, epiteliais alveolares tumorais (A549) e fibroblastos não tumorais (MRC5). As amostras de MP₁₀ foram coletadas por 24 h, no ano de 2016, e submetidas as análises químicas para as determinações dos HPAs e seus derivados, além de sacarídeos e íons solúveis em água, os quais auxiliaram na identificação das fontes de emissão do MP₁₀ para a atmosfera. As análises biológicas *in vitro* de viabilidade celular, EROs e proliferação celular foram realizadas para a avaliação da toxicidade dos extratos de MP₁₀. A média anual da concentração de MP₁₀ foi de $21,12 \pm 9,90 \mu\text{g m}^{-3}$, menor que a legislada no Brasil, porém maior que a recomendada pela OMS. Nestas amostras as principais fontes de emissão foram: queima de biomassa com aerossóis secundários, queima de biomassa e combustíveis fósseis, aerossóis biogênicos e solo. O risco para a saúde humana pela exposição aos HPAs estimado pelo BaPE foi de $3,09 \pm 4,23$ casos de câncer de pulmão a cada 100.000 pessoas. Além disso, as análises biológicas demonstraram redução significativa na viabilidade das células A549 e MRC5 expostas aos extratos de MP₁₀ por 72 h, e também a formação de EROs. Diante destes resultados, dados os efeitos toxicológicos observados, conclui-se que são necessários mais estudos com diversas linhagens celulares e melhor controle e redução das emissões de MP para a atmosfera.

Palavras-Chave: MP₁₀. Toxicidade. Células pulmonares.

ABSTRACT

ATMOSPHERIC PARTICULATE MATTER FROM THE CITY OF SÃO CARLOS AND ITS TOXICITY IN PULMONARY CELL CULTURES. PM air pollution is one of the principal causes of health problems in many regions' world. This potential may be associated with the more than 500 compounds with toxic, mutagenic and carcinogenic effects already identified in PM that can originate from different natural and anthropogenic sources. Thus, the present study proposed to assess the chemical composition of PM₁₀ from the city of São Carlos-SP and its toxicity in lung cells, tumor alveolar epithelial (A549), and non-tumor fibroblasts (MRC5). PM₁₀ samples were collected for 24 h in 2016 and subjected to chemical analysis for the PAHs and their derivatives determination, in addition to analyzing saccharides and water-soluble ions to assist in the PM₁₀ emission sources identification to the atmosphere. In vitro biological analyzes of cell viability, ROS, and cell proliferation were performed to evaluate the toxicity of PM₁₀ extracts. The annual mean PM₁₀ concentration was $21.12 \pm 9.90 \mu\text{g m}^{-3}$, lower than that legislated limit in Brazil but higher than that recommended by the WHO. In these samples, the principal emission sources were: biomass burning with secondary aerosols, biomass burning and fossil fuels, biogenic aerosols, and soil. The risk to human health from exposure to PAHs estimated by BaPE was 3.09 ± 4.23 lung cancer cases per 100,000 people. Furthermore, biological analyzes identified a significant reduction in the viability of A549 and MRC5 cells, exposed to PM₁₀ extracts for 72 h, and also the formation of ROS. In the face of these results, given the observed toxicological effects, it is concluded that more studies are needed with different cell lines and better control and reduction of PM emissions to the atmosphere.

Keywords: PM₁₀. Toxicity. Lung cells.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Poluição atmosférica	1
1.2	Material particulado	3
1.3	Composição química do material particulado	7
1.3.1	Aspectos gerais	7
1.3.1.1	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados	7
1.3.1.2	Sacarídeos	13
1.3.1.3	Íons	14
1.4	Impactos e danos do material particulado atmosférico na saúde humana	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo Geral	18
2.2	Objetivos Específicos	18
3	MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1	Área de Estudo	19
3.1.1	Município de São Carlos	19
3.1.2	Local de Coleta	20
3.2	Amostragem	21
3.3	Análise Gravimétrica	22
3.4	Análises Químicas	22
3.4.1	Seleção de amostras	22
3.4.2	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados	23
3.4.2.1	Preparo de amostras	23
3.4.2.2	Condições instrumentais	24
3.4.2.3	Curvas Analíticas	26
3.4.3	Sacarídeos	26
3.4.3.1	Preparo de amostras	26
3.4.3.2	Condições instrumentais	27

3.4.3.3	Curvas analíticas	29
3.4.4	Íons	30
3.4.4.1	Preparo de amostras	30
3.4.4.2	Condições instrumentais	31
3.4.4.3	Curvas Analíticas	32
3.5	<i>Source Apportionment</i>	33
3.6	Análises Biológicas	34
3.6.1	Seleção de amostras	34
3.6.2	Cultivo Celular	34
3.6.3	Viabilidade Celular pelo ensaio MTT.....	35
3.6.4	Espécies Reativas de Oxigênio	36
3.6.5	Proliferação Celular	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Material Particulado	38
4.2	Análises Químicas	39
4.2.1	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados	39
4.2.1.1	Validação do método	39
4.2.1.2	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos nas amostras de MP ₁₀	41
4.2.1.3	Derivados dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	45
4.2.2	Açúcares, Polióis e Anidroaçúcares.....	47
4.2.3	Íons	51
4.3	<i>Source Apportionment</i>	53
4.4	Análises Biológicas	55
4.4.1	Viabilidade Celular pelo Ensaio MTT	55
4.4.2	Espécies Reativas de Oxigênio	61
4.4.3	Proliferação Celular	62
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
	REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 Poluição atmosférica

A atmosfera é formada por uma fina camada de gases que envolve a Terra. Essa camada é subdividida com base na variação de temperatura e pressão com a altitude. A troposfera, região de menor altitude, se estende a uma altura de 10-15 km a partir da superfície da Terra e contém 90% da massa atmosférica total. Essa é a região dos sistemas climáticos ativos e diretamente afetada pelas atividades na superfície da Terra — processos biológicos e mudanças físicas e químicas naturais ou antrópicas.¹

As atividades humanas provocam mudanças, por vezes sutis em escala global e a curto prazo. Contudo, em ambientes urbanos e industrializados a influência humana acarreta impactos mais claros, como a poluição do ar. Essa poluição pode ser definida especificamente como uma condição em que estão presentes concentrações de substâncias, naturais ou não, acima dos níveis ambientais naturais que provoquem efeitos nocivos em seres vivos (animais ou plantas) ou materiais.²

As principais fontes emissoras para a poluição do ar nos ambientes urbanos são as queimas de combustíveis fósseis líquidos (gasolina, diesel, óleo combustível) por veículos automotores e sólidos (carvão e resíduos). Por exemplo, os veículos movidos a diesel emitem óxidos de nitrogênio (NO_x) e material particulado (MP), dentre outros; já os movidos a gasolina e etanol são relacionados a emissões de monóxido de carbono (CO), hidrocarbonetos não metano e aldeídos (RCHO), dentre outros.³ Somados a isso, têm-se as emissões industriais, os processos de ressuspensão do solo e a formação de poluentes secundários.^{3,4}

No Brasil, dentre as 27 unidades federativas, apenas o Distrito Federal e mais 10 estados realizam monitoramento da qualidade do ar com um total de 430 estações no país. Isso representa somente 40,7% das unidades federativas que são: Acre, Pernambuco, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do

Sul, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul. Os poluentes monitorados são, em ordem crescente (em percentagem de monitoramento): o carbono negro (CN, 1,1%), a fumaça (2,7%), o CO (25,9%), material particulado menor que 2,5 μm (MP_{2,5} - 25,9%), óxido de enxofre (SO_x, 26,4%), partículas totais em suspensão (PTS, 29,4%), o ozônio (O₃, 36,9%), NO_x (37,7%) e material particulado menor que 10 μm (MP₁₀ - 62,8%).⁵

A poluição do ar é considerada um grande problema climático e de saúde ambiental que, de maneira geral, afeta todos os países e em algumas regiões do mundo são a principal causadora de problemas de saúde. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que em 2016 houveram cerca de 4,2 milhões de mortes prematuras em todo o mundo, provocadas pela poluição externa do ar com 91% dessas mortes ocorrendo em países de baixa e média renda, principalmente em regiões do sudeste asiático e pacífico ocidental.⁶

Nesse contexto, em relatório de 2018 da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), foi estimado que a poluição do ar é responsável, anualmente, por 51 mil mortes no Brasil, número que superou as mortes no trânsito que aconteceram no mesmo ano, baseando-se no DataSUS do Ministério da Saúde.³

Dentre os principais poluentes que causam preocupações vem se destacando o MP ou aerossol. Esse destaque, pode ser atribuído à redução na emissão de muitos gases poluentes e fumaça na atmosfera e as elevações nas concentrações de MP em ambientes urbanos.⁴ Em 2013, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) após uma avaliação concluiu que a poluição do ar externo também é mutagênica e carcinogênica para os seres humanos, com o MP associado ao aumento da incidência de câncer, principalmente o câncer de pulmão.⁶

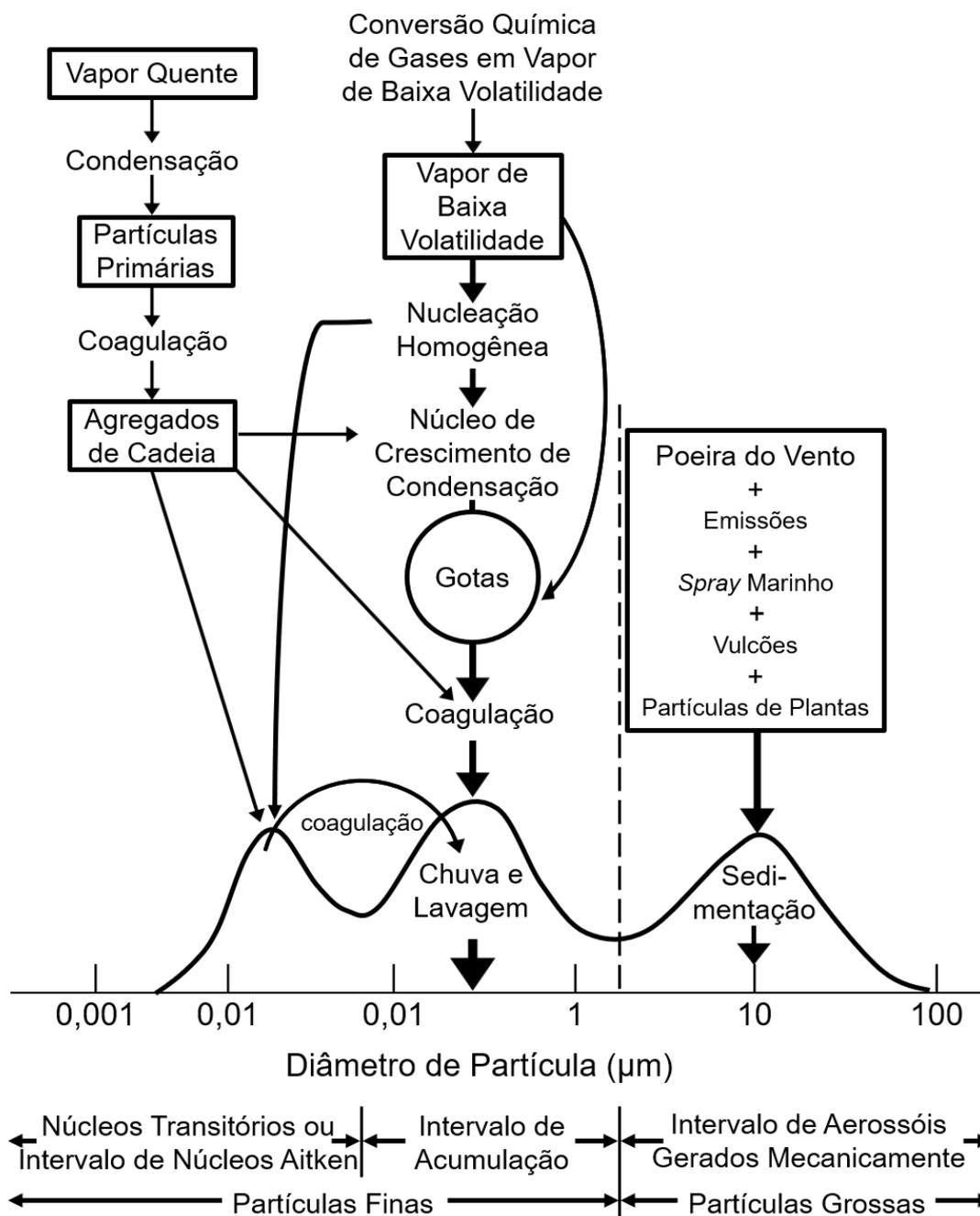
1.2 Material particulado

Segundo SEINFELD e PANDIS (2006)², MP faz referência a quaisquer substâncias existentes nas fases líquida (exceto a água pura) ou sólida em condições normais na atmosfera que são de tamanho microscópico, ou submicroscópico, e maior que as dimensões moleculares. Portanto, aerossol ou MP, é uma solução bifásica com diminutas partículas (diâmetro de 0,002 a 100 μm) líquidas e/ou sólidas dispersas no ar.⁷

As partículas no MP possuem os tamanhos e as composições variáveis e dependentes da origem (fonte de emissão) e de processos físico-químicos que ocorrem no ar. Por conveniência, todas as partículas dispersas no ar são consideradas esféricas para, assim, tomar o diâmetro (\emptyset) como uma propriedade, porém cabe ressaltar que há partículas com outras formas regulares geométricas e irregulares.⁷

O tamanho das partículas é influenciado por processos de condensação, nucleação e coagulação. O modo de nucleação abrange as partículas com diâmetro entre 0,01 e 0,1 μm que são formadas por processos de condensação de vapores produzidos por combustão e da nucleação de espécies atmosféricas. Partículas desse modo possuem tempo de vida curto, pois coagulam entre si e formam partículas maiores. O modo de acumulação possui partículas com diâmetro de 0,1 a 2,5 μm formadas pela coagulação de partículas do modo de nucleação e também pela condensação de vapores em partículas existentes. Diâmetros acima de 2,5 μm compõem o modo de sedimentação, formadas geralmente por processos mecânicos consistindo em partículas emitidas naturalmente e antropicamente.² A FIGURA 1.1 exibe um esquema resumido destes processos que influenciam no tamanho das partículas; fontes e mecanismos de formação e remoção de partículas também estão exibidos.

FIGURA 1.1 – Esquema da distribuição do tamanho de partícula no material particulado com os principais modos, fontes e mecanismos de formação e remoção

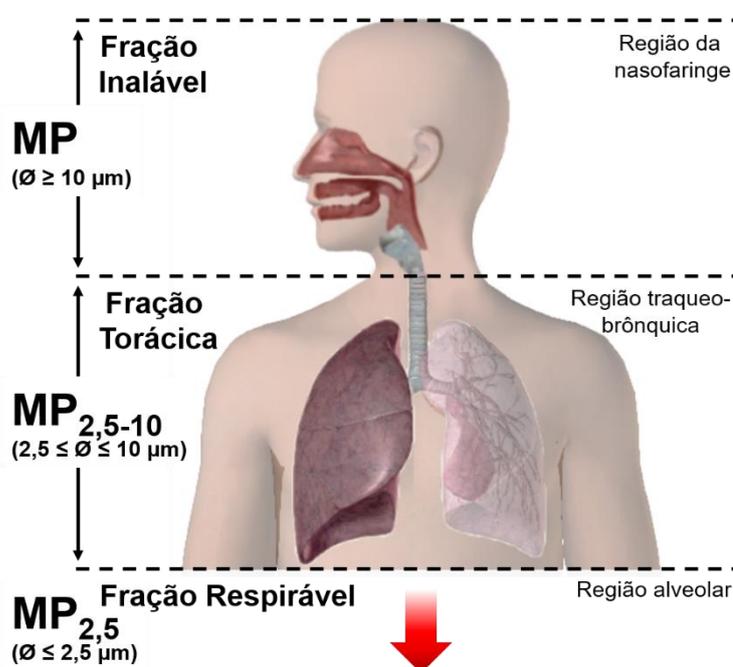


Fonte: Traduzida de SEINFELD e PANDIS (2006).²

Ainda considerando o tamanho, as partículas que podem entrar pelo nariz e boca e que não possuem limite superior de tamanho definido são classificadas como fração inalável (FIGURA 1.2). Nesta, há a fração torácica que está relacionada as partículas mais grossas da fração inalável e podem alcançar o tórax. Estas partículas tem diâmetro aerodinâmico (\emptyset) menor que 10 μm , e fazem

parte do modo de sedimentação.⁷ Há ainda a fração respirável, que está relacionada às partículas mais finas da fração inalável, $MP_{2,5}$, apontadas como a fração capaz de alcançar a região alveolar e se depositar nela, bem como ultrapassá-la, e se transportar até outros órgãos.⁷ Estes menores tamanhos de partículas integram os modos de nucleação e acumulação. Já as partículas com $\varnothing \geq 10 \mu\text{m}$ da fração inalável geralmente ficam depositadas nas cavidades oral e nasal.

FIGURA 1.2 – Distribuição do MP inalável no ser humano em relação ao tamanho das partículas



Fonte: Elaborado pela autora do trabalho.

O material particulado além de ser classificado por seu tamanho, pode ser classificado pelo processo de emissão ou formação. Material particulado primário são aquelas partículas emitidas diretamente para a atmosfera, como o *spray* marinho. O material particulado secundário é constituído de componentes formados na atmosfera, resultantes da nucleação homogênea ou heterogênea de novas partículas e da condensação de gases e vapores nas partículas existentes, sendo o último controlado pela área superficial da partícula, por exemplo aerossóis de sulfato e nitrato.¹

A OMS, em função das evidências de danos à saúde causados pelo MP, recomenda que as concentrações médias diárias de MP_{10} e $MP_{2,5}$ não ultrapassem 45 e 15 $\mu\text{g m}^{-3}$, respectivamente.⁶ No Brasil, o Conselho Nacional de Meio Ambiente (Conama) redefiniu em 2018 os padrões de qualidade do ar pela Resolução n° 491, de 19/11/2018, atualizando o valor limite preconizado para MP_{10} e inserindo um limite para $MP_{2,5}$, respectivamente, para 50 e 25 $\mu\text{g m}^{-3}$ em 24 h.⁸

Destaca-se que na Resolução Conama n° 491, de 19/11/2018, estes valores são os preconizados como “Padrões de Qualidade do Ar Final”.⁸ Esse padrão só será consolidado quando outros três “Padrões de Qualidade do Ar Intermediários”, com valores limites maiores de MP_{10} e $MP_{2,5}$, forem alcançados, e não há prazo estabelecido para o avanço e cumprimento dessas etapas.

Aliado ao tamanho do MP e seu poder de penetração no corpo humano, o conhecimento da composição é de fundamental importância. Resumidamente, sabe-se que a composição é única em sua complexidade, dado que o MP é emitido no ambiente por diferentes fontes, as quais podem ser de origem natural ou antrópica e resultar em composições diversas. Dentre as emissões por fontes naturais destacam-se: poeira terrestre (detritos do solo e de rochas), atividade vulcânica, pulverização da água do mar, queima de biomassa e reações entre gases emitidos naturalmente. Para emissões antrópicas, as principais fontes estão relacionadas a processos de queima de combustíveis fósseis e biomassa, processos industriais, ressuspensão de poeira de estradas e de construções e erosão eólica de terras cultivadas.²

O MP atmosférico é composto por substâncias orgânicas e inorgânicas dispersas no ar, e a identificação desta composição pode ajudar a correlacioná-los com as fontes de emissão e a traçar efeitos nocivos à saúde.

1.3 Composição química do material particulado

1.3.1 Aspectos gerais

As substâncias que se destacam na composição do MP são o sulfato (SO_4^{2-}), amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), sódio (Na^+), cloreto (Cl^-), metais traços, elementos crustais, material carbonáceo e água. Uma fração significativa dessa composição é de origem antrópica.²

O material carbonáceo no MP consiste tanto em carbono elementar (carbono negro) — indicador direto de atividade antrópica, pois é gerado apenas em combustões — quanto carbono orgânico que possui composição mais complexa abrangendo diversas classes de compostos.² Entre esses compostos, já foram identificados: *n*-alcanos, *n*-alcenos, *n*-alcanonas, *n*-alcanais, ácidos *n*-alcanóicos e seus sais, *n*-alcanóis, ácidos alcanodióicos, ésteres de ceras, alcanoatos de triterfenil, triglicerídeos, metoxifenóis, açúcares, anidroaçúcares, polióis, colesterol, fitosterol, di e triterpenóides, hopanos e esteranos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados oxigenados (Oxi-HPAs), nitrados (Nitro-HPAs), hidroxilados (OH-HPAs) e heterocíclicos de enxofre (tio-HPAs).⁷⁻¹⁷

Dentre a ampla gama de compostos presentes no MP, neste trabalho é dado enfoque aos HPAs e seus derivados (Oxi-HPAs e Nitro-HPAs). Complementarmente os açúcares e os íons solúveis em água serão analisados para auxiliar na identificação das fontes de emissão. Isto porque, embora a composição da matéria orgânica no MP seja bastante complexa e altamente variável, os compostos marcadores costumam ser específicos ou relacionados a uma determinada fonte.

1.3.1.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) frequentemente são estudados dentre a matéria orgânica particulada, pois representam um risco para a saúde devido à diversos compostos já terem demonstrado

carcinogenicidade em animais e mutagenicidade em bioensaios *in vitro*²⁰ e à quase onipresença no ar ambiente.²¹⁻²³

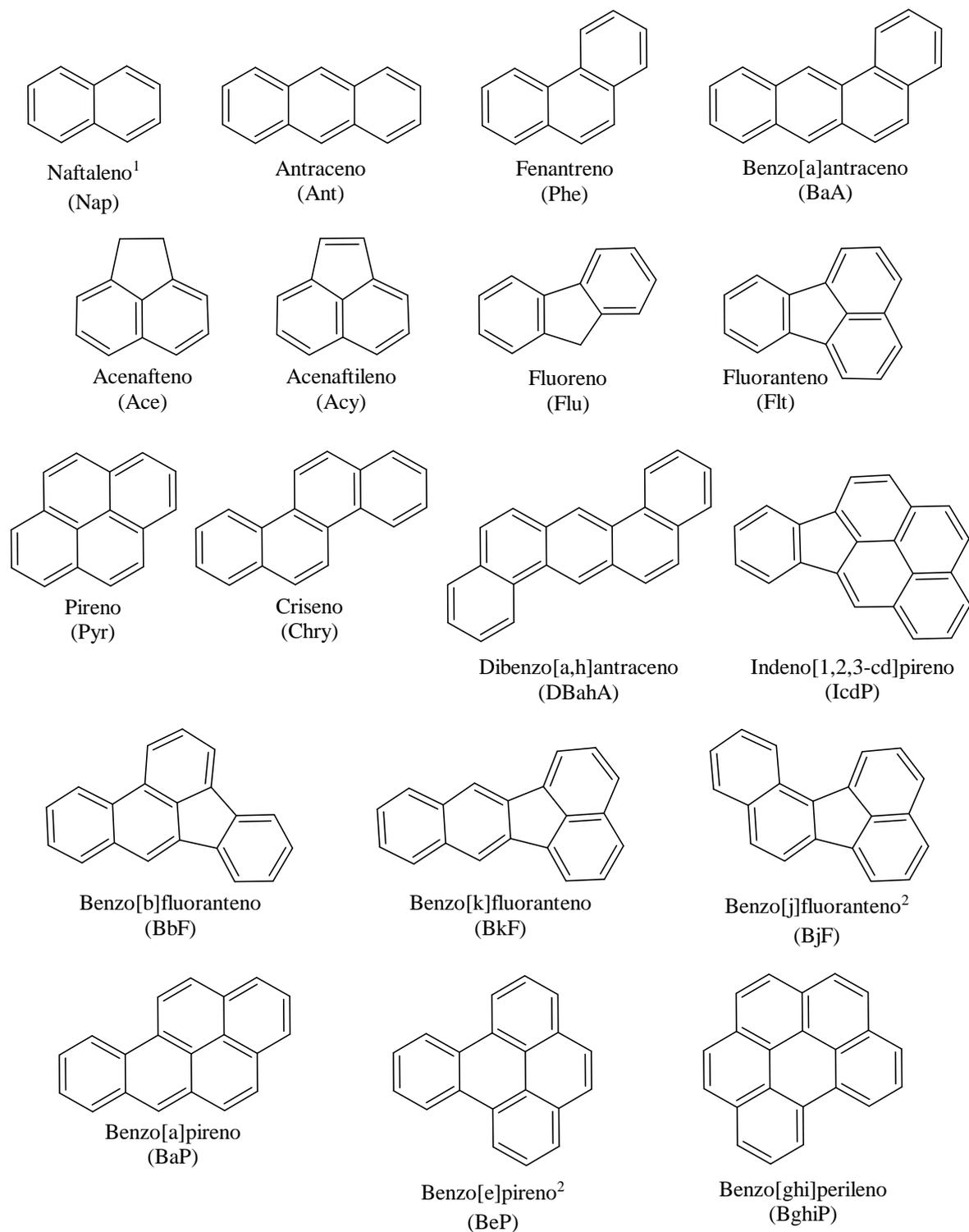
Os HPAs são uma classe de compostos orgânicos caracterizados por possuírem 2 ou mais anéis aromáticos condensados formados apenas por carbono (C) e hidrogênio (H).²² Estas substâncias também podem conter anéis adicionais que não sejam aromáticos e de seis carbonos e serem convertidos nos seus derivados — Oxi-HPAs, Nitro-HPAs, OH-HPAs e tio-HPAs — quando expostos a agentes oxidantes, por exemplo, os radicais hidroxila (HO•) e nitrato (NO₃•), O₃ e SO₂, e NH₂.^{10,14,19,21,22}

Os HPAs são formados em processos de combustão incompleta em altas temperaturas ou pirólise da matéria orgânica, pela fusão de dois ou mais anéis benzênicos, heterociclos ou outros.²⁴

Os HPAs são emitidos para a atmosfera por fontes naturais e antrópicas, sendo que as últimas representam as principais contribuições. Dentre estas podem ser citadas as fontes móveis: queima de combustíveis fósseis veiculares (diesel e gasolina); e as fontes estacionárias: queima de biomassa (aquecimento residencial, desmatamento e queima de cana-de-açúcar), queima de carvão, processos industriais e geração de energia.^{19,21}

No ar coexistem mais de 100 HPAs diferentes, contudo 16 deles (FIGURA 1.3) são considerados poluentes prioritários pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA).²⁰ Já a Agência de Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças dos Estados Unidos (ATSDR) considera prioritários 17 HPAs (FIGURA 1.3) com base na toxicidade, potencial de exposição humana, frequência de ocorrência em locais de resíduos perigosos da lista de prioridades nacionais e mais informações disponíveis.²⁵

FIGURA 1.3 – Estrutura dos HPAs considerados prioritários pela USEPA e ATSDR



1- Presente apenas na lista da USEPA; 2- Presentes apenas na lista da ATSDR.

Fonte: Elaborado pela autora.

Alguns destes compostos (FIGURA 1.3) são classificados pela IARC como: Grupo 1, cancerígeno para humanos — BaP; Grupo 2A, provavelmente cancerígeno para humanos, há evidências suficientes de carcinogenicidade em

animais e evidências limitadas ou insuficientes de carcinogenicidade em humanos — BaA e DBahA; Grupo 2B, possivelmente cancerígeno para humanos, há evidências limitadas de carcinogenicidade em humanos e evidências insuficientes de carcinogenicidade em animais ou quando não há evidências suficientes em ambos os casos, mas há dados relevantes de que ele possa ser carcinogênico — Nap, Chry, BbF, BkF, BjF e IcdP; Grupo 3, não é classificável quanto à sua carcinogenicidade para humanos — Ant, Phe, Ace, Flu, Flt, Pyr, BeP e BghiP.^{20,26} O Acy não está presente na lista de compostos classificados pela IARC.

Na atmosfera, os HPAs estão presentes tanto na fase gasosa quanto sorvidos no MP, a depender de suas propriedades físico-químicas e das condições meteorológicas, sendo assim, podem entrar no organismo por inalação, ingestão e contato dérmico. A via de entrada dos HPAs afeta diretamente a maneira como ocorrerá sua eliminação, a qual ocorre após o metabolismo hepático. Os HPAs absorvidos em fase gasosa são rapidamente metabolizados e eliminados pelo organismo, no entanto, quando constituintes do MP o processo de eliminação é mais lento,^{19,21} já tendo sido reportada bioacumulação no tecido adiposo feminino, independentemente da idade das doadoras, em estudo realizado com mulheres coreanas de 40 até 68 anos de idade.²⁷

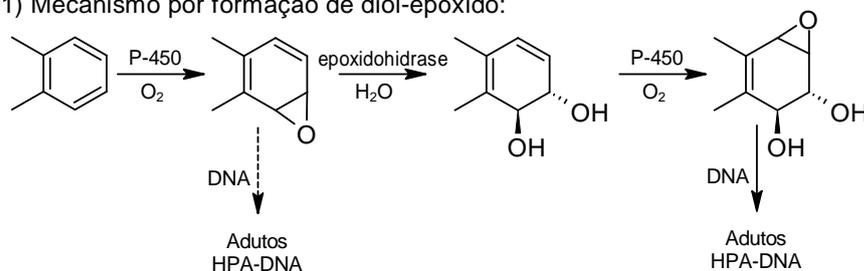
As atividades mutagênicas e carcinogênicas dos HPAs são resultados de biotransformações que ocorrem no organismo envolvendo múltiplas enzimas metabólicas que catalisam reações de oxidação, redução e hidrólise — oxigenases de função mista, citocromo P450, NADPH-citocromo-c-redutase — e de enzimas que catalisam reações de conjugação — sulfotransferase, epóxido hidrolase, glutathione-S-transferase e UDP-glicotransferase.²¹

Ressalta-se que os HPAs não são mutagênicos diretos e necessitam de ativação metabólica para reagir com o DNA e outras macromoléculas. Para tal, foram propostos 4 mecanismos: 1) oxidação enzimática seguida de hidrólise com formação de diolepóxidos; 2) uma série de reações de substituição com formação de ésteres benzílicos, eletrofílicos; 3) oxidação enzimática com envolvimento de

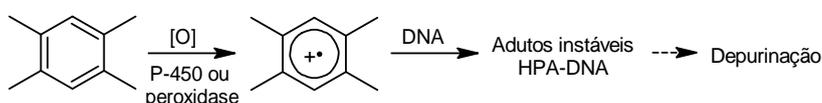
1 elétron com produção de radicais catiônicos e 4) de-hidrogenação enzimática dos metabólitos di-hidrodióis com formação de quinonas.^{21,28}

FIGURA 1.4 – Mecanismos de formação de adutos entre HPAs e DNA

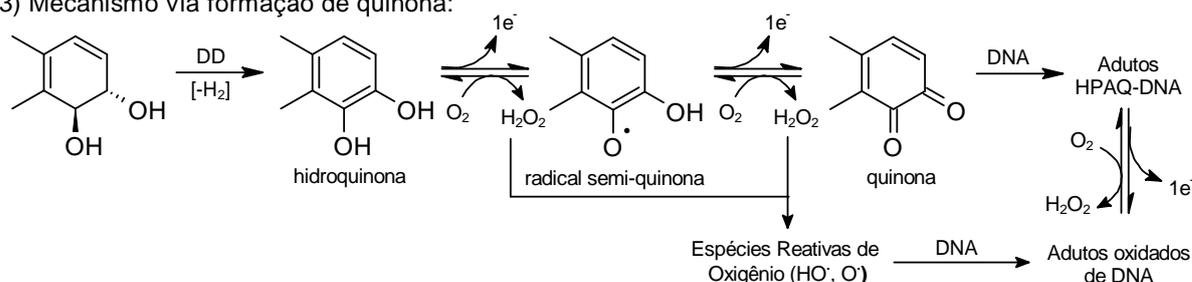
1) Mecanismo por formação de diol-epóxido:



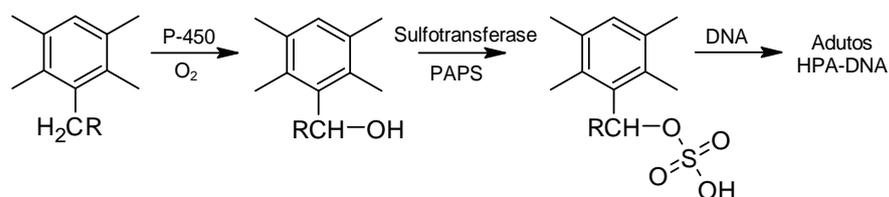
2) Mecanismo por formação de radical-cátion:



3) Mecanismo via formação de quinona:



4) Mecanismo por oxidação benzílica:



Fonte: Traduzido de HARVEY (1996)²⁸.

Os derivados dos HPAs já estão em suas formas oxidadas, e por não necessitarem de uma etapa prévia de ativação enzimática, podem ter tanto quanto ou até maior potencial mutagênico e carcinogênico que os HPAs.^{19,21} Por essa razão, os derivados Oxi- — compostos que possuem oxigênio (O) — e Nitro- — compostos que contém o grupo nitro (NO_2) — HPAs também têm sido amplamente estudados.^{10,14,29-36} Alguns derivados já estão classificados na lista da IARC²⁶ nos Grupos 2A (p. ex. 1-nitropireno), 2B (p. ex. 9,10-antraquinona) e 3 (p. ex. 9-nitroantraceno).

Os Oxi- e Nitro-HPAs podem ser emitidos diretamente para a atmosfera (coemitidos com os HPAs) em todos os processos de combustão ou serem produzidos em fotorreações atmosféricas a partir de HPAs. Os Oxi-HPAs e os Nitro-HPAs são formados: a) na fase gasosa, a partir do ataque inicial de HO• e NO₃•, respectivamente; e b) na fase particulada, por reação com o O₃ e NO₂ (catalisada por HNO₃), respectivamente.^{37,38}

Estudos realizados em regiões canavieiras do estado de São Paulo quantificaram concentrações elevadas de HPAs no MP, bem como de alguns de seus derivados Oxi- e Nitro-.^{11,14,18} Estudos realizados na região amazônica também determinaram tais compostos, porém em concentrações mais baixas que as observadas na região canavieira do estado de São Paulo.^{10,39} Em um destes estudos realizado na região amazônica foram observados efeitos adversos graves causados por HPAs em células pulmonares humanas.³⁹ Neste trabalho, também foi demonstrado que o reteno, um HPA não incluído nas listas dos poluentes prioritários da USEPA e da ATSDR, causa danos ao DNA e morte celular.³⁹

Para a avaliação dos potenciais riscos à saúde humana pela exposição aos HPAs, a OMS selecionou o BaP como um indicador, devido a sua carcinogenicidade para humanos (Grupo 1), e o valor do risco unitário determinado foi de $8,7 \cdot 10^{-5}$. Isto significa que a cada incremento de 1 ng m^{-3} na concentração de BaP, aumenta-se o risco de câncer de pulmão ao longo da vida em 8,7 casos a cada 100.000 pessoas (EQUAÇÃO 1.1)⁴⁰:

$$R = C \times 8,7 \cdot 10^{-5} \text{ por } \text{ng m}^{-3} \quad \text{EQUAÇÃO 1.1}$$

R – Risco de câncer de pulmão; **C** – Concentração de BaP.

Contudo, o risco avaliado apenas pela concentração de BaP provavelmente será subestimado, uma vez que no ar estão presentes outros HPAs que também possuem toxicidade. Portanto, para uma melhor estimativa dos riscos pode ser realizada uma parametrização pelo índice benzo[a]pireno equivalente (BaPE), que avalia o risco de exposição a cada HPA mutagênico e/ou

carcinogênicos em comparação com o BaP. Segundo a USEPA, o BaPE é a soma das concentrações de 9 HPAs ponderados por um fator de potência relativa (RPF, EQUAÇÃO 1.2)⁴¹:

$$\begin{aligned} \mathbf{BaPE} = & (BaP \times 1) + (BaA \times 0,20) + (BbF \times 0,80) + \\ & (BkF \times 0,03) + (BghiP \times 0,009) + (Chry \times 0,10) + \\ & (DBahA \times 10,0) + (Flt \times 0,08) + (IcdP \times 0,07) \end{aligned} \quad \text{EQUAÇÃO 1.2}$$

Apesar dos potenciais riscos à saúde humana associados a estes compostos, HPAs e derivados, ainda não há consenso e nem definição de limites e valores aceitáveis para suas concentrações. Alguns países monitoram as concentrações de BaP, porém outros compostos não são monitorados. Ademais, para os derivados, que podem possuir maior carcinogenicidade e mutagenicidade, não há limites preconizados.

1.3.1.2 Sacarídeos

Os sacarídeos são uma importante classe de marcadores para a determinação direta ou indireta de fontes de emissão de MP para a atmosfera. Nos aerossóis, os açúcares são compostos por 3 principais grupos: açúcares (mono e dissacarídeos), polióis (sacarídeos reduzidos) e anidroaçúcares.

Os sacarídeos são a principal forma de carbono assimilado fotossinteticamente na biosfera, compreendendo até 75% em peso da vascularização de tecidos vegetais como polissacarídeos estruturais (celulose, hemicelulose e pectina).^{9,42} Como são constituintes de plantas, podem ser diretamente emitidos para a atmosfera ou indiretamente a partir da queima da vegetação; formados pela hidrólise do anidroaçúcar análogo em condições atmosféricas ácidas. Estes ainda podem ser emitidos por outras fontes como o solo, as bactérias e os fungos.^{42,43}

Os representantes encontrados em maior abundância são a frutose, glicose e sacarose (frutose + glicose), que possuem inúmeras fontes, incluindo

plantas, micro-organismos e animais.⁴² Esses compostos estão relacionados às emissões de pólen, e para a sacarose outra fonte é o solo.⁴³

Os polióis são produzidos em grandes quantidades por muitos fungos, os representantes mais comuns são o arabitol e o manitol que são marcadores de emissões de esporos de fungos.⁴² Esta é uma importante fonte de MP primário grosso, principalmente em condições úmidas.⁴³ Os polióis também estão presentes em líquens e bactérias.⁴²

Por último, os anidroaçúcares levoglucosano e manosano e galactosano, são utilizados como marcadores de queima de biomassa. O levoglucosano é o principal constituinte da queima de biomassa e é estável à degradação em condições ambientais — já tendo sido encontrado no MP coletado sobre o oceano, o que atestou sua estabilidade durante o transporte de longo alcance.⁴² O levoglucosano pode ainda ser emitido por processos de pirólise de carboidratos e amido durante o cozimento, mas suas concentrações são negligenciáveis.⁴³

Diversos estudos quantificaram o levoglucosano e seus isômeros, manosano e galactosano, em aerossóis provenientes de queima de biomassa em regiões canavieiras do estado de São Paulo^{11,17,18,44} e em queimadas na região amazônica¹⁶.

Além disso, na avaliação dos anidroaçúcares, a temperatura, a aeração e a duração das condições de queima determinam as distribuições e proporções entre os compostos. Assim, as razões levoglucosano/manosano (L/M) e levoglucosano/galactosano (L/G) fornecem informações sobre o tipo de biomassa queimada (madeira ou folhas) e o tipo de queima (com ou sem chamas).^{9,16,17}

1.3.1.3 Íons

Íons solúveis em água, são os componentes majoritários do MP atmosférico, e podem ser emitidos de forma direta (aerossol primário) ou

formados na atmosfera (aerossol secundário). Essas espécies também auxiliam na identificação das fontes de emissão.

Os íons potássio (K^+) e fosfato (PO_4^{3-}) são componentes de plantas e, assim, quando a biomassa é queimada eles são diretamente emitidos para a atmosfera.⁴⁵ Esses íons, por serem importantes nutrientes para as plantas, também estão presentes em fertilizantes agrícolas, que se usados em excesso podem ser emitidos para a atmosfera por processos de ressuspensão de fertilizantes do solo.⁴⁵ O K^+ já foi proposto como um marcador de queima de biomassa,⁴⁶ contudo, em regiões agrícolas o processo de ressuspensão do solo também é uma fonte relevante desse íon.^{15,47} Sendo assim, o K^+ isoladamente se torna um marcador equívoco para indicação da fonte de emissão de MP.

Os íons cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}) estão naturalmente presentes na composição do solo e também podem ser emitidos para a atmosfera por processos de ressuspensão do solo. Allen, Cardoso e Da Rocha (2004)⁴⁸ observaram correlações entre Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ , atestando que esses íons eram oriundos de partículas do solo, no material particulado grosso. Além disso, Ca^{2+} e Mg^{2+} podem ser indicadores de aerossóis marinhos quando correlacionados com os íons sódio (Na^+), cloreto (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}) e nitrato (NO_3^-).^{45,48}

Os íons SO_4^{2-} e NO_3^- são geralmente aerossóis secundários, formados no processo de conversão de gases em partículas na atmosfera a partir de emissões industriais e por queima de combustíveis fósseis ou biomassa, as quais emitem SO_2 e NO_x , respectivamente.¹¹

O íon amônio (NH_4^+) é também secundário, tem como precursor a amônia gasosa, e está relacionado as emissões oriundas de atividades agrícolas e queima de biomassa.^{45,48}

O íon fluoreto (F^-) está relacionado as atividades antrópicas, principalmente as das indústrias de revestimentos (produção de tijolos, telhas, cimento, cerâmica e vidro). O F^- é também frequentemente relacionado com a produção de alumínio primário e fertilizantes e com a queima de carvão mineral.⁴⁹

Há ainda os íons orgânicos, acetato (CH_3COO^-) e formiato (HCOO^-), que podem ser emitidos diretamente pela queima de combustível automotivo, queima de biomassa, atividade industrial, incineração de matéria orgânica, e naturalmente por algumas espécies de vegetação.^{45,48} A razão entre esses íons ($\text{HCOO}^-/\text{CH}_3\text{COO}^-$) é indicadora de emissão direta (< 1) e formação *in situ* por processos fotoquímicos (> 1).¹¹ Outra consideração é que a emissão direta veicular leva ao aumento de CH_3COO^- , enquanto a emissão direta da vegetação pode fornecer níveis mais altos de HCOO^- .¹¹

1.4 Impactos e danos do material particulado atmosférico na saúde humana

Segundo a OMS, há uma relação estreita e quantitativa entre a exposição a altas concentrações de MP_{10} e $\text{MP}_{2,5}$ e o aumento na mortalidade ou morbidade, tanto diariamente quanto ao longo do tempo, não tendo ainda sido observado um limite abaixo do qual danos à saúde estejam ausentes.⁶

Na estimativa realizada pela OMS em 2016, as mortes prematuras (4,2 milhões) relacionadas à poluição externa do ar foram atribuídas as: doença isquêmica do coração e acidente vascular cerebral (58%), doença pulmonar obstrutiva crônica e infecções agudas do trato respiratório inferior (18%) e câncer de pulmão (6%).⁶ Cabe destacar que algumas dessas mortes podem ser atribuídas simultaneamente a mais de um fator de risco, como, por exemplo, o tabagismo e a poluição do ar que afetam o desenvolvimento de câncer de pulmão.

Além das mortes, inúmeros problemas de saúde são relacionados à exposição ao MP, como: intensificação de doenças respiratórias e cardiovasculares crônicas; aumento no número de internações hospitalares e atendimentos de emergência por infarto do miocárdio em idosos e insuficiência cardíaca; dispneia; asma; e redução das funções pulmonares.⁵⁰

Além dessas doenças de comprometimento do sistema respiratório, já foi encontrada forte e consistente correlação da poluição por MP com diabetes

em adultos após ajuste para outros fatores de risco, como obesidade e etnia;⁵¹ efeitos adversos na reprodução, nascimento, mortalidade fetal e infantil, e até mesmo associado ao aumento no risco de desenvolvimento de distúrbios cerebrais, como o autismo;^{50,52} relacionado como causa de câncer de pele, onde as partículas atuam como veículo de entrega de agentes cancerígenos como o HPA BaP.⁵² Outros estudos, realizados com trabalhadores expostos a misturas de HPAs, já demonstraram problemas de saúde na pele, bexiga e cânceres gastrointestinais e hepáticos.^{19,53}

Dentro desse contexto, um estudo realizado em camundongos expostos diariamente a concentração ambiente simulada de MP_{2,5} da cidade de São Paulo demonstrou que após 3 meses houveram danos no DNA relacionados a ocorrência de estresse oxidativo nos pulmões, fígado e rim.⁵⁴

Assim, menciona-se que o desenvolvimento de cânceres inicia através de processos de estresses oxidativos que causam danos ao DNA e inflamações nos órgãos após exposição aos poluentes, os quais são os mecanismos de iniciação ou promoção de tumores ou mutagênicos. Os danos causados por exposição ao MP sugerem seguir esse caminho.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar a composição química do MP atmosférico da cidade de São Carlos e sua toxicidade. Isto para identificar as possíveis fontes de emissão desse MP e seus potenciais danos à saúde humana. Este estudo também visa apoiar o desenvolvimento futuro de uma legislação atmosférica mais adequada à proteção da saúde humana e do meio ambiente.

2.2 Objetivos Específicos

1) Realizar estudos sazonais das concentrações de HPAs e seus derivados no MP atmosférico coletado na cidade de São Carlos para avaliar suas fontes e calcular o risco à saúde humana relacionado à exposição aos HPAs mutagênicos e carcinogênicos;

2) Realizar estudos sazonais das concentrações de açúcares e íons no MP para usá-los como marcadores químicos na identificação das fontes de emissão que mais contribuem para o MP da cidade de São Carlos;

3) Identificar e quantificar as diversas fontes emissoras de MP na cidade de São Carlos por meio de análise multivariada de *source apportionment*;

4) Verificar os efeitos de toxicidade *in vitro* dos extratos de MP₁₀ em culturas de células pulmonares, tumorais (A549) e não tumorais (MRC5), por meio das análises de viabilidade celular pelo método do MTT, de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de proliferação celular pelo método do cristal violeta.

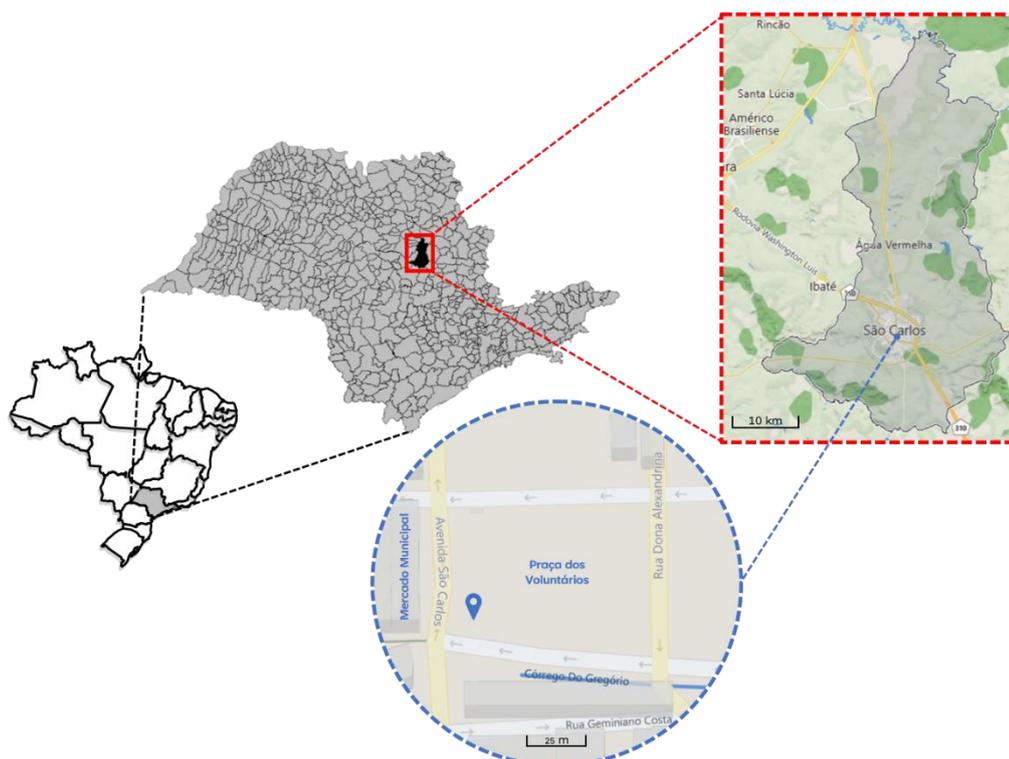
3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

3.1.1 Município de São Carlos

As amostragens de MP_{10} foram realizadas no município de São Carlos ($22^{\circ}01'02''S$, $47^{\circ}53'26''O$)⁵⁵ que está localizado na região centro-norte a 231 km da capital do estado de São Paulo, região sudeste do Brasil (FIGURA 3.1). São Carlos possui uma área de 1.136,907 km² e uma população de 256.915 habitantes.⁵⁶ A região possui clima subtropical úmido com verões chuvosos e invernos secos, temperatura e pluviosidade médias anuais de 21 °C e 1.404 mm, respectivamente.⁵⁷

FIGURA 3.1 – Localização da área de estudo



Fonte: Elaborada pela autora a partir de adaptações de Your Free Templates¹, Mapas para Colorir² e Bing Maps³.

¹ Disponível em: <https://yourfreetemplates.com/free-brazil-powerpoint-map/>. Acesso em: 01 maio 2020.

² Disponível em: <https://www.mapasparacolorir.com.br/mapa/estado/sp/estado-sao-paulo-municipios.png>. Acesso em: 01 maio 2020.

³ Disponível em: <https://www.bing.com/maps>. Acesso em: 24 out. 2021.

A economia do município é baseada nos setores industrial e agropecuário. O setor industrial é bastante pujante e diversificado contando com a presença de grandes indústrias como a Volkswagen, Tecumseh, Faber-Castell, etc.⁵⁸ No setor agrícola se destaca a produção de cana-de-açúcar que ocupou cerca de 31% do território da cidade em 2016, e foi responsável por aproximadamente 0,65% da produção do estado de São Paulo (442.282.329 toneladas), maior produtor do país.⁵⁹ No mesmo ano, a área plantada no estado foi de aproximadamente 4,7 milhões de hectares, e desta 5,5% foi colhida manualmente, o que demanda queima para facilitar a colheita.⁶⁰

3.1.2 Local de Coleta

As coletas de MP₁₀ foram realizadas na Praça dos Voluntários (22°1'11"S 47°53'25"O) que está localizada no centro da cidade de São Carlos, em frente ao Mercado Municipal (FIGURA 3.1).

A Praça dos Voluntários foi selecionada devido à intensa circulação de pedestres e veículos na região,⁶¹ ou seja, um local adequado para a realização de um estudo que busca avaliar os riscos da exposição humana ao MP atmosférico. Além de ser uma região com concentrações de MP similar à mediana obtida na cidade.⁶²

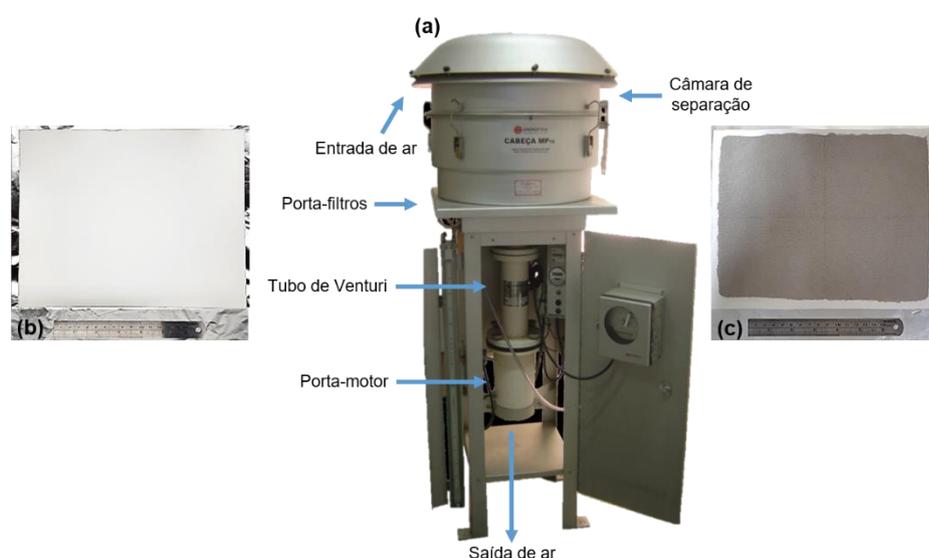
Em um estudo realizado por CELLI et al. (2003)⁶², 5 pontos de amostragem de MP no município de São Carlos foram avaliados – 3 pontos em zonas industriais, 1 ponto no centro urbano e 1 na zona rural. Destes, três apresentaram concentrações de MP₁₀ médias anuais muito similares com diferença menor que 5%, na zona rural a concentração foi inferior e um valor superior foi determinado em um dos pontos da zona industrial. Complementarmente, no centro urbano, a Praça dos Voluntários, foi realizado um estudo do fluxo de pedestres e veículos.⁶¹ Os estudos subsequentes que avaliaram a concentração de material particulado atmosférico total (TSP), MP₁₀ e MP_{2,5} na cidade de São Carlos foram realizados no mesmo sítio amostral.⁶¹⁻⁶⁵

3.2 Amostragem

As amostragens de MP_{10} em São Carlos foram realizadas de janeiro a dezembro de 2016 nos períodos chuvoso, de janeiro a março e de outubro a dezembro, e seco, de abril a setembro. Foram coletadas 120 amostras por 24 horas em dias alternados, conforme descrito por ALEXANDRINA (2019)⁶⁵.

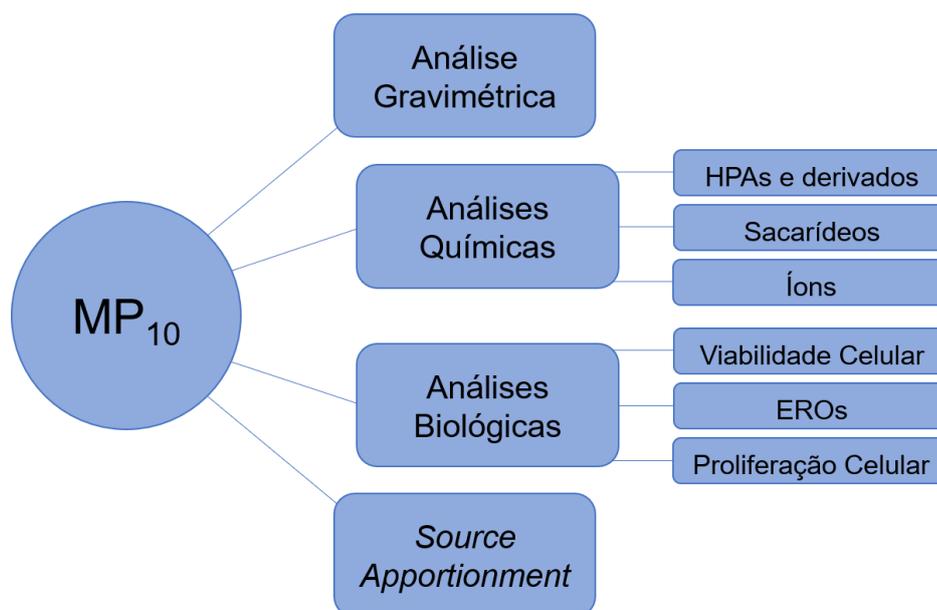
As amostragens foram realizadas utilizando um amostrador de grande volume (AGV) (Energética, modelo AGV MP_{10}) que aspira o ar a uma vazão de cerca de $1,13 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$ (desvio $< 1\%$ em 24 h) (FIGURA 3.2).⁶⁶ O MP_{10} foi coletado em filtros de fibra de vidro (FFV) com área igual a $515,62 \text{ cm}^2$ ($20,3 \times 25,4 \text{ cm}$). Esses filtros possuem eficiência de 99% para retenção de partículas maiores que $0,3 \mu\text{m}$ de diâmetro.⁶⁵ Antes e após as amostragens os filtros foram mantidos em dessecador por 24 h para realização das análises gravimétricas. Em seguida, os filtros amostrados foram armazenados em envelopes de papel *kraft* e sacos plásticos limpos a $-22 \text{ }^\circ\text{C}$ até a realização das análises químicas e biológicas. A FIGURA 3.3 exibe um fluxograma das análises realizadas com as amostras de MP_{10} coletadas.

FIGURA 3.2 – (a) Amostrador de grandes volumes, AGV MP_{10} , com destaques para os filtros (b) antes e (c) após a amostragem de MP_{10}



Fonte: Elaborado pela autora e adaptado do site da Energética⁴.

⁴ Disponível em: <https://www.energetica.ind.br/produto/agv-mp10/>. Acesso em: 24 out. 2021.

FIGURA 3.3 – Fluxograma das análises realizadas com as amostras de MP₁₀

Fonte: Elaborado pela autora.

3.3 Análise Gravimétrica

Os filtros antes e após as amostragens, previamente mantidos em dessecador por 24 h, foram pesados em triplicata. As pesagens foram realizadas em balança analítica (Shimadzu, modelo AY220 – máx. = 220 g, mín. = 0,01 g) com desvio padrão de 0,0001 g e erro de 0,001 g. Estas foram realizadas sob controle de temperatura e umidade, com variações menores que ± 2 °C e $\pm 5\%$, respectivamente.⁶⁴ A concentração mássica de MP₁₀ foi determinada a partir da diferença entre as médias dos valores obtidos para as triplicatas dos filtros antes e depois de amostrados.

3.4 Análises Químicas

3.4.1 Seleção de amostras

Das 120 amostras coletadas no ano de 2016, 47 amostras foram analisadas quimicamente: quatro amostras de cada mês, uma de cada semana. O mês de dezembro foi uma exceção com 3 amostras, dado que apenas 3 semanas haviam sido incluídas nas amostragens. O critério para a seleção das amostras foi possuir concentração mássica de MP₁₀ similar a concentração média mensal.

3.4.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados

3.4.2.1 Preparo de amostras

O método para as análises de HPAs e derivados, foi otimizado e validado em colaboração com outros pesquisadores do grupo e o procedimento está descrito em SCARAMBONI et al. (2021)⁶⁷. Inicialmente, os filtros amostrados foram cortados, uma área de 17,35 cm², e dopados com uma solução 0,2 µg mL⁻¹ de padrões internos deuterados de HPAs e seus derivados oxigenados e nitrados (1,4-diclorobenzeno-d₄, naftaleno-d₈, acenafteno-d₁₀, fenantreno-d₁₀, criseno-d₁₂ e perileno-d₁₂ – Supelco; fluoreno-d₁₀ e benzo[a]pireno-d₁₂ – Sigma-Aldrich; 9,10-antraquinona-d₈ – Santa Cruz e 9-nitroantraceno-d₉ – Toronto Research Chemicals).

Os filtros dopados foram cortados com uma tesoura para aumentar a superfície de contato e, então, extraídos 3 vezes com 4 mL de acetonitrila (LiChrosolv, Merck) em banho de ultrassom (Unique) por 34 min. Após cada extração, os extratos eram transferidos para um balão de fundo redondo, em seguida, o solvente foi evaporado até aproximadamente 500 µL, sob pressão reduzida, em um evaporador rotativo (Fisatom, modelo 802).

Os extratos foram filtrados com filtros de seringas de PTFE hidrofílicos, com poros de tamanhos de 0,22 µm (Analítica), para vials de 2 mL e secos completamente por evaporação sob fluxo de N₂. O balão que continha o extrato foi lavado por 3 vezes com 500 µL de acetonitrila (LiChrosolv, Merck) e se repetiu as etapas anteriores de filtração e secagem.

Aos vials com os extratos secos foram adicionados 100 µL de acetonitrila (LiChrosolv, Merck). Estes foram agitados em vórtice (Gehaka, modelo AV-2), em seguida, transferiu-se este extrato para um *insert* e, então, 2 µL foram injetados no CG-EM.

3.4.2.2 Condições instrumentais

As análises de HPAs e seus derivados foram realizadas por CG-EM em um equipamento GCMS-QP-2010 (Shimadzu) com coluna DB-5MS composta por fenil arileno de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m (Agilent). Empregou-se o autoamostrador AOC-20i (Shimadzu) para a realização das injeções. As condições cromatográficas para as análises e as razões m/z dos íons monitorados (modo SIM) estão descritas nas TABELA 3.1 e TABELA 3.2, respectivamente.⁶⁷

TABELA 3.1 – Condições cromatográficas para as análises de HPAs e derivados por CG-EM

Parâmetros	Condições
Gás de arraste	Hélio.
Vazão do gás	1,0 mL min ⁻¹ .
Modo de injeção	<i>Splitless</i> .
Temperatura do injetor	300 °C.
Temperatura da fonte de íons	250 °C.
Temperatura da interface	320 °C.
Rampa de temperatura da coluna	<ul style="list-style-type: none"> • Injeção a 70 °C, mantido por 2 min; • Aumento de 30 °C min⁻¹ até 200 °C, mantido por 5 min; • Aumento de 5 °C min⁻¹ até 320 °C, mantido por 3 min.
Modo do EM	Impacto de elétrons.
Energia de ionização	70 eV.
Voltagem do detector	0,2 kV.

Fonte: SCARAMBONI et al. (2021)⁶⁷.

TABELA 3.2 – Razões m/z dos íons monitorados e tempos de retenção para cada analito e os padrões internos utilizados nas análises de HPAs e derivados por CG-EM

Analito	Íon de Quantificação (m/z)	Íon de Confirmação (m/z)	Tempo de Retenção (min)
1,4-benzoquinona	108	110	3,85
acetofenona	105	77	4,97
naftaleno-d ₈	136	134	5,55
naftaleno	128	127	5,72
acenaftileno	152	151	6,87
1,4-naftoquinona	158	130	7,04
acenafteno-d ₁₀	164	162	7,40

(continua)

TABELA 3.2 – Razões m/z dos íons monitorados e tempos de retenção para cada analito e os padrões internos utilizados nas análises de HPAs e derivados por CG-EM

(continuação)

Analito	Íon de Quantificação (m/z)	Íon de Confirmação (m/z)	Tempo de Retenção (min)
acenafteno	154	153	7,39
1-naftaldeído	156	127	7,62
fluoreno-d ₁₀	176	-	7,96
fluoreno	166	165	8,15
fenantreno-d ₁₀	188	189	10,15
fenantreno	178	176	10,22
antraceno	178	176	10,37
9,10-fenantrenoquinona	152	180	10,84
9,10-antraquinona-d ₈	216	-	13,10
9,10-antraquinona	180	208	13,19
5-nitroacenafteno	199	152	13,77
fluoranteno	202	101	14,85
2-nitrofluoreno	165	211	15,58
pireno	202	101	15,83
9-nitroantraceno-d ₉	232	184	15,94
9-nitroantraceno	223	176	16,03
9-nitrofenantreno	223	176	17,40
reteno	219	234	17,43
benzo[a]fluorenona	202	230	19,91
benzo[a]antraceno	228	114	21,61
criseno-d ₁₂	240	236	21,64
criseno	228	114	21,77
1-nitropireno	201	247	23,99
benzo[b]fluoranteno	252	250	26,45
benzo[k]fluoranteno	252	250	26,57
benzo[e]pireno	252	250	27,54
benzo[a]pireno-d ₁₂	264	260	27,64
6H-benzo[cd]piren-6-ona	254	226	27,71
benzo[a]pireno	252	250	27,74
perileno-d ₁₂	264	260	27,99
6-nitrocriseno	215	273	28,17
indeno-[1,2,3-cd]-pireno	276	138	31,93
dibenzo[a,h]antraceno	278	139	32,08
benzo[g,h,i]perileno	276	138	32,76
6-nitrobenzo[a]pireno	239	297; 251	34,99

Fonte: Adaptado do Material Suplementar de SCARAMBONI et al. (2021)⁶⁷.

3.4.2.3 Curvas Analíticas

As curvas analíticas foram construídas em colaboração com a doutoranda Caroline Scaramboni e a aluna de iniciação científica Natasha L. C. da Rosa. As curvas extraídas foram obtidas, em triplicata, adicionando-se aos FFV brancos diferentes volumes de uma solução padrão contendo todos os HPAs e derivados de interesse, junto com a solução $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ de padrões internos.⁶⁷ Esses filtros foram submetidos aos mesmos procedimentos de preparo das amostras e de análise por CG-EM descritos anteriormente. Por fim, as curvas foram construídas plotando-se a razão entre as áreas dos analitos e dos respectivos padrões internos contra as concentrações.

3.4.3 Sacarídeos

3.4.3.1 Preparo de amostras

O método para a análise de açúcares foi otimizado e validado pelo doutorando Jonatas S. Carvalho baseado nos procedimentos descritos por MEDEIROS e SIMONEIT (2007)⁶⁸, VASCONCELLOS et al. (2010)¹¹ e URBAN et al. (2012)⁴⁴. Inicialmente, os filtros amostrados, uma área de $17,35 \text{ cm}^2$, foram dopados com uma solução $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de padrões internos de açúcares (frutose- ^{13}C e manitol- ^{13}C – Santa Cruz; levoglucosano- ^{13}C – Cambridge Isotope Laboratories).

Os filtros dopados foram cortados com uma tesoura para aumentar a superfície de contato e, então, foram extraídos com 5 mL da mistura de solventes diclorometano:metanol (1:3) (LiChrosolv, Merck) por 3 vezes em banho de ultrassom (Unique) por 34 min. Após cada extração, os extratos eram transferidos para um balão de fundo redondo e, ao final das 3 extrações, o solvente foi evaporado até aproximadamente $500 \mu\text{L}$, sob pressão reduzida, em um evaporador rotativo (Fisatom, modelo 802).

Os extratos foram filtrados com filtros de seringas de PTFE hidrofílicos, com poros de tamanhos de $0,22 \mu\text{m}$ (Analítica), para vials de 2 mL e secos completamente sob fluxo de N_2 . O balão que continha o extrato foi lavado

por 3 vezes com 500 μL da mistura de solventes diclorometano:metanol (1:3) (LiChrosolv, Merck) e se repetiu as etapas anteriores de filtração e secagem.

Aos vials com os extratos secos foram adicionados 40 μL de N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) com 1% de trimetilclorosilano (TMCS, Sigma-Aldrich) e 10 μL de piridina (Merck). Os vials foram agitados em vórtice (Gehaka, modelo AV-2) por 30 s e, a reação de derivatização foi processada a 70 $^{\circ}\text{C}$ (banho Shel-Lab, modelo 1225 PC) por 3 h. Em seguida, deixou-se resfriar até a temperatura ambiente (25 $^{\circ}\text{C}$), adicionou-se 950 μL de hexano, agitou-se e, então, 1 μL dos extratos foram injetados no CG-EM.

3.4.3.2 Condições instrumentais

As análises de açúcares foram realizadas por CG-EM em um equipamento GCMS-QP-2010 (Shimadzu) com coluna Rtx-5MS composta por (5% difenil)-95% dimetilpolisiloxano de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm (Restek). Empregou-se o autoamostrador AOC-20i (Shimadzu) para a realização das injeções. As condições cromatográficas para as análises foram adaptadas de URBAN et al. (2012)⁴⁴ e estas assim como as razões m/z dos íons monitorados (modo SIM) estão exibidas nas TABELA 3.3 e TABELA 3.4, respectivamente.

TABELA 3.3 – Condições cromatográficas para as análises de açúcares por CG-EM

Parâmetros	Condições
Gás de arraste	Hélio.
Vazão do gás	1,18 mL min ⁻¹ .
Modo de injeção	<i>Splitless</i> .
Temperatura do injetor	280 $^{\circ}\text{C}$.
Temperatura da fonte de íons	250 $^{\circ}\text{C}$.
Temperatura da interface	290 $^{\circ}\text{C}$.
Rampa de temperatura da coluna	<ul style="list-style-type: none"> • Injeção a 65 $^{\circ}\text{C}$, mantido por 2 min; • Aumento de 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 150 $^{\circ}\text{C}$; • Aumento de 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 290 $^{\circ}\text{C}$, mantido por 1 min.
Modo do EM	Impacto de elétrons.
Energia de ionização	70 eV.
Voltagem do detector	0,2 kV.

Fonte: Adaptado de URBAN et al. (2012)⁴⁴.

TABELA 3.4 – Razões m/z dos íons monitorados e tempos de retenção para cada analito e os padrões internos utilizados nas análises de açúcares por CG-EM

Analito	Íon de Quantificação (m/z)	Íon de Confirmação (m/z)	Tempo de Retenção (min)
eritritol	147	217; 205	19,56
D-(-)-arabinose (1*)	217	204; 191	22,40
D-(-)-arabinose (2*)	217	204; 191	23,25
D-(-)-ribose (1*)	217	191; 204	23,31
galactosano	217	204; 147	23,48
D-(-)-ribose (2*)	217	204; 191	23,64
manosano	204	217; 147	24,08
levoglucosano- ¹³ C	220	206	24,73
levoglucosano	204	217; 147	24,74
D-(+)-xilose (1*)	204	217; 191	24,92
xilitol	217	147; 205	25,09
D-(+)-arabitol	217	147; 205	25,44
ribitol	217	147; 205	25,56
D-(+)-xilose (2*)	204	217; 191	26,53
D-(-)-frutose- ¹³ C (1*)	220	442; 262	27,91
D-(-)-frutose (1*)	217	437; 257	27,91
D-(+)-manose (1*)	204	191; 205	27,99
D-(-)-frutose (2*)	217	437; 257	28,16
D-(-)-frutose- ¹³ C (2*)	220	442; 262	28,15
D-(+)-galactose (1*)	204	191; 217	29,55
D-(+)-glicose (1*)	204	191; 147	30,46
D-(+)-manose (2*)	147	319; 217	30,80
D-(+)-galactose (2*)	204	191; 217	30,85
manitol- ¹³ C	323	310; 220	31,62
manitol	319	205; 217; 307	31,62
D-sorbitol	319	205; 147	31,85
dulcitol	217	147; 319	31,99
D-(+)-glicose (2*)	204	191; 147	33,37
sacarose	361	217; 271	51,23
lactose (1*)	204	147; 191; 205	51,29
maltose (1*)	204	191; 361	52,22
maltose (2*)	204	191; 361	53,26
lactose (2*)	204	191; 217	54,28
maltitol	361	204; 217; 362; 147; 345	55,88

* Estes analitos apresentam mais de um pico cromatográfico e, portanto, estão apresentados mais de uma vez, sendo a numeração organizada pelo tempo de retenção.

Fonte: Elaborado pela autora.

3.4.3.3 Curvas analíticas

As curvas analíticas foram construídas pelo doutorando Jonatas S. Carvalho (dados não publicados). As curvas extraídas foram obtidas, em triplicata, adicionando-se aos FFV limpos diferentes volumes de uma solução padrão contendo todos os açúcares, junto com a solução $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de padrões internos isotopicamente marcados (^{13}C). Esses filtros foram submetidos aos mesmos procedimentos de preparo das amostras e de análise por CG-EM, descritos anteriormente. Por fim, as curvas foram obtidas plotando-se as razões entre as áreas dos analitos e dos seus respectivos padrões internos contra as concentrações. As equações lineares das curvas analíticas estão exibidas na TABELA 3.5 junto com o coeficiente de correlação (r) e a faixa linear. Complementarmente são exibidas as correspondências entre os padrões internos e os analitos. Os menores valores das faixas lineares foram considerados como os limites de quantificação, sendo que para estas concentrações as relações sinal/ruído (S/N) foram maiores que 10, proporção que é aceita para esse limite.⁶⁹

TABELA 3.5 – Equações lineares das curvas analíticas, coeficientes de correlação (r), faixas lineares e padrões internos correspondentes aos analitos para as análises de açúcares por CG-EM

Padrão Interno	Analito	Equação Linear	r	Faixa Linear (ng mL⁻¹)
levoglucosano- ¹³ C	galactosano	$y = 2,522x + 0,133$	0,999	50-5000
	manosano	$y = 0,926x + 0,020$	0,998	50-5000
	levoglucosano	$y = 1,062x + 0,041$	0,997	50-5000
D-(-)-frutose- ¹³ C	D-(-)-arabinose	$y = 1,078x + 0,059$	0,997	50-2000
	D-(-)-ribose	$y = 1,390x + 0,103$	0,994	50-2000
	D-(+)-xilose	$y = 1,651x + 0,110$	0,996	50-2000
	D-(-)-frutose	$y = 0,985x + 0,095$	0,998	50-5000
	D-(+)-manose	$y = 1,954x + 0,154$	0,993	50-2000
	D-(+)-galactose	$y = 2,470x + 0,076$	0,998	50-2000
	D-(+)-glicose	$y = 3,214x - 0,146$	0,999	50-5000
	sacarose	$y = 2,426x - 0,552$	0,990	50-7000
	lactose	$y = 1,765x - 0,018$	0,998	50-2000
	maltose	$y = 1,115x - 0,036$	0,999	50-2000
manitol- ¹³ C	eritritol	$y = 0,840x - 0,049$	0,996	50-7000
	xilitol	$y = 1,184x - 0,011$	0,999	50-5000
	D-(+)-arabitol	$y = 1,074x - 0,016$	0,999	50-5000
	ribitol	$y = 0,954x - 0,012$	0,999	50-5000
	manitol	$y = 1,063x - 0,015$	0,999	50-7000
	D-sorbitol	$y = 0,961x + 0,006$	0,998	50-5000
	dulcitol	$y = 1,079x - 0,018$	0,998	50-5000
	maltitol	$y = 0,457x + 0,004$	0,998	50-5000

Fonte: Elaborado pela autora.

3.4.4 Íons

3.4.4.1 Preparo de amostras

Para as análises de íons, adaptou-se o procedimento descrito por URBAN et al. (2012)⁴⁴. Este método foi otimizado e validado em colaboração com o aluno de iniciação científica João Vítor F. da R. F. Cintra. Inicialmente, os filtros amostrados (área de 17,35 cm²) foram cortados para aumentar a superfície de contato, e extraídos com 5 mL de água ultrapura por 2 vezes em banho de ultrassom (Unique) por 15 min. Após cada extração, os extratos foram filtrados

com filtros de seringas de PTFE hidrofílicos, com poros de tamanhos de 0,22 μm (Analítica), para tubos falcon de 15 mL. Dividiram-se os extratos em duas porções e 100 μL foram analisados por cromatografia iônica (CI).

3.4.4.2 Condições instrumentais

As análises por CI foram realizadas em um equipamento 881 Compact IC pro (Metrohm) com emprego do autoamostrador 919 IC Autosampler plus (Metrohm) para a realização das injeções. As condições cromatográficas para as análises e os tempos de retenção para cada analito estão exibidos nas TABELA 3.6 e TABELA 3.7, respectivamente.

TABELA 3.6 – Condições cromatográficas para as análises de íons por CI

Parâmetros	Cátions	Ânions
Coluna analítica	Metrosep C 4 (4,0 x 150 mm, Metrohm)	Metrosep A Supp 7 (4,0 x 250 mm, Metrohm)
Composição	sílica gel com grupos carboxila	álcool polivinílico com grupos de amônio quaternário
Eluente	1,7 mmol L ⁻¹ ácido nítrico / 0,7 mmol L ⁻¹ ácido dipicolínico	4,0 mmol L ⁻¹ carbonato de sódio
Fluxo	0,9 mL min ⁻¹	0,8 mL min ⁻¹
Temperatura	30 °C	45 °C
Detector	condutométrico	condutométrico
Supressor químico	-	500 mmol L ⁻¹ ácido sulfúrico
Tempo de registro	25 min	35 min
Pressão	8,14 MPa	10,00 MPa

Fonte: Elaborado pela autora.

TABELA 3.7 – Tempos de retenção para as análises de cátions e ânions por CI

Cátions	Tempo de Retenção (min)	Ânions	Tempo de Retenção (min)
lítio (Li ⁺)	4,14	fluoreto (F ⁻)	5,90
sódio (Na ⁺)	4,86	glicolato (C ₂ H ₃ O ₃ ⁻)	5,32
amônio (NH ₄ ⁺)	5,31	acetato (CH ₃ COO ⁻)	6,59
potássio (K ⁺)	6,55	formiato (HCOO ⁻)	7,12
cálcio (Ca ²⁺)	13,86	cloreto (Cl ⁻)	8,83
magnésio (Mg ²⁺)	16,94	brometo (Br ⁻)	13,11
		nitrito (NO ₂ ⁻)	14,99
		fosfato (PO ₄ ³⁻)	21,15
		sulfato (SO ₄ ²⁻)	23,04
		oxalato (C ₂ O ₄ ²⁻)	27,82

Fonte: Elaborado pela autora.

3.4.4.3 Curvas Analíticas

As curvas analíticas foram construídas com 6 e 7 diferentes concentrações para cátions e ânions, respectivamente, obtidas por diluição dos padrões comerciais (Ca^{2+} , Li^+ , Mg^{2+} , K^+ e Na^+ – MULTICA17V, SpecSol; Br^- , Cl^- , F^- , PO_4^{3-} , NO_3^- e SO_4^{2-} – MULTIC1000V, SpecSol; NH_4^+ , $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_3^-$, CH_3COO^- , HCOO^- e $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ – Sigma-Aldrich). Por fim, as curvas foram obtidas plotando-se as áreas dos picos dos analitos ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ min}$) contra a concentração. As equações lineares das curvas analíticas estão exibidas na TABELA 3.8 junto com seus coeficientes de correlação (r) e as faixas lineares. Os menores valores das faixas lineares foram considerados como os limites de quantificação, sendo que para estas concentrações as relações sinal/ruído (S/N) foram maiores que 10, proporção que é aceita para esse limite.⁶⁹

TABELA 3.8 – Equações lineares das curvas analíticas, coeficientes de correlação (r) e faixas lineares para as análises de cátions e ânions por CI

Íons	Equação Linear	r	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)
lítio (Li^+)	$y = 6,097x - 0,673$	0,999	50-7500
sódio (Na^+)	$y = 1,712x + 0,045$	0,998	100-7500
amônio (NH_4^+)	$y = 1,958x + 0,218$	0,999	50-7500
potássio (K^+)	$y = 0,922x - 0,114$	0,999	50-7500
cálcio (Ca^{2+})	$y = 1,621x - 0,121$	0,999	50-7500
magnésio (Mg^{2+})	$y = 3,276x - 0,475$	0,999	50-7500
fluoreto (F^-)	$y = 1,455x - 0,042$	0,998	100-2500
glicolato ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_3^-$)	$y = 0,334x - 0,010$	0,999	100-2500
acetato (CH_3COO^-)	$y = 0,289x + 0,087$	0,993	100-1000
formiato (HCOO^-)	$y = 0,602x - 0,005$	0,998	100-2500
cloreto (Cl^-)	$y = 1,048x + 0,017$	0,999	100-7500
brometo (Br^-)	$y = 0,484x - 0,027$	0,999	100-2500
nitrato (NO_3^-)	$y = 0,595x - 0,014$	0,999	100-7500
fosfato (PO_4^{3-})	$y = 0,232x - 0,017$	0,999	100-7500
sulfato (SO_4^{2-})	$y = 0,603x - 0,100$	0,999	150-7500
oxalato ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$)	$y = 0,288x - 0,054$	0,999	150-7500

Fonte: Elaborado pela autora.

3.5 *Source Apportionment*

Source Apportionment é um modelo multivariado de estudo para análise de poluição do ar.⁷⁰ Neste, os dados são modelados com o objetivo de identificar e quantificar as diversas fontes emissoras de MP existentes em determinada região. Isto é realizado a partir das concentrações dos contaminantes existentes no MP retido no receptor, por exemplo o filtro.

Neste trabalho, foi empregado o modelo de Fatoração de Matriz Positiva (PMF) que consiste na fatoração da matriz de dados amostrais positivos no produto de duas matrizes que, no caso, podem ser interpretadas como uma matriz de caracterização dos perfis das fontes de emissão e outra de caracterização das contribuições de cada fonte de MP.⁷⁰

Para a análise de *source apportionment* por PMF foi utilizado o *software* EPA PMF 5.0 da USEPA, disponível no site da USEPA. O tratamento dos dados foi realizado conforme as instruções contidas no guia de usuário do programa.⁷¹ Valores negativos ou zero não são permitidos como arquivos de entrada. Portanto, nos casos em que a concentração do analito foi menor que o limite de detecção do método (LDM) a concentração foi considerada como sendo metade do LDM e a incerteza associada a essa medida foi considerada como sendo igual a 5/6 do LDM.^{70,71} Para os demais casos a incerteza foi calculada conforme a EQUAÇÃO 3.1:⁷²

$$Inc = (0,05 \times C) + LDM \quad \text{EQUAÇÃO 3.1}$$

Inc – incerteza; **C** – concentração do analito.

Na modelagem, os analitos foram classificados como: “*bad*” e excluídos por apresentarem $S/N < 1$; “*weak*” analitos que não se ajustaram bem ao modelo ou apresentaram $S/N \leq 2$; e “*strong*” os demais analitos que possuíam $S/N > 2$. Do total de 48 analitos, 15 foram classificados como “*bad*”, 7 como “*weak*” e 26 como “*strong*”.

Previamente ao início da modelagem, realizou-se o teste de Dixon

(r_{22} , $n \geq 14$) para análise e exclusão de amostras *outliers*. Os testes de Dixon são projetados para superar o efeito de mascaramento que vários potenciais *outliers* podem causar, indicado nos casos em que há um ou mais *outliers*.⁷³

3.6 Análises Biológicas

3.6.1 Seleção de amostras

Para as análises biológicas foram selecionadas 12 amostras das 47 extraídas, e também preparadas 12 amostras compostas a partir das 47 extraídas. As 12 amostras individuais, uma de cada mês, foram selecionadas por possuir concentração mássica de MP_{10} mais similar a concentração média mensal. Já as 12 amostras compostas foram preparadas combinando-se os extratos das amostras individuais semanais, resultando em uma amostra composta mensal.

Os extratos de MP_{10} foram obtidos utilizando o procedimento de extração para análises de HPAs e seus derivados (seção 3.4.2.1), sem a adição da solução de padrões internos, e após completamente secos, os extratos foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO, Êxodo Científica).

3.6.2 Cultivo Celular

As linhagens de células do pulmão humano A549 (epitelial alveolar tumoral) e MRC5 (fibroblasto não tumoral fetal) foram cultivadas dentro de garrafas próprias para o cultivo celular, sem pré-tratamento, em 5 mL de meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* com estreptomicina a 0,1% (DMEM, Vitrocell), suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (Vitrocell). As garrafas foram incubadas a 37 °C com atmosfera de 5% de CO_2 para adesão, crescimento e divisão celular. As passagens celulares foram realizadas após a confluência celular de 80% ser atingida, aproximadamente a cada 48 h. A remoção das células foi realizada com adição de solução de tripsina-EDTA, após a remoção do meio de cultura. Para isso, cerca de 5 min, após a adição de tripsina-EDTA, as células foram coletadas em meio de cultura e essa

suspensão celular foi quantificada em um contador de células automático (Invitrogen, Countess II FL).

A suspensão celular foi então ajustada para uma densidade 2.10^4 células mL^{-1} , as quais foram semeadas em microplacas de 96 poços. As células foram cultivadas por 24 h, nas mesmas condições supracitadas, para permitir adesão e recuperação celular. Após esse período, as células foram expostas aos extratos de MP_{10} , individuais ou compostos, e processadas de acordo com o ensaio a ser conduzido.

3.6.3 Viabilidade Celular pelo ensaio MTT

O ensaio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio) é um método colorimétrico que se baseia na capacidade de células viáveis e metabolicamente ativas reduzirem enzimaticamente o MTT (amarelo) a sais de formazan de cor púrpura que podem ser quantificados por espectrofotometria após diluição com DMSO.⁷⁴ Sendo as desidrogenases mitocondriais responsáveis pela reação de redução, para que esta reação ocorra há a necessidade de que a célula esteja viável e suas mitocôndrias funcionais.

Nos ensaios de viabilidade celular, o meio de cultura, em cada poço, foi substituído por um novo contendo os extratos de MP_{10} , individuais ou compostos (seção 3.4.2.1), de cada mês do ano de 2016 em diferentes concentrações (TABELA 3.9). Posteriormente, as placas foram incubadas novamente a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com atmosfera de 5% de CO_2 por mais 24 e 72 h. Grupos controles foram mantidos em paralelo, sendo eles células incubadas apenas com meio de cultura suplementado, células incubadas com extratos dos filtros brancos, e células incubadas com DMSO.

TABELA 3.9 – Concentrações médias de MP_{10} testadas

Linhagem	Concentração ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$)				
	5	10	20	40	16,52
A549	5	10	20	40	16,52
MRC5	-	-	-	-	16,52

Fonte: Elaborado pela autora do trabalho.

Após o período de exposição aos extratos, o meio de cultura foi retirado e meio de cultura (100 μL) contendo MTT (0,5 mg mL^{-1}) foi adicionado a cada poço e as microplacas permaneceram na incubadora por mais 2 h. Ao final desse período de incubação, todo o meio foi removido e os cristais insolúveis de formazan foram dissolvidos em 200 μL de DMSO. Em seguida, as medidas de absorbância foram realizadas em 570 nm no espectrofotômetro (Molecular Device, SpectraMax M2e). O ensaio MTT foi realizado em triplicata e os dados obtidos foram tratados utilizando os *softwares* Excel 2019 e GraphPadPrism 8.0.2 (263).

3.6.4 Espécies Reativas de Oxigênio

Para detectar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) foi utilizado o marcador fluorescente: diacetato de 2',7'-diclorofluoresceína (H_2DCFDA), que se difunde passivamente nas células, é desacetilado (diclorodihidrofluoresceína, DCFH_2) e subsequentemente oxidado por EROs, originando 2'7'-diclorofluoresceína (DCF).⁷⁵

O mesmo procedimento utilizado no ensaio de viabilidade celular até a exposição aos extratos de MP_{10} foi realizado, sendo a concentração de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a estudada. Após o término do período de exposição aos extratos por 24 e 72 h as células foram incubadas em 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de H_2DCFDA durante 15 min, lavadas três vezes com tampão fosfato-salino (PBS) e a fluorescência foi detectada no espectrofluorímetro (comprimento de onda de excitação = 488 nm e comprimento de onda de emissão = 530 nm - Molecular Device, SpectraMax M2e).

3.6.5 Proliferação Celular

O cristal violeta, um corante trifenilmetano, é utilizado em uma grande variedade de ensaios, incluindo a determinação de citotoxicidade produzida por algum patógeno ou poluente, da viabilidade celular e da proliferação celular. Este ensaio baseia-se na coloração do DNA pelo cristal

violeta. Assim, a quantidade de corante capturado pelas células em monocamada e a intensidade da cor produzida são diretamente proporcionais ao número de células.⁷⁶

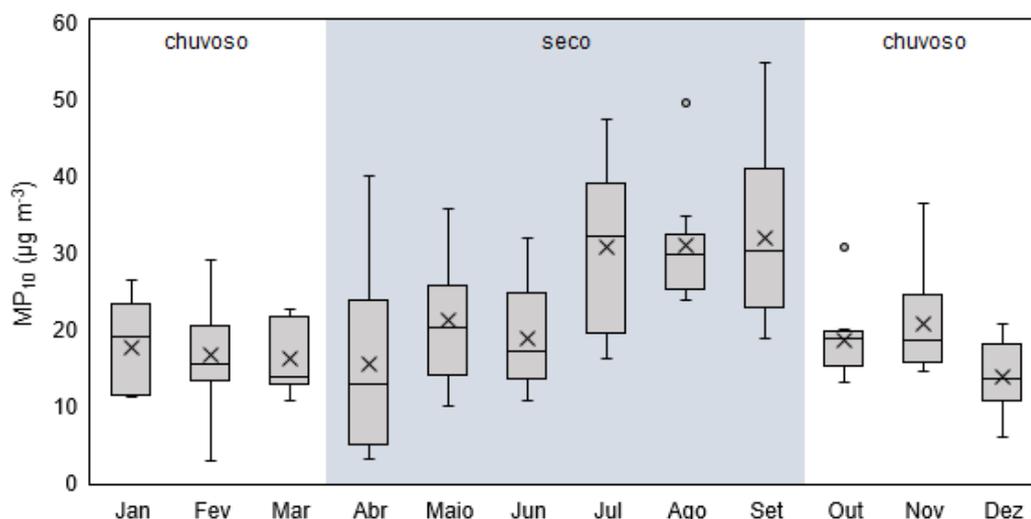
Novamente o mesmo procedimento utilizado no ensaio de viabilidade celular até a exposição aos extratos de MP₁₀ foi realizado, sendo a concentração de 20 µg mL⁻¹ a estudada. Após o período de exposição, neste caso apenas por 72 h, o meio de cultura foi removido e as células lavadas com PBS pH 7,4 a 37 °C. Em seguida as células foram fixadas com 50 µL de paraformaldeído (10% em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹ e pH 7,4 - Sigma-Aldrich) e incubadas por 30 min a 0 °C. Posteriormente, o fixador foi removido e adicionou-se 100 µL da solução aquosa de cristal violeta 0,25 mg mL⁻¹ (Sigma-Aldrich) e as células foram incubadas por 10 min a temperatura ambiente. Então, a solução foi removida e os poços lavados com água destilada para a posterior adição de 100 µL de ácido acético a 33% (Sigma-Aldrich). As placas foram mantidas em um agitador por 30 min, a temperatura ambiente. Por fim, as absorbâncias foram determinadas no espectrofotômetro em 570 nm (Molecular Device, SpectraMax M2e).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Material Particulado

Na cidade de São Carlos, durante o ano de 2016, as concentrações de MP_{10} variaram de $2,70 \mu\text{g m}^{-3}$, em uma amostra coletada em fevereiro, a $54,77 \mu\text{g m}^{-3}$, amostra coletada em setembro, e as medianas mensais variaram de $12,72 \mu\text{g m}^{-3}$ (abril) a $32,05 \mu\text{g m}^{-3}$ (julho) (FIGURA 4.1). O valor máximo encontrado ($54,77 \mu\text{g m}^{-3}$) ultrapassa o limite diário recomendado à época pela OMS, $50 \mu\text{g m}^{-3}$.⁷⁷ Além deste, os valores determinados em amostras coletadas nos meses de agosto ($49,57 \mu\text{g m}^{-3}$) e julho ($47,36 \mu\text{g m}^{-3}$) ultrapassaram o valor recomendado atualmente pela OMS, que é de $45 \mu\text{g m}^{-3}$.⁷⁷ Cabe destacar, que o limite anual recomendado pela OMS também foi ultrapassado em São Carlos em 2016 (valor médio anual de $21,12 \pm 9,90 \mu\text{g m}^{-3}$).⁷⁷ No cenário nacional e estadual, nenhum limite foi ultrapassado.

FIGURA 4.1 – Concentrações de MP_{10} ($\mu\text{g m}^{-3}$) nas amostras coletadas na cidade de São Carlos por 24 h em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de caixa mostra as médias (X), medianas (—), outliers (°), percentis de 25% e 75%, mínimo (\perp) e máximo (\top) das concentrações



Fonte: Elaborado pela autora.

A mediana da concentração de MP_{10} determinada para as amostras coletadas no período seco ($24,83 \mu\text{g m}^{-3}$, $n = 62$) foi significativamente maior

($p = 0,000$, Mann-Whitney) que a determinada nas amostras coletadas no período chuvoso ($16,61 \mu\text{g m}^{-3}$, $n = 58$). Este aumento nas concentrações de MP_{10} durante o período seco pode ser explicado pelas reduções nos níveis de precipitação, umidade relativa e temperatura do ar ($p = 0,000$, Mann-Whitney),⁷⁸ características do outono e inverno na região. ALEXANDRINA et al. (2019)^{79,80} já haviam observado que estas condições favorecem a concentração de poluentes no ar na região.⁴⁸ Além disso, São Carlos está localizada em uma região produtora de cana-de-açúcar e no período seco ocorriam queimadas da palha da cana-de-açúcar no campo para facilitar a colheita manual. Em 2016 cerca de 247.856 hectares de plantações no estado de São Paulo foram queimados.⁸¹

Concentrações de MP_{10} similares foram determinadas por VASCONCELLOS et al. (2010)¹¹ nos períodos seco e chuvoso nas cidades de São Paulo e Piracicaba; por SOUZA et al. (2014)¹³ que avaliaram $\text{MP}_{2,5}$ e MP_{10} em Araraquara; e por CAUMO et al. (2016)¹⁷ que realizou a caracterização físico-química do MP em amostras coletadas no inverno nas cidades de São Paulo e Piracicaba; ambos os locais eram impactados pela queima da cana-de-açúcar. ALVES et al. (2015)¹⁶ em uma avaliação das fontes e impactos da queima de biomassa nos períodos seco e chuvoso na região amazônica do estado de Rondônia também determinou concentrações de MP_{10} similares.

4.2 Análises Químicas

4.2.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados

4.2.1.1 Validação do método

Na validação do método para as análises dos HPAs e derivados, 23 dos 33 analitos alvos, sendo 14 HPAs e 9 derivados, exibiram curvas analíticas adequadas à quantificação com valores de coeficientes de correlação (r) maiores que 0,90 (TABELA 4.1), como é recomendado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro).⁶⁹ Os menores valores das faixas lineares foram considerados como os limites de quantificação, sendo que para

estas concentrações as relações sinal/ruído (S/N) foram maiores que 10, proporção que é aceita para esse limite.⁶⁹

TABELA 4.1 – Equações lineares das curvas analíticas, coeficientes de correlação (r), faixas lineares e padrões internos correspondentes aos analitos para as análises de HPAs e derivados por CG-EM

Padrão Interno	Analito	Equação Linear	r	Faixa Linear (ng mL⁻¹)
9,10-antraquinona-d ₈	9,10-antraquinona	$y = 4,418x - 0,001$	0,9998	10-1000
	benzo[a]fluorenona	$y = 7,722x + 0,125$	0,9984	10-1000
	6H-benzo[cd]piren-6-ona	$y = 34,91x - 0,235$	0,9990	10-1000
fenantreno-d ₁₀	fenantreno	$y = 5,971x + 0,028$	0,9969	10-1000
	antraceno	$y = 5,372x + 0,040$	0,9963	10-1000
9-nitroantraceno-d ₉	5-nitroacenafteno	$y = 4,590x + 0,012$	0,9991	50-1000
	2-nitrofluoreno	$y = 7,511x + 0,028$	0,9970	10-1000
	9-nitroantraceno	$y = 5,575x + 0,000$	0,9971	10-1000
	9-nitrofenantreno	$y = 2,285x + 0,018$	0,9989	10-500
	1-nitropireno	$y = 3,022x + 0,004$	0,9968	10-1000
	6-nitrocriseno	$y = 1,515x + 0,004$	0,9988	10-500
criseno-d ₁₂	fluoranteno	$y = 3,740x - 0,012$	0,9990	10-1000
	pireno	$y = 4,257x - 0,016$	0,9990	10-1000
	reteno	$y = 2,018x + 0,014$	0,9958	10-500
	benzo[a]antraceno	$y = 6,893x - 0,060$	0,9754	10-200
		$y = 5,959x - 0,806$	0,9968	300-1000
	criseno	$y = 7,205x - 0,035$	0,9868	10-200
		$y = 5,447x - 0,651$	0,9979	300-1000
indeno-[1,2,3-cd]-pireno	$y = 2,889x + 0,015$	0,9964	10-500	
benzo[a]pireno-d ₁₂	benzo[e]pireno	$y = 5,505x - 0,030$	0,9997	10-500
	benzo[a]pireno	$y = 4,898x - 0,027$	0,9956	10-200
		$y = 3,285x + 0,250$	0,9845	300-1000
perileno-d ₁₂	benzo[b]fluoranteno	$y = 9,013x - 0,105$	0,9904	10-200
		$y = 6,284x - 0,465$	0,9987	300-1000
	benzo[k]fluoranteno	$y = 11,27x - 0,105$	0,9938	10-200
		$y = 7,283x - 0,545$	0,9995	300-100
	dibenzo[a,h]antraceno	$y = 4,653x + 0,013$	0,9924	10-1000
	benzo[g,h,i]perileno	$y = 8,824x - 0,108$	0,9541	10-200
$y = 8,028x - 1,667$		0,9910	300-1000	

Fonte: Adaptado do Material Suplementar de SCARAMBONI et al. (2021)⁶⁷.

Os 10 analitos não validados foram: 1,4-benzoquinona, acetofenona, naftaleno, 1,4-naftoquinona, acenaftileno, acenafteno, 1-naftaldeído, fluoreno, 9,10-fenantrenoquinona e 6-nitrobenzo[a]pireno. Estes analitos foram detectados, porém exibiram curvas analíticas inadequadas à quantificação na faixa de concentração estudada com valores de coeficientes de correlação (r) menores que 0,90 e/ou apresentaram relações S/N menores que 10.⁶⁹

4.2.1.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos nas amostras de

MP₁₀

No conjunto de amostras analisadas (n = 47) foram quantificados 9 HPAs: benzo[a]pireno (BaP), benzo[e]pireno (BeP), benzo[b]fluoranteno, (BbF), benzo[k]fluoranteno (BkF), benzo[g,h,i]perileno (BghiP), criseno (Chry), fluoranteno (Flt), indeno-[1,2,3-cd]-pireno (IcdP) e pireno (Pyr), cujas concentrações médias nos períodos seco e chuvoso estão exibidas na TABELA 4.2. Todos estes estão incluídos na lista de HPAs considerados poluentes prioritários pela ATSDR²⁵ e 8 dos 9 HPAs, a exceção é o BeP, estão na lista da USEPA²⁰. Os HPAs quantificados nas amostras são classificados pela IARC como mutagênicos: BeP, BghiP, Chry, Flt e Pyr, e mutagênicos e carcinogênicos: BaP, BbF, BkF e IcdP).²⁰

TABELA 4.2 – Concentrações médias e seus respectivos desvios padrões (ng m^{-3}) de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nas amostras coletadas em São Carlos nos períodos seco e chuvoso em 2016

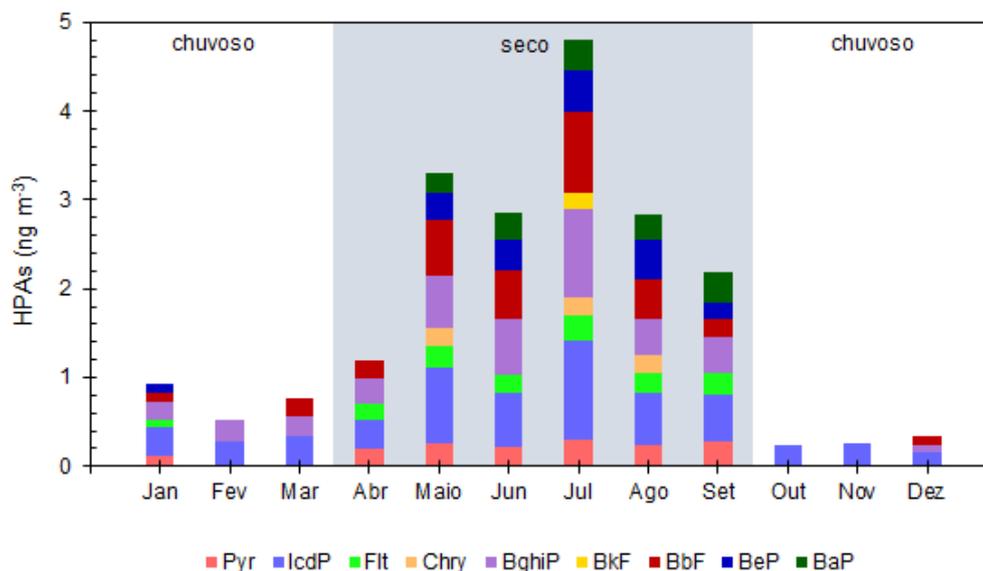
HPAs	Período Seco				Período Chuvoso			
	Média \pm DP	n	Mín.	Máx.	Média \pm DP	n	Mín.	Máx.
BaP	0,30 \pm 0,14	11	0,17	0,65	-	-	-	-
BeP	0,33 \pm 0,13	13	0,09	0,54	0,11	1	-	-
BbF	0,55 \pm 0,42	19	0,12	1,47	0,15 \pm 0,06	4	0,09	0,22
BkF	0,18	1	-	-	-	-	-	-
BghiP	0,58 \pm 0,44	20	0,12	1,69	0,20 \pm 0,06	6	0,09	0,26
Chry	0,20 \pm 0,01	4	0,19	0,21	-	-	-	-
Flt	0,24 \pm 0,07	9	0,18	0,38	0,09	1	-	-
IcdP	0,67 \pm 0,44	24	0,18	1,90	0,28 \pm 0,09	14	0,16	0,44
Pyr	0,26 \pm 0,07	9	0,20	0,43	0,12	1	-	-
Total		2,13 \pm 1,89				0,40 \pm 0,20		

Fonte: Elaborado pela autora.

As médias mensais das somas das concentrações de HPAs variaram de $0,24 \pm 0,06 \text{ ng m}^{-3}$ (outubro) a $4,31 \pm 2,37 \text{ ng m}^{-3}$ (julho) (FIGURA 4.2). As concentrações de HPAs nas amostras coletadas durante o período seco (mediana de $1,32 \text{ ng m}^{-3}$; $n = 24$) foram significativamente maiores ($p = 0,000$, Mann-Whitney) que as determinadas nas amostras coletadas no período chuvoso (mediana de $0,34 \text{ ng m}^{-3}$; $n = 15$ - FIGURA 4.2), assim como a tendência observada para a concentração de MP_{10} .

As concentrações de HPAs foram similares ou menores às determinadas em outros trabalhos realizados no estado de São Paulo como àqueles nas cidades de: Araraquara no período seco ($5,44 \pm 12,76 \text{ ng m}^{-3}$);¹⁴ e Araraquara e Ourinhos ($19 \pm 16 \text{ ng m}^{-3}$).¹⁸ Similaridade também foi observada às concentrações determinadas na região amazônica no período seco ($0,52 \text{ ng m}^{-3}$) e chuvoso ($0,31 \text{ ng m}^{-3}$) e com valores das cidades de Estocolmo ($1,25 \pm 0,02 \text{ ng m}^{-3}$) e Quioto ($1,64 \pm 0,03 \text{ ng m}^{-3}$) no inverno.²⁹

FIGURA 4.2 – Médias mensais das somas das concentrações de HPAs (ng m^{-3}) nas amostras coletadas em São Carlos por 24 h em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de barras mostra as médias das concentrações de cada HPA empilhados e identificados em cores distintas



Fonte: Elaborado pela autora.

Os HPAs mais abundantes em ambos os períodos foram o IcdP, o BghiP e o BbF, com suas maiores concentrações nos meses de julho (seco) e março (chuvoso) (FIGURA 4.2).

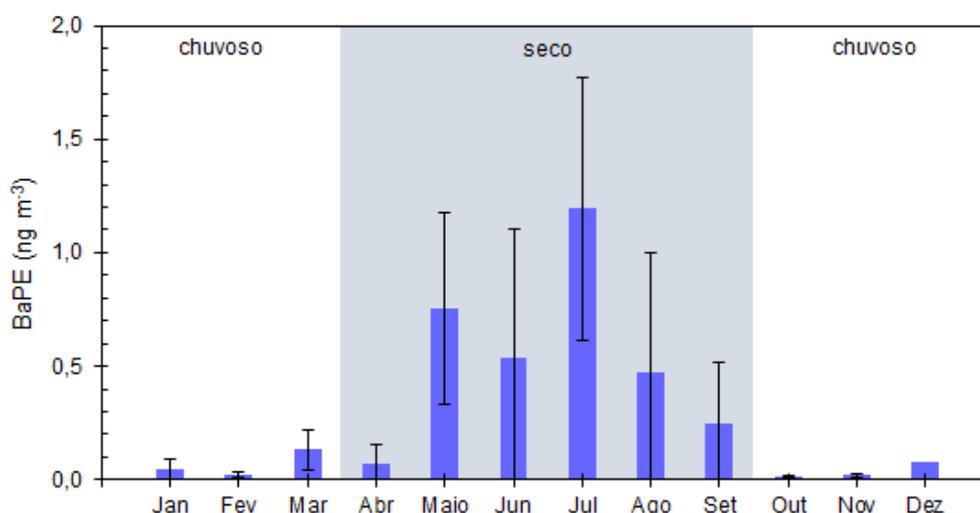
Esses HPAs são provenientes de processos de queima de combustíveis fósseis líquidos, como o diesel (IcdP, BghiP e BbF), e sólidos, como carvão (IcdP e BbF).⁸² No mais, o BbF já foi atribuído à queima da cana-de-açúcar^{14,83} e madeira⁸², o que explica o aumento da concentração durante o período seco, em que ocorrem as queimadas para colheita de cana-de-açúcar.

O BaP e o BkF, isômeros menos estáveis na presença de luz,³⁸ só foram quantificados em amostras do período seco, caracterizado por menor nível de precipitação e por queimadas de cana-de-açúcar, além de menor incidência de radiação solar. Condições estas que favorecem a emissão, concentração e permanência desses isômeros na atmosfera.

O Chry, que também só foi determinado no período seco, é relacionado como um dos HPAs mais abundantes emitidos durante a queima de *Gramineae*, a cana-de-açúcar pertence a esta família de plantas.^{9,14}

Para avaliar o potencial risco à exposição aos HPAs (EQUAÇÃO 1.1) foi calculado o índice BaPE (EQUAÇÃO 1.2). Os índices BaPE médios mensais variaram de $0,017 \pm 0,004 \text{ ng m}^{-3}$ (outubro) a $1,192 \pm 0,576 \text{ ng m}^{-3}$ (julho) (FIGURA 4.3). A esses valores estão associados os riscos de câncer de pulmão de $0,147 \pm 0,36$ e $10,4 \pm 0,50$, respectivamente, casos a cada 100.000 pessoas ao longo da vida. Anualmente o risco de câncer de pulmão foi de $3,09 \pm 4,23$ casos em 100.000 pessoas (BaPE médio = $0,355 \pm 0,487 \text{ ng m}^{-3}$).

FIGURA 4.3 – Médias mensais do BaPE (ng m^{-3}) para as amostras coletadas em São Carlos por 24 h em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de barras mostra as médias do BaPE e o desvio padrão (I)



Fonte: Elaborado pela autora.

A mediana dos índices BaPE calculados para as amostras coletadas no período seco ($0,30 \text{ ng m}^{-3}$; média = $0,54 \pm 0,54 \text{ ng m}^{-3}$; $n = 24$;) foi significativamente maior ($p = 0,000$, Mann-Whitney) que a calculada para as amostras coletadas no período chuvoso ($0,02 \text{ ng m}^{-3}$; média = $0,05 \pm 0,06 \text{ ng m}^{-3}$; $n = 15$;) . Isto resulta em um risco de câncer de pulmão cerca de 11 vezes maior no período seco (4,70) em relação ao chuvoso (0,435), considerando os valores médios de BaPE para cada período.

Cabe destacar que o risco obtido para a amostra julho, na qual foi obtido o maior valor de BaPE (período seco), é cerca de 71 vezes maior que em

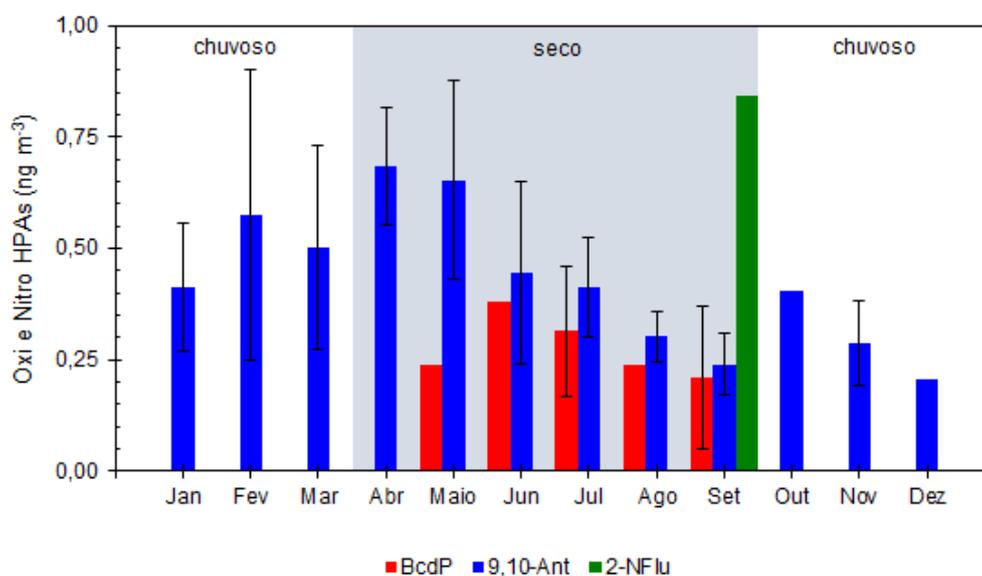
outubro (menor valor de BaPE - período chuvoso). Notoriamente, o mês de julho (FIGURA 4.3) foi o principal responsável pelo potencial de risco, com o BaPE cerca de 2 vezes maior que a média para o período seco e 3 vezes maior que a média anual.

Para melhor avaliar os impactos da exposição humana ao MP_{10} atmosférico foram realizados ensaios biológicos que serão discutidos na seção 4.4.

4.2.1.3 Derivados dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os derivados de HPAs oxigenados (Oxi-HPAs) e nitrados (Nitro-HPAs) quantificados nas amostras foram a 6H-benzo[cd]piren-6-ona (BcdP), a 9,10-antraquinona (9,10-Ant) e o 2-nitrofluoreno (2-NFlu) (FIGURA 4.4), embora outros 12 derivados de HPAs também tenham sido estudados.

FIGURA 4.4 – Médias mensais das concentrações de Oxi- e Nitro-HPAs nas amostras coletadas por 24 h em São Carlos em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de barras mostra as médias das concentrações de cada derivado de HPA em cores distintas e os desvios padrões (I)



Fonte: Elaborado pela autora.

As médias mensais das somas das concentrações de Oxi-HPAs (BcdP e 9,10-Ant) variaram entre $0,20 \text{ ng m}^{-3}$ (dezembro) e $0,71 \pm 0,34 \text{ ng m}^{-3}$

(maio) (FIGURA 4.4); já o Nitro-HPA, 2-NFlu foi quantificado apenas em uma amostra de setembro (maior concentração de MP₁₀).

A BcdP e 2-NFlu não foram quantificados em amostras do período chuvoso, e no período seco suas concentrações foram de $0,28 \pm 0,12 \text{ ng m}^{-3}$ (n = 8) e $0,84 \text{ ng m}^{-3}$ (n = 1), respectivamente. Para a 9,10-Ant não houve diferença estatística significativa entre as concentrações (p = 0,972, Mann-Whitney) nos períodos seco (concentração média de $0,44 \pm 0,21 \text{ ng m}^{-3}$ e mediana de $0,38 \text{ ng m}^{-3}$; n = 21) e chuvoso (concentração média de $0,44 \pm 0,22 \text{ ng m}^{-3}$ e mediana de $0,41 \text{ ng m}^{-3}$; n = 13). Cabe destacar que embora as concentrações de 9,10-Ant não tenham apresentado diferença significativa, o número de amostras nas quais este analito foi quantificado foi proporcionalmente menor no período chuvoso (seco: $21/47 = 0,45$ e chuvoso: $13/47 = 0,28$).

Embora a BcdP não ser classificada pela IARC como perigosa para a saúde humana, há estudos que já atestaram a sua mutagenicidade.⁸⁴⁻⁸⁶ Este derivado é emitido diretamente por motores à combustão,⁸⁴ sendo o Oxi-HPA mais abundante durante a queima de gasolina.^{86,87} A observação de sua presença sazonal entre os períodos seco e chuvoso é atribuída aos processos de transformações atmosféricas que podem ocorrer a partir do seu HPA precursor, 6H-benzo[cd]pireno, que é conhecido por ser ácido, reativo e facilmente oxidado.^{84,88} BAYONA et al. (1994)⁸⁴ determinaram em Barcelona que as maiores concentrações de BcdP estavam presentes nas amostras do inverno, o que é consistente com o observado neste trabalho, entretanto observaram que a maior ação mutagênica foi em amostras do verão. Isso indica que a presença de outros HPAs e seus derivados são responsáveis por esse aumento na mutagenicidade. Destacando-se que BcdP individualmente, pela sua abundância, já demonstrou contribuir com 3 a 5% da mutagenicidade de extratos não fracionados em sítios amostrais estadunidenses (Boston, Rochester e Reservatório Quabbin no estado de Massachusetts).⁸⁶

Os derivados 9,10-Ant e o 2-NFlu são classificados pela IARC como Grupo 2B (possivelmente cancerígeno para humanos).²⁶ Ambos são emitidos por

veículos movidos a diesel e também já foram encontrados em aerossóis provenientes de queima de biomassa.^{14,19,89} A 9,10-Ant também é formada na atmosfera por meio de reações fotoquímicas.¹⁹ Enquanto que o 2-NFlu é degradado pela luz, mas pode se formar durante o processo de amostragem, como um artefato no filtro, ao reagir com NO₂, por exemplo.³⁸

Poucos estudos avaliaram concentrações de Oxi- e Nitro-HPAs (ou não avaliaram os descritos aqui). A concentração de 9,10-Ant foi similar a determinada em Araraquara no período seco ($0,96 \pm 0,74 \text{ ng m}^{-3}$)¹⁴ e para o 2-NFlu é controverso, pois VASCONCELLOS et al. (2008)⁸⁹ determinaram valores bem menores (máximo de $0,047 \text{ ng m}^{-3}$ para a cidade de São Paulo) e SOUZA et al. (2014)¹⁴ determinaram um valor quase 100 vezes maior ($3,2 \text{ ng m}^{-3}$ para a cidade de Araraquara).

4.2.2 Açúcares, Polióis e Anidroaçúcares

No conjunto de amostras analisadas ($n = 47$) foram quantificados 20 dos 21 analitos estudados (TABELA 4.3). A ribose foi o único açúcar não quantificado nas amostras.

TABELA 4.3 – Concentrações médias e seus respectivos desvios padrões (ng m^{-3}) de açúcares, polióis e anidroaçúcares nas amostras coletadas em São Carlos nos períodos seco e chuvoso em 2016

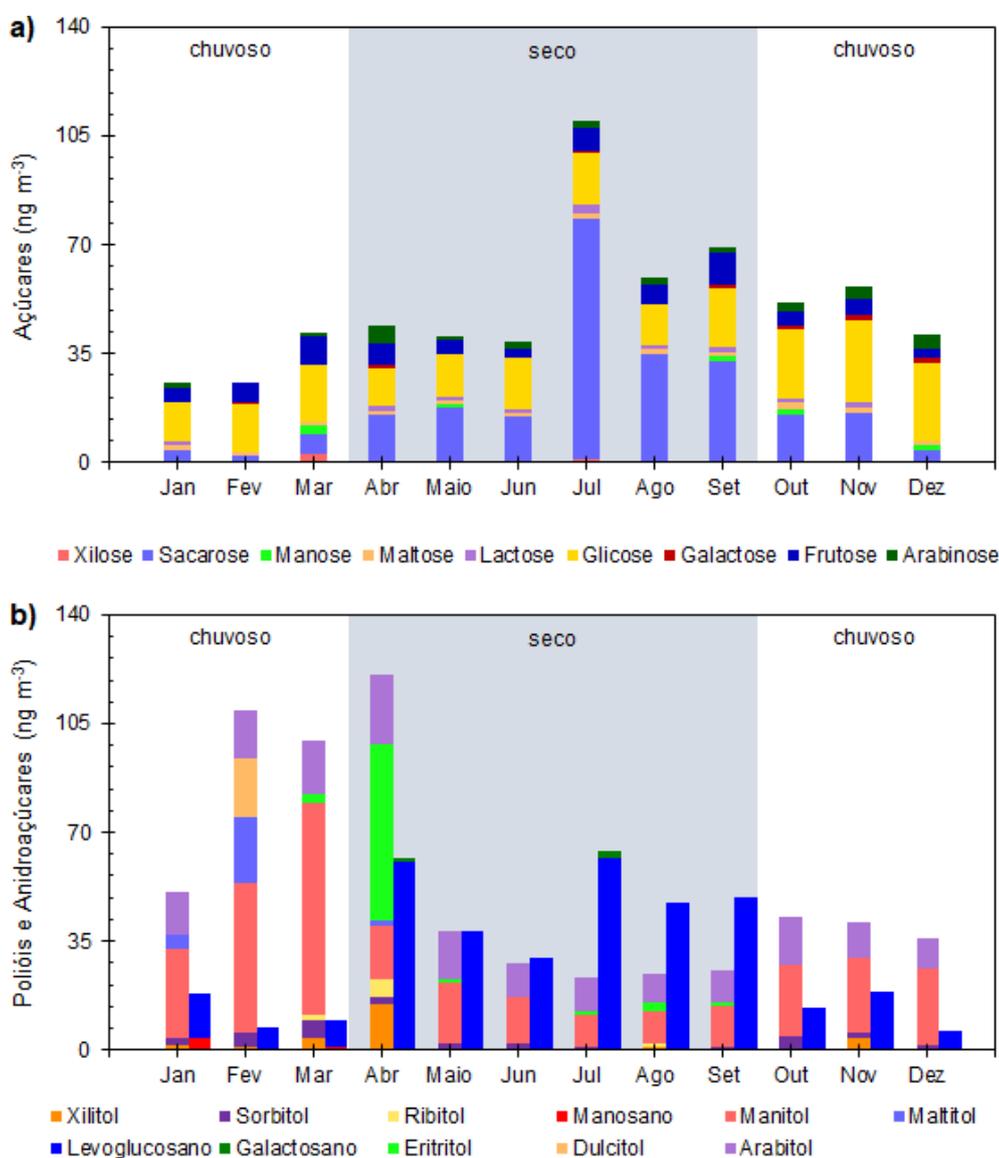
Açúcares	Período Seco				Período Chuvoso			
	Média \pm DP	n	Mín.	Máx.	Média \pm DP	n	Mín.	Máx.
Arabinose	2,56 \pm 2,30	14	0,98	10,05	3,04 \pm 1,73	12	0,51	6,24
Frutose	6,54 \pm 4,74	22	2,53	1,04	5,64 \pm 4,13	23	1,37	16,33
Galactose	1,12 \pm 0,27	4	0,96	1,51	1,38 \pm 0,36	6	0,91	1,94
Glicose	15,21 \pm 6,09	22	8,80	28,47	19,89 \pm 10,48	23	3,07	41,32
Lactose	1,81 \pm 0,80	14	0,98	3,40	1,28 \pm 0,22	3	1,05	1,47
Maltose	1,47 \pm 0,35	17	0,89	2,40	1,61 \pm 0,84	14	0,87	4,04
Manose	1,17 \pm 0,20	3	1,04	1,40	1,80 \pm 0,68	4	1,15	2,74
Sacarose	32,08 \pm 28,41	24	1,28	97,84	7,96 \pm 10,28	20	1,24	43,50
Xilose	1,15	1	-	-	2,93	1	-	-
Polióis								
Arabitol	13,38 \pm 4,39	22	6,12	48,76	14,06 \pm 8,39	20	4,85	38,71
Dulcitol	-	-	-	-	18,91	1	-	-
Eritritol	12,45 \pm 30,15	10	0,88	97,27	1,95 \pm 2,09	3	0,37	4,32
Maltitol	1,90	1	-	-	13,11 \pm 11,39	2	5,06	21,17
Manitol	14,08 \pm 8,23	24	4,35	43,45	36,60 \pm 25,70	23	9,00	113,30
Ribitol	4,39 \pm 4,53	3	1,06	9,56	1,53	1	-	-
Sorbitol	1,64 \pm 0,56	8	1,05	2,45	3,50 \pm 2,98	17	0,98	11,03
Xilitol	8,10 \pm 9,69	2	1,25	14,95	2,37 \pm 2,28	7	0,35	6,92
Anidroaçúcares								
Galactosano	1,52 \pm 0,57	2	1,12	1,92	-	-	-	-
Levoglicosano	47,86 \pm 32,16	24	9,13	131,37	11,60 \pm 9,62	22	3,39	42,99
Manosano	-	-	-	-	2,37 \pm 2,09	2	0,89	3,84
Total	137,35 \pm 74,78				101,71 \pm 39,39			

Fonte: Elaborado pela autora.

As médias mensais das somas das concentrações dos açúcares, polióis e anidroaçúcares variaram de $75,57 \pm 32,69 \text{ ng m}^{-3}$ (janeiro) a $188,73 \pm 67,73 \text{ ng m}^{-3}$ (julho) (FIGURA 4.5). As concentrações dos açúcares e anidroaçúcares (FIGURA 4.5) também foram significativamente maiores ($p < 0,05$, Mann-Whitney) durante o período seco (açúcares: média de $55,98 \pm 37,13 \text{ ng m}^{-3}$ e mediana de $48,59 \text{ ng m}^{-3}$; anidroaçúcares: média de $47,99 \pm 32,29 \text{ ng m}^{-3}$ e mediana de $42,85 \text{ ng m}^{-3}$) em relação ao chuvoso (açúcares: média de $35,99 \pm 21,10 \text{ ng m}^{-3}$ e mediana de $34,79 \text{ ng m}^{-3}$;

anidroaçúcares: média de $11,30 \pm 10,09 \text{ ng m}^{-3}$ e mediana de $8,16 \text{ ng m}^{-3}$), assim como MP_{10} e HPAs. Já os polióis (FIGURA 4.5b) apresentaram maiores concentrações ($p < 0,05$, Mann-Whitney) no período chuvoso (chuvoso: média de $54,43 \pm 35,50 \text{ ng m}^{-3}$ e mediana de $42,86 \text{ ng m}^{-3}$; seco: média de $33,38 \pm 37,33 \text{ ng m}^{-3}$ e mediana de $24,26 \text{ ng m}^{-3}$).

FIGURA 4.5 – Médias mensais das somas das concentrações dos (a) açúcares (ng m^{-3}) e (b) polióis (ng m^{-3}) na 1ª coluna e anidroaçúcares (ng m^{-3}) na 2ª coluna nas amostras coletadas em São Carlos por 24 h em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. Os gráficos de barras mostram as médias das concentrações de cada sacarídeo empilhados e identificados em cores distintas



Fonte: Elaborado pela autora.

Os açúcares mais abundantes em ambos os períodos foram a sacarose, glicose e frutose, com as maiores concentrações nos meses de julho e setembro (seco) e março, novembro e dezembro (chuvoso) (FIGURA 4.5). Esses açúcares estão relacionados a fontes vegetais, emissão de pólen, e processos de ressuspensão do solo.^{42,43} Destaca-se ainda a xilose só foi quantificada em duas amostras, uma em março (seco) e outra em julho (chuvoso).

Entre os polióis, os mais abundantes em ambos os períodos foram o manitol e arabitol e entre os anidroaçúcares foi o levoglucosano. Os polióis dulcitol, maltitol, ribitol e xilitol estavam presentes em poucas amostras e/ou ausentes em algum dos períodos, geralmente distribuídos em partículas grossas, indicam uma fonte local;⁹⁰ já os 2 anidroaçúcares menos abundantes estavam presentes em apenas duas amostras cada e em períodos alternados, galactosano (seco) e manosano (chuvoso).

As concentrações de levoglucosano foram similares às determinadas em outros trabalhos que avaliaram amostras coletadas no estado de São Paulo e no estado de Rondônia na região amazônica (TABELA 4.4).

TABELA 4.4 – Comparação das concentrações de levoglucosano (ng m^{-3}) em regiões paulistas e amazônica

Cidade	Média \pm DP	Período	Referência
São Paulo	201 \pm 146	seco	11
	39 \pm 30	chuvoso	
Araraquara e Ourinhos	113 \pm 77	anual	47
	138 \pm 91	seco	15
Piracicaba	129 \pm 90	seco	11
região amazônica	20 \pm 10	chuvoso	16

Fonte: Elaborado pela autora.

Cabe destacar que mesmo após 3 diluições a concentração de arabinose não pode ser determinada em 6 amostras do período seco, dado que saturava o detector do cromatógrafo. Este foi o sacarídeo mais abundante nestas amostras, e nas demais, este junto com levoglucosano, manitol e sacarose foram os mais abundantes.

4.2.3 Íons

Nas amostras foram quantificados 14 dos 16 íons analisados, cinco cátions: amônio, cálcio, magnésio, potássio e sódio, e 9 ânions: acetato, cloreto, fluoreto, formiato, fosfato, glicolato, nitrato, oxalato e sulfato. Os valores de suas concentrações médias nos períodos seco e chuvoso estão exibidos na TABELA 4.5. Cabe destacar que as concentrações destes analitos representaram cerca de 23% da massa de MP₁₀ e por isso suas concentrações foram apresentadas em $\mu\text{g m}^{-3}$, o que também tem sido observado em outros trabalhos.

TABELA 4.5 – Concentrações médias e seus respectivos desvios padrões ($\mu\text{g m}^{-3}$) de cátions e ânions nas amostras coletadas em São Carlos nos períodos seco e chuvoso em 2016

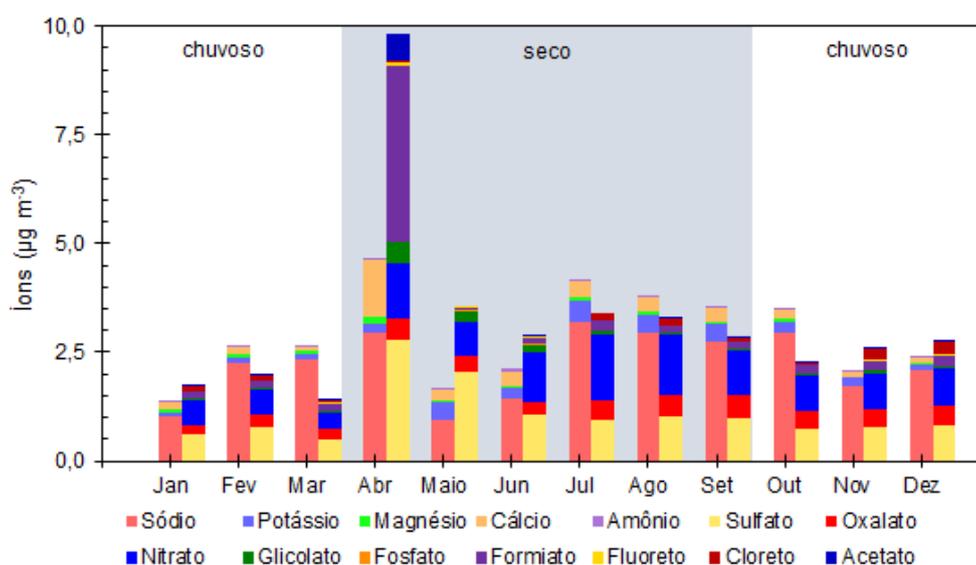
Cátions	Período Seco				Período Chuvoso			
	Média ± DP	n	Mín.	Máx.	Média ± DP	n	Mín.	Máx.
Amônio	0,04 ± 0,03	11	0,0004	0,10	0,04 ± 0,03	10	0,003	0,1
Cálcio	0,49 ± 0,59	22	0,004	2,27	0,15 ± 0,09	19	0,02	0,33
Magnésio	0,08 ± 0,06	19	0,03	0,27	0,05 ± 0,03	19	0,01	0,10
Potássio	0,36 ± 0,24	24	0,10	0,84	0,15 ± 0,08	23	0,02	0,35
Sódio	2,66 ± 2,06	19	0,23	8,84	2,03 ± 1,15	19	0,19	4,19
Ânions								
Acetato	0,21 ± 0,32	6	0,01	0,77	0,03 ± 0,02	15	0,002	0,06
Cloreto	0,11 ± 0,08	8	0,02	0,24	0,15 ± 0,14	18	0,005	0,51
Fluoreto	0,03 ± 0,03	24	0,01	0,11	0,02 ± 0,01	23	0,01	0,04
Formiato	0,80 ± 2,19	24	0,03	8,81	0,18 ± 0,06	23	0,09	0,35
Fosfato	0,01 ± 0,02	11	0,001	0,05	0,0002	1	-	-
Glicolato	0,19 ± 0,20	21	0,03	0,70	0,05 ± 0,01	17	0,02	0,08
Nitrato	1,18 ± 0,68	24	0,26	3,01	0,66 ± 0,31	23	0,20	1,32
Oxalato	0,43 ± 0,18	24	0,15	0,70	0,33 ± 0,14	23	0,14	0,73
Sulfato	1,48 ± 1,04	24	0,53	4,70	0,69 ± 0,33	23	0,22	1,36
Total			7,19 ± 5,70				4,08 ± 1,87	

Fonte: Elaborado pela autora.

As médias mensais das somas das concentrações dos cátions e ânions variaram entre $0,81 \pm 0,74 \mu\text{g m}^{-3}$ (junho) e $4,60 \pm 4,90 \mu\text{g m}^{-3}$ (abril) e entre $1,40 \pm 0,46 \mu\text{g m}^{-3}$ (março) e $9,48 \pm 8,20 \mu\text{g m}^{-3}$ (abril), respectivamente (FIGURA 4.6). Tendência similar a observada para as concentrações de MP₁₀,

HPAs e açúcares, foi obtida para os ânions, com concentrações significativamente maiores durante o período seco ($p = 0,000$, Mann-Whitney) (FIGURA 4.6). Já os cátions não apresentaram diferença estatística significativa nas concentrações entre os períodos ($p = 0,246$, Mann-Whitney).

FIGURA 4.6 – Médias mensais das somas das concentrações de íons ($\mu\text{g m}^{-3}$), cátions na 1ª coluna e ânions na 2ª coluna, nas amostras coletadas por 24 h em São Carlos em 2016, separadas em períodos seco e chuvoso. O gráfico de barras mostra as médias das concentrações de cada íon empilhados e identificados em cores distintas



Fonte: Elaborado pela autora.

Os cátions mais abundantes em ambos os períodos foram o sódio e o cálcio, com as maiores concentrações nos meses de abril (seco) e outubro (chuvoso) (FIGURA 4.6). Estes, junto com o magnésio, são provenientes da composição do solo.⁴⁸ Entre os ânions, os mais abundantes em ambos os períodos foram o sulfato e o nitrato, com as maiores concentrações nos meses de abril e julho (seco) e fevereiro e novembro (chuvoso), esses íons são aerossóis secundários formados a partir de SO_2 e NO_x , emitidos por veículos, indústrias e queima de biomassa.¹¹ Cabe destacar, que no mês de abril, formiato foi quantificado em elevada concentração, esse íon também é atribuído a aerossóis secundários das mesmas fontes que os anteriores.¹¹

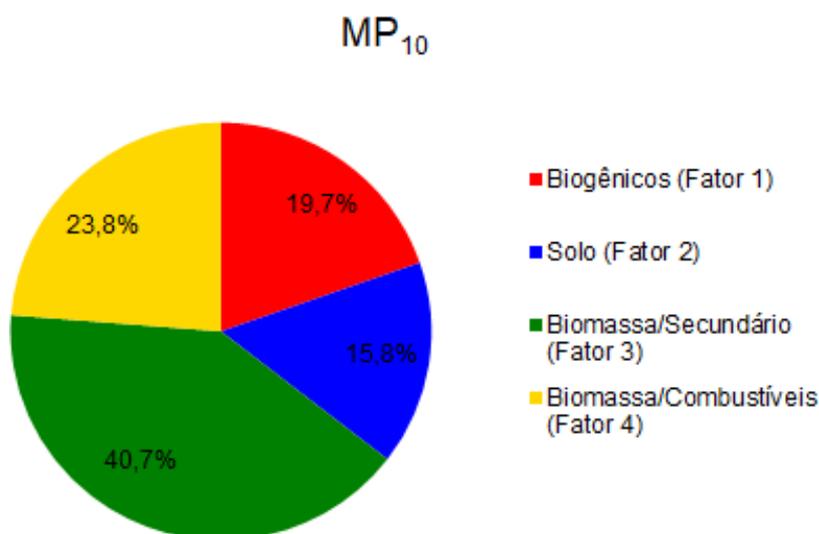
As concentrações dos íons foram similares às determinadas em

outros trabalhos que avaliaram outras regiões no estado de São Paulo como as cidades de: São Paulo no período seco ($13,2 \mu\text{g m}^{-3}$ e $6,7 \mu\text{g m}^{-3}$)^{11,13} e Piracicaba nos períodos seco ($12,0 \mu\text{g m}^{-3}$ e $2,0 \mu\text{g m}^{-3}$)^{11,13} e chuvoso ($5,8 \mu\text{g m}^{-3}$)¹¹.

4.3 *Source Apportionment*

Para descrever este conjunto de dados, quatro fatores foi o mais adequado tendo em vista que foi encontrado um mapeamento de *bootstrap* (BS) não inferior a 80% para todos os fatores.⁷¹ Os fatores obtidos indicam a presença de 4 fontes de emissão sendo elas: biogênicas, processos de ressuspensão do solo, queima de biomassa com o aerossol de origem secundária e queima de biomassa em conjunto com a de combustíveis fósseis veiculares. A contribuição de cada fonte para a massa de MP_{10} é apresentada na FIGURA 4.7.

FIGURA 4.7 – Fontes de emissão do MP_{10} atmosférico coletado em São Carlos em 2016. O gráfico de setores mostra as contribuições das 4 fontes de emissão (%) identificadas

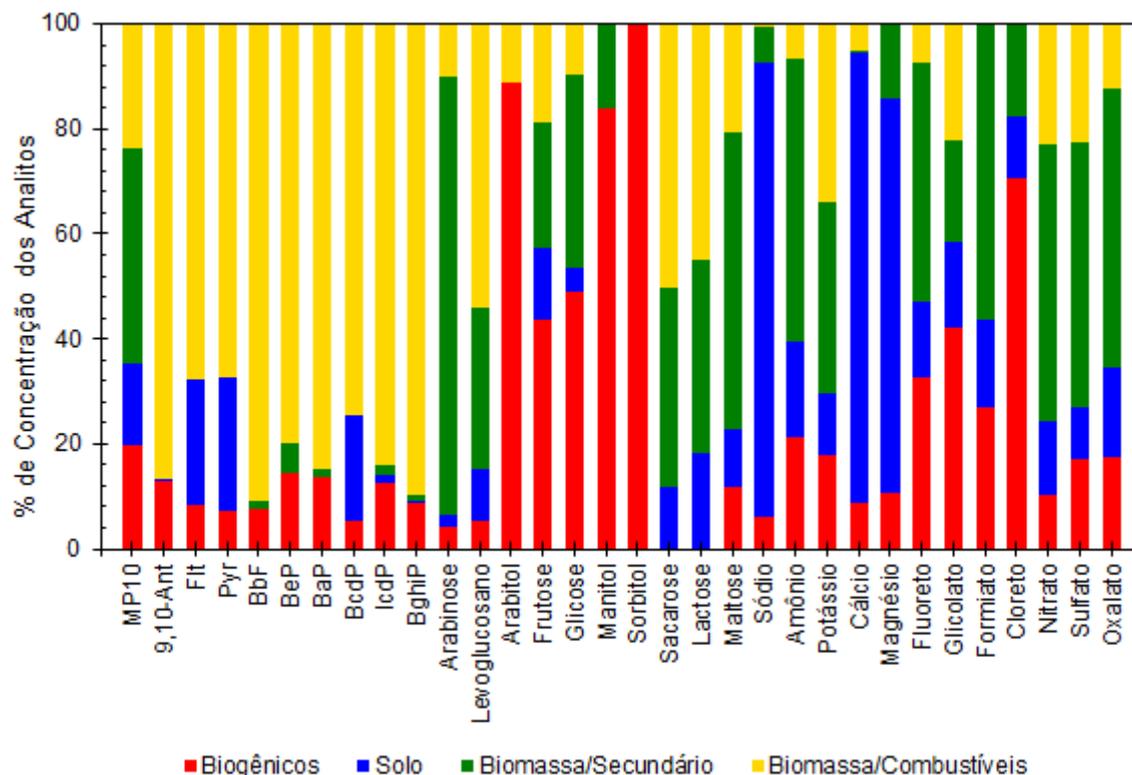


Fonte: Elaborado pela autora.

Como pode ser visto na FIGURA 4.7 a fonte de emissão majoritária para o MP_{10} foi a queima de biomassa em conjunto com o aerossol de origem secundária, seguida pela queima de combustíveis fósseis, pelo aerossol biogênico e processos de ressuspensão do solo. Essas fontes de emissões foram identificadas pela presença de marcadores observados na análise dos “*fingerprints*” dos fatores

(FIGURA 4.8).

FIGURA 4.8 – “Fingerprints” dos fatores encontrados no estudo de *source apportionment*. O gráfico de barras mostra como cada fator (fonte de emissão) está distribuído (%) nos analitos



O fator 1 apresentou elevadas contribuições dos polióis (sorbitol, arabitol e manitol) e dos açúcares (frutose e glicose) que são comumente marcadores associados a aerossóis biogênicos, além de cloreto. Sorbitol é relatado como marcador de queima de folhas, arabitol e manitol são associados às emissões por esporos de fungos e a frutose e glicose são associadas às emissões de pólen.^{42,43} Assim, esse fator é associado às emissões por fungos e plantas.

O fator 2 apresentou uma elevada contribuição dos íons cálcio, sódio e magnésio que são comumente encontrados no solo.⁴⁸

O fator 3 foi identificado como queima de biomassa devido à presença em concentrações relativamente elevadas do íon potássio e de levoglucosano, que são marcadores comumente associados a esse tipo de emissão. Elevadas concentrações dos íons amônio, formiato, oxalato, nitrato e sulfato, que

são originados em reações na atmosfera, também foram associados a este fator, o qual também foi identificado como relacionado aos aerossóis secundários.^{11,45,48} Os açúcares: arabinose, maltose, sacarose, glicose, lactose e frutose) também influentes neste fator são indicativos de uma fonte de bioaerossol local, provavelmente devido à material ressuspenso durante queima de biomassa.⁹⁰

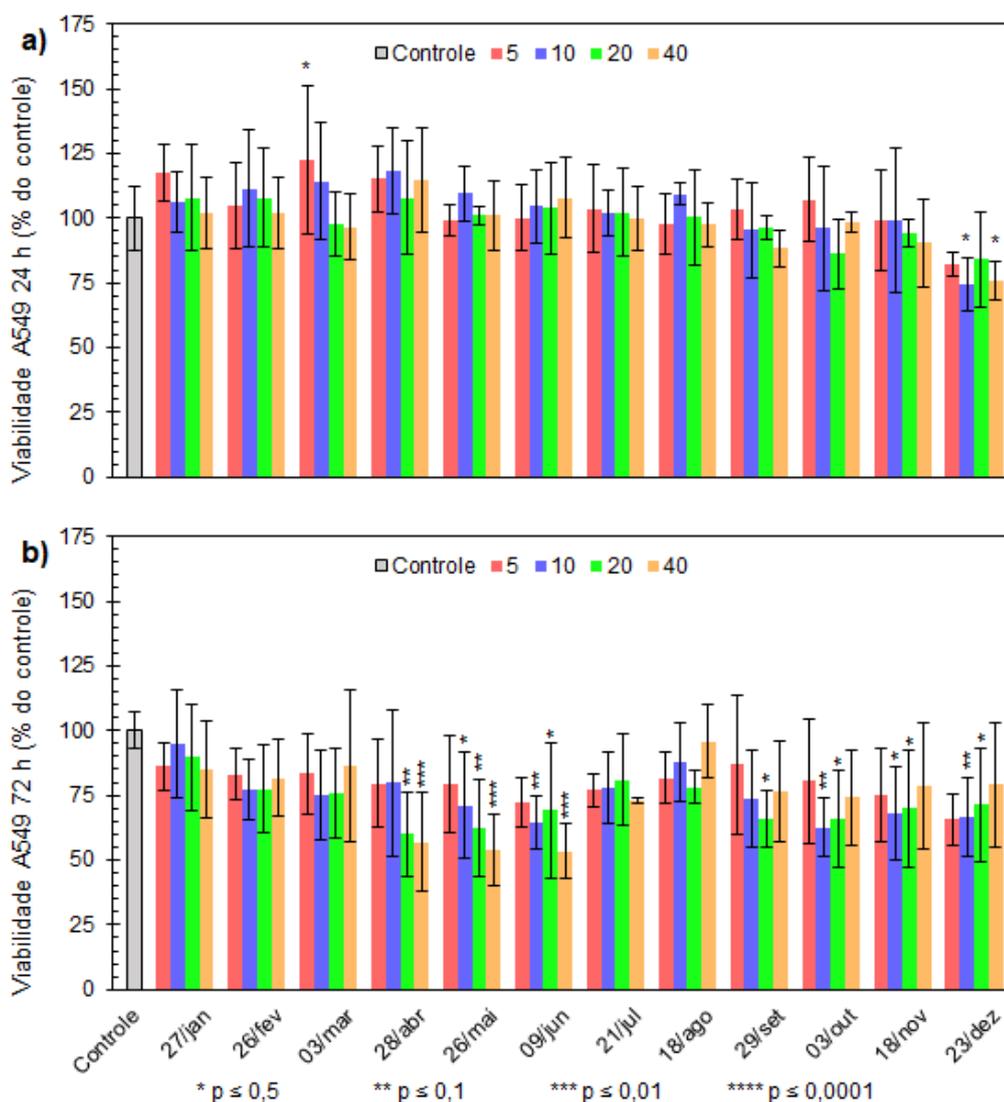
Por fim, o fator 4 apresentou elevadas contribuições dos HPAs e derivados e do levoglucosano. Os HPAs podem ser emitidos durante a queima de biomassa (cana-de-açúcar), para a qual o levoglucosano é um conhecido marcador, por isso este fator é identificado como queima de biomassa. Já os HPAs: BghiP, IcdP, Flt e o Oxi-HPA: 9-10-Ant são associados à queima de combustíveis fósseis veiculares, principalmente por veículos pesados, movidos a diesel.^{14,82,83} Portanto, este fator também foi relacionado à queima de combustíveis.

4.4 Análises Biológicas

4.4.1 Viabilidade Celular pelo Ensaio MTT

Inicialmente, na avaliação da viabilidade, foi realizada à exposição das células tumorais de pulmão humano, A549, aos extratos de MP₁₀ em concentrações de 5, 10, 20 e 40 ng μL^{-1} por 24 e 72 h. Redução na viabilidade celular foi observada com o aumento do tempo de exposição (FIGURA 4.9).

FIGURA 4.9 – Viabilidade celular das células de alvéolo pulmonar humano tumorais (A549) expostas aos extratos (concentrações de 5, 10, 20 e 40 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ dos extratos) das amostras de MP_{10} coletadas em São Carlos em 2016 por (a) 24 h e (b) 72 h. Os gráficos de barras mostram as médias das viabilidades celulares, obtidas em duplicatas independentes com triplicatas técnicas, em relação ao controle com o filtro branco, das células expostas ao MP_{10} e os desvios padrões (I). As diferenças significativas (*) foram estabelecidas por Anova one-way + pós teste Dunnett ($\alpha = 0,05$)



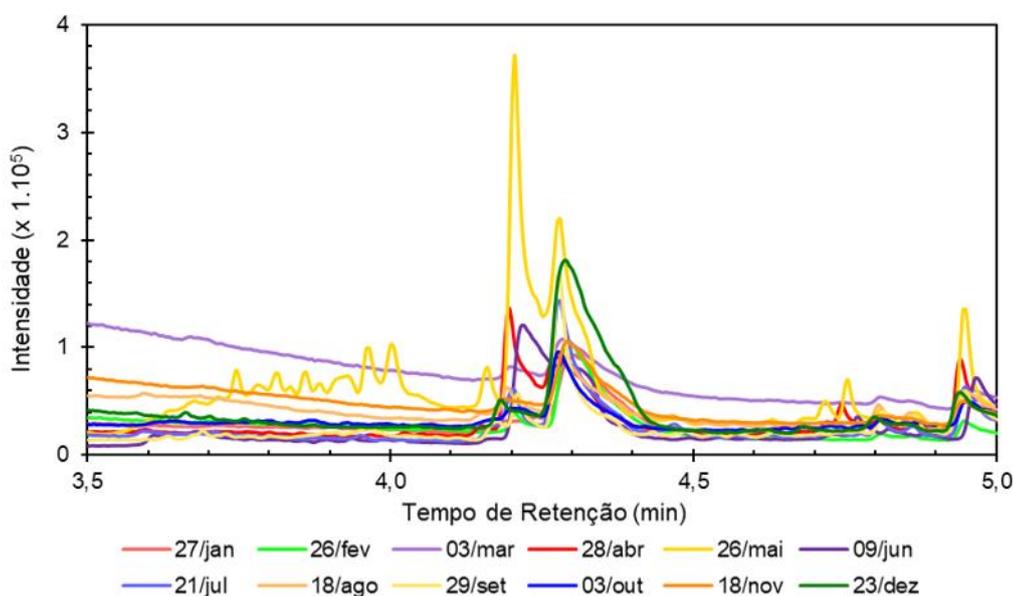
Fonte: Elaborado pela autora.

No ensaio por 24 h apenas as amostras dos meses de março (5 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$) e dezembro (10 e 40 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$) apresentaram significativas alterações na viabilidade celular (FIGURA 4.9a). O aumento na viabilidade observado no mês de março pode ser atribuído à ocorrência do efeito Hormese, em que pequenas concentrações podem estimular e/ou beneficiar os organismos. Em um

estudo realizado na região da cidade do Cairo, capital do Egito, também não foi observada redução na viabilidade celular para a linhagem A549 exposta ao extrato do MP_{2,5} por 24 h, porém por outras análises biológicas foram sugeridos efeitos genotóxicos e a possível ocorrência de efeito hormético para as menores concentrações.⁹¹

A redução da viabilidade no mês de dezembro não era esperada já que esta amostra possui uma das menores concentrações de MP₁₀, além de baixas concentrações dos HPAs, Oxi-HPAs e açúcares totais aqui investigados quando comparada aos outros meses. No entanto, neste mês foram determinadas as maiores concentrações de açúcares (-oses). Cabe destacar também que no mês de dezembro foram observados picos cromatográficos com relação m/z 77, em torno de 4,3 min, que não aparecem em muitas amostras ou são menos intensos (FIGURA 4.10).

FIGURA 4.10 – Cromatograma da análise de HPAs das amostras para a razão m/z 77



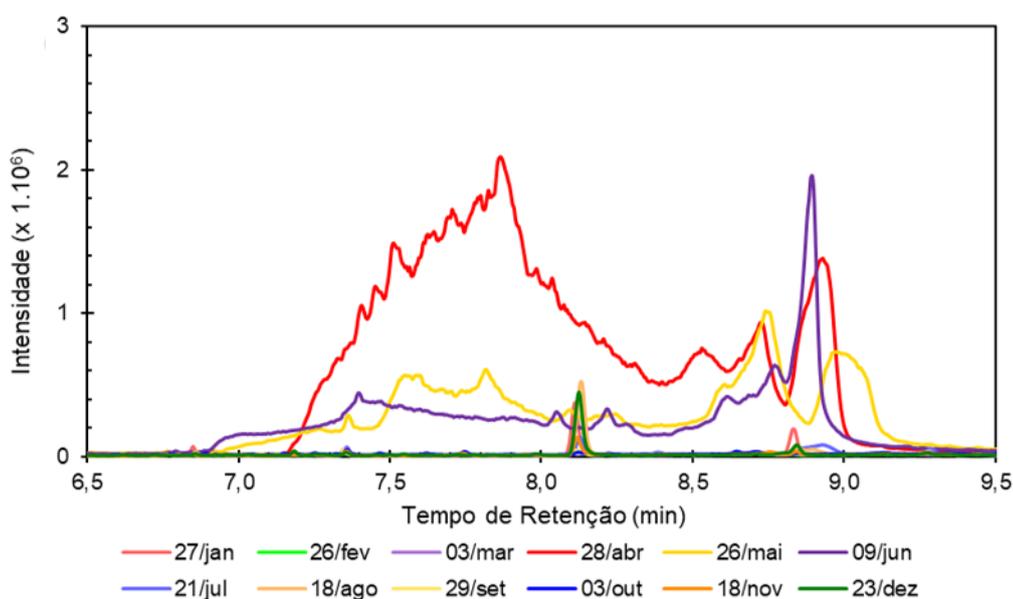
Fonte: Elaborado pela autora.

Na exposição por 72 h, sete das 12 amostras acarretaram toxicidade, as exceções foram as amostras dos meses de janeiro, fevereiro, março, julho e agosto (FIGURA 4.9b). Neste tempo de exposição a amostra de março não apresentou aumento de viabilidade significativa, enquanto que para a amostra de

dezembro a viabilidade foi significativamente menor.

Estes resultados permitem afirmar que a toxicidade dos extratos de MP₁₀ coletados em São Carlos foram tempo dependente e, de maneira geral, não dose dependente nas concentrações de extrato de MP₁₀. Para as amostras de abril, maio e junho após 72 h de exposição foram observadas variações nas viabilidades celulares com as diferentes concentrações de extrato de MP₁₀ testadas (FIGURA 4.9b). Para essas amostras, as reduções nas viabilidades foram proporcionais às concentrações a que foram expostas, apesar de que para o mês de abril as diferenças só foram significativas para as concentrações de 20 e 40 ng μL^{-1} . No mais, as amostras desses meses (mais a amostra 23/12/2016) são as únicas nas quais foram determinadas concentrações do íon fosfato (PO_4^{2-}), com a amostra 28/04/2016 possuindo a menor concentração do íon, e as quais possuem um elevado fundo cromatográfico com relação m/z 127, que não aparece nas demais amostras (FIGURA 4.11).

FIGURA 4.11 – Cromatograma da análise de HPAs das amostras para a razão m/z 127

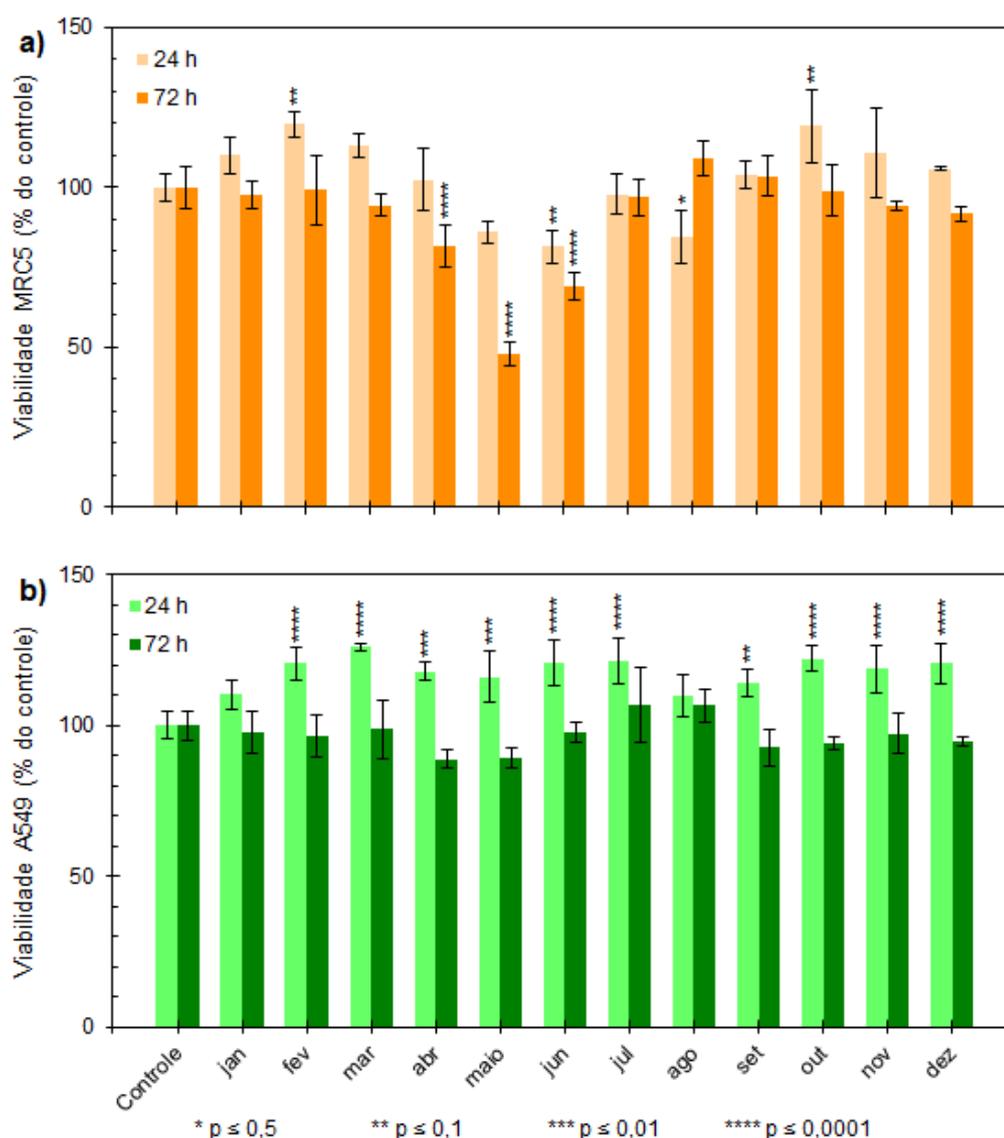


Fonte: Elaborado pela autora.

Dada as tempo dependências e não dose dependências, outros ensaios de viabilidade celular em células de fibroblastos pulmonares não tumorais, MRC5, alveolares tumorais, A549, expostas por 24 e 72 h aos extratos de MP₁₀

em concentração $16,52 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ foram realizados (FIGURA 4.12). Essa concentração corresponde a deposição diária prevista de 20% no trato respiratório humano (respiração em repouso de 16 m^3 de ar) e da média das concentrações de MP_{10} da cidade de São Carlos.⁹²

FIGURA 4.12 – Viabilidade celular das células de pulmão humano a) fibroblastos não tumorais (MRC5) e b) alvéolos tumorais (A549), expostas à concentração de $16,52 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ dos extratos de MP_{10} por 24 e 72 h. Os gráficos de barras mostram as médias das viabilidades celulares, obtidas em duplicatas independentes com sextuplicatas técnicas, em relação ao controle com o filtro branco, e os desvios padrões (I). As diferenças significativas (*) foram estabelecidas por Anova one-way + pós teste Dunnett ($\alpha = 0,05$)



Fonte: Elaborado pela autora.

Neste caso, foi observado aumento da viabilidade para 10 das 12 amostras compostas de MP_{10} após exposição das células A549 por 24 h (FIGURA 4.12b). Este resultado não era esperado dado que para as amostras individuais dos mesmos meses não foi observado este comportamento, o que sugere que o efeito combinado das amostras pode levar a diferentes respostas celulares, devido às diferenças nas concentrações de espécies químicas específicas, e que a complexidade das respostas biológicas da mistura pode encobrir uma resposta biológica individual, como já observado na literatura.⁹¹ No entanto, cabe destacar que embora a linhagem celular e o procedimento de cultivo fossem os mesmos, a cultura celular era diferente. Além disso, células cancerígenas sofrem mutações que permitem o crescimento descontrolado.

A exposição por 72 h não acarretou mudança de viabilidade significativa para as amostras (FIGURA 4.12b).

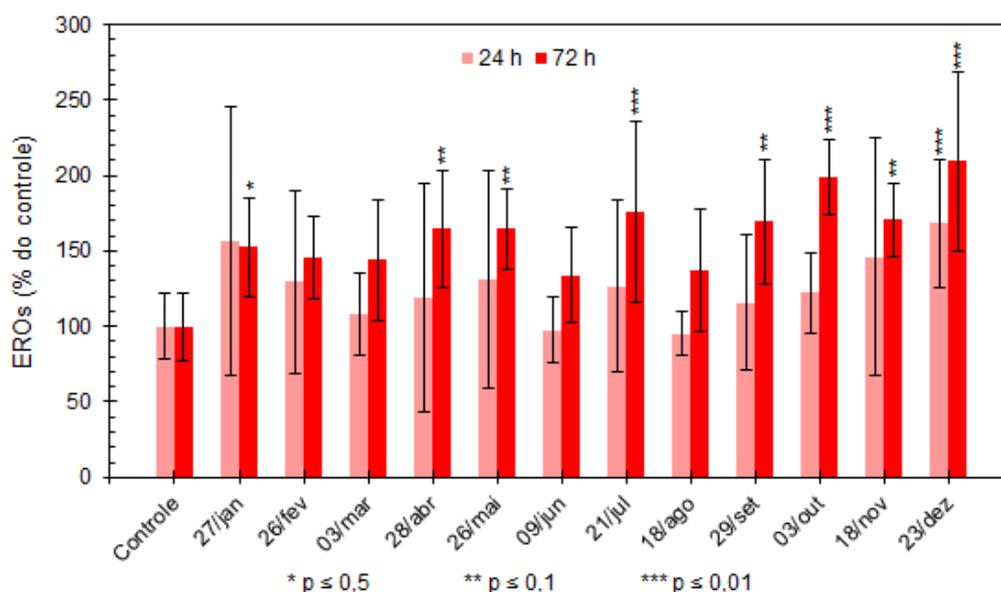
Nos ensaios, com a MRC5 e 24 h de exposição, as amostras dos meses de maio, junho e agosto apresentaram significativas reduções na viabilidade celular. Para 72 h de exposição, apenas para as amostras dos meses de abril, maio e junho foram observadas reduções na viabilidade (FIGURA 4.12a). Os meses de abril a outubro compreendem o período seco do ano, com as maiores concentrações de material particulado atmosférico, e conseqüentemente as menores viabilidades eram esperadas nestes meses.

Cabe destacar aqui que para a linhagem de alvéolo pulmonar tumoral não foram observadas diminuições nas viabilidades, enquanto para a de fibroblastos não tumoral, a viabilidade foi significativamente diminuída para algumas amostras. Isto demonstra que embora esta linhagem celular tumoral apresente algumas vantagens como rápido crescimento e requeira pouca manutenção, além de manter as características de células saudáveis, e por isso tem sido bastante, e até mais utilizadas que outras linhagens, o mais adequado é trabalhar uma ampla gama de linhagens celulares para que os resultados sejam mais representativos do que ocorre no ser humano.

4.4.2 Espécies Reativas de Oxigênio

Para estes ensaios, selecionou-se a concentração de $20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ que se aproxima da concentração depositada diariamente no trato respiratório humano da população da cidade de São Carlos. As EROs nas células pulmonares tumorais A549 após exposição ao extrato de MP_{10} ($20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$) por 24 e 72 h estão expressas como EROs por células viáveis (EROs/viabilidade celular) (FIGURA 4.13).

FIGURA 4.13 – EROs das células de pulmão humano tumorais (A549), expostas à concentração $20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ dos extratos de MP_{10} por 24 h e 72 h. O gráfico de barras mostra as médias das EROs por células viáveis, obtidas em triplicatas independentes com triplicatas técnicas, em relação ao controle com o DMSO, e os desvios padrões (I). As diferenças significativas (*) foram estabelecidas por Anova one-way + pós teste Dunnett ($\alpha = 0,05$)



Fonte: Elaborado pela autora.

Em 24 h apenas a amostra de dezembro apresentou EROs significativa. Já após exposição por 72 h, a geração de EROs foi maior e significativa para 8 das 12 amostras. Resultados majoritariamente concordantes com as reduções na viabilidade celular que foram observadas, indicando que a morte celular provavelmente ocorre após o estresse oxidativo.

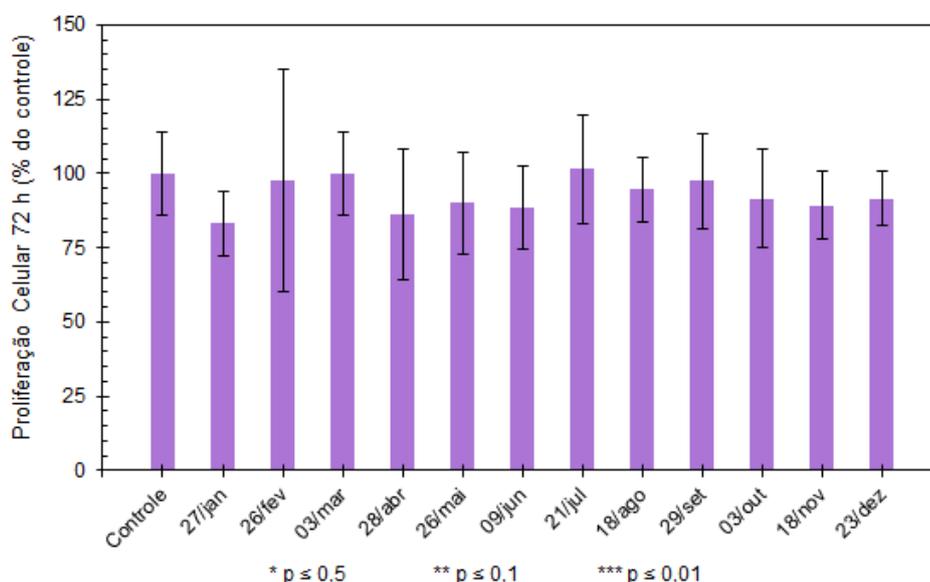
Contudo, os meses de janeiro, março e junho apresentaram resultados controversos: janeiro apresentou significativa geração de EROs sem ter a

viabilidade celular reduzida, isso pode indicar que houve uma defesa antioxidante eficiente ou o controle dessas EROs a ponto de não haver estresse oxidativo suficiente para causar danos significativos às células; os meses de março e junho não apresentaram geração de EROs, mas tiveram as suas viabilidades reduzidas, o que pode indicar que o dano celular observado se dá por outros fatores que não o estresse oxidativo.

4.4.3 Proliferação Celular

O ensaio de proliferação celular foi realizado com apenas em 72 h de exposição, pois de modo geral as células dobram sua população em 24 h, além das maiores reduções na viabilidade e geração de EROs ocorrerem após 72 h, sendo esse tempo de exposição o mais representativo. Para este ensaio, também foi selecionada a concentração de $20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Como pode ser observado na FIGURA 4.14 não houve proliferação celular significativa para as amostras dos extratos de MP₁₀.

FIGURA 4.14 – Proliferação celular das células de pulmão humano tumoral (A549) expostas à concentração de $20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ dos extratos de MP₁₀ por 72 h. O gráfico de barras mostra as médias das proliferações celulares, obtidas em triplicatas independentes com quadriplicatas técnicas, em relação ao controle com o DMSO, e os desvios padrões (I). As diferenças significativas (*) foram estabelecidas por Anova one-way + pós teste Dunnett ($\alpha = 0,05$)



Fonte: Elaborado pela autora.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As dinâmicas de emissão, concentração e dispersão de MP_{10} , e os compostos associados a estas partículas, na cidade de São Carlos mostraram comportamento sazonal, com as maiores concentrações de MP_{10} observadas no período seco (abril–setembro). Neste período, além da minimização das chuvas e da umidade, foram observados aumentos na frequência de queimadas devido à colheita de cana-de-açúcar.

Neste trabalho também foi validado o método para análise dos HPAs e derivados⁶⁷, e 23 dos analitos exibiram parâmetros analíticos (sensibilidade, precisão e exatidão) adequados para suas quantificações. As concentrações de HPAs ($1,47 \pm 1,70 \text{ ng m}^{-3}$) foram até, aproximadamente, 4 vezes maiores que as de seus derivados (Oxi-HPAs: $0,37 \pm 0,31 \text{ ng m}^{-3}$ e Nitro-HPA: $0,84 \text{ ng m}^{-3}$). Os analitos determinados em ordem decrescente de abundância foram: IcdP > 9,10-Ant > BghiP > BbF > BeP > BaP > Pyr > Flt > BcdP > 2-NFlu > Chry > BkF. As maiores concentrações dessas espécies foram determinadas no período seco ($2,65 \pm 2,12 \text{ ng m}^{-3}$) em comparação com o período chuvoso ($0,51 \pm 0,40 \text{ ng m}^{-3}$). Isso corrobora para a relevância da queima de biomassa relacionada a colheita da cana-de-açúcar como fonte de emissão de MP na região, comportamento já observado em outras regiões canavieiras do estado de São Paulo.

Em posse das concentrações dos HPAs mutagênicos e carcinogênicos (BaP, BbF, BkF, BghiP, Chry, Flt e IcdP) determinadas nas amostras foi possível avaliar o potencial risco de câncer de pulmão por meio da exposição aos HPAs. O risco de câncer de pulmão anual foi de $3,09 \pm 4,23$ (BaPE = $0,36 \pm 0,49 \text{ ng m}^{-3}$) a cada 100.000 habitantes. Este risco foi principalmente influenciado pelas amostras período seco, com 6 delas com BaPE > $1,0 \text{ ng m}^{-3}$, o que aumenta o risco em $8,7 \cdot 10^{-5}$. Ademais, o BaP, carcinógeno comprovado, não foi determinado no período chuvoso e, portanto, não influenciou o BaPE.

As concentrações de sacarídeos ($119,91 \pm 62,14 \text{ ng m}^{-3}$) e íons

($5,66 \pm 4,52 \mu\text{g m}^{-3}$) determinados foram em média, aproximadamente, 82 e 3850 vezes, respectivamente, maiores que as concentrações dos HPAs, o que os justificam como importantes classes para serem usadas como marcadores na determinação das fontes de emissão de MP para a atmosfera. E os analitos determinados em ordem decrescente de abundância foram para a) os sacarídeos: arabinose > levoglucosano > manitol > sacarose > glicose > arabitol > frutose > eritritol > sorbitol > maltose > xilitol > lactose > maltitol > dulcitol > ribitol > galactose > manose > manosano > xilose > galactosano; b) os íons: Na^+ > SO_4^{2-} > NO_3^- > HCOO^- > $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ > Ca^{2+} > K^+ > $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_3^-$ > Cl^- > Mg^{2+} > CH_3COO^- > F^- > NH_4^+ > PO_4^{3-} . As concentrações totais de sacarídeos e de ânions também foram maiores no período seco.

Estes analitos permitiram a realização da análise de *source apportionment*, que indicou a existência de 4 fontes de emissão para o MP_{10} da cidade de São Carlos: queima de biomassa com MP_{10} secundário (40,7%, fator 3), queima de biomassa e de combustíveis fósseis (23,8%, fator 4), aerossóis biogênicos (19,7%, fator 1) e solo (15,8%, fator 2).

Na complementação da avaliação dos riscos, efeitos toxicológicos *in vitro* foram observados nas células pulmonares alveolares tumorais (A549) e de fibroblastos não tumorais (MRC5). Ambas apresentaram significativa redução na viabilidade celular em 72 h, independente da concentração testada. Além disso, houve formação de espécies reativas de oxigênio para a maioria das amostras após este tempo de exposição. Isso atesta que o MP_{10} da cidade de São Carlos provoca efeitos toxicológicos em células humanas e que esses efeitos são dependentes do tempo de exposição. Cabe destacar aqui que para obtenção de resultados mais representativos, o mais adequado é trabalhar com várias linhagens celulares.

Diante dos resultados observados neste trabalho também fica evidente a necessidade de reavaliação dos atuais padrões de emissões e dos padrões de qualidade do ar preconizados na legislação.

REFERÊNCIAS

1. MONKS, P. S. Chemistry of the Atmosphere. In: HARRISON, R. M. (Ed.). **Principles of Environmental Chemistry**. Cambridge, UK: RSC Publishing, 2007. cap. 2, p. 8–79.
2. SEINFELD, J. H.; PANDIS, S. N. Atmospheric Trace Constituents. In: **Atmospheric Chemistry and Physics: from Air Pollution to Climate Change**. 2. ed. New Jersey, US: John Wiley & Sons, 2006. cap. 2, p. 21–74.
3. SANT'ANNA, A.; ALENCAR, A.; PINHEIRO, B.; ARAÚJO, C.; VORMITTAG, E.; WICHER, H.; BORGES, K.; FARIA, M.; ANDRADE, M. DE F.; PORTO, P.; ARTAXO, P.; ROCHA, R.; ESTURBA, T.; SIMONI, W. F. DE. O ESTADO DA QUALIDADE DO AR NO BRASIL. **WRI Brasil**, p. 1–32, jan. 2021.
4. ANDREWS, J. E.; BRIMBLECOMBE, P.; JICKELLS, T. D.; LISS, P. S.; REID, B. J. The atmosphere. In: **An Introduction to Environmental Chemistry**. 2. ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2004. cap. 3, p. 31–65.
5. VORMITTAG, E. DA M. P. A. DE A.; CIRQUEIRA, S. S. R.; NETO, H. W.; SALDIVA, P. H. N. Análise do monitoramento da qualidade do ar no Brasil. **Estudos Avançados**, v. 35, n. 102, p. 7–30, 2021.
6. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Ambient (outdoor) air pollution**. Disponível em: <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health)>. Acesso em: 11 fev. 2022.
7. HINDS, W. C. Aerosol properties. In: RUZER, L. S.; HARLEY, N. H. (Eds.). **Aerosols Handbook: Measurement, Dosimetry, and Health Effects**. Boca Raton, US: CRC Press, 2005. cap. 2.
8. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente (Conama). Resolução nº 491, de 19 de novembro de 2018. Dispõe sobre os padrões de qualidade do ar. Brasília, DF, ano 155, p. 155–156.
9. SIMONEIT, B. R. T. Biomass burning — a review of organic tracers for smoke from incomplete combustion. **Applied Geochemistry**, v. 17, p. 129–162, 2002.
10. VASCONCELLOS, P. C.; ARTAXO, P. E.; CICCIOLO, P.; CECINATO, A.; BRANCALEONI, E.; FRATTONI, M. Determinação dos

hidrocarbonetos saturados e policíclicos aromáticos presentes no material particulado da atmosfera amazônica. **Química Nova**, v. 21, n. 4, p. 385–393, 1998.

11. VASCONCELLOS, P. C.; SOUZA, D. Z.; SANCHEZ-CCOYLLO, O.; BUSTILLOS, J. O. V.; LEE, H.; SANTOS, F. C.; NASCIMENTO, K. H.; ARAÚJO, M. P.; SAARNIO, K.; TEINILÄ, K.; HILLAMO, R. Determination of anthropogenic and biogenic compounds on atmospheric aerosol collected in urban, biomass burning and forest areas in São Paulo, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 23, p. 5836–5844, 2010.
12. MESQUITA, S. R.; VAN DROOGE, B. L.; RECHE, C.; GUIMARÃES, L.; GRIMALT, J. O.; BARATA, C.; PIÑA, B. Toxic assessment of urban atmospheric particle-bound PAHs: Relevance of composition and particle size in Barcelona (Spain). **Environmental Pollution**, v. 184, p. 555–562, 2014.
13. SOUZA, D. Z.; VASCONCELLOS, P. C.; LEE, H.; AURELA, M.; SAARNIO, K.; TEINILÄ, K.; HILLAMO, R. Composition of PM_{2.5} and PM₁₀ Collected at Urban Sites in Brazil. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 14, p. 168–176, 2014.
14. SOUZA, K. F.; CARVALHO, L. R. F.; ALLEN, A. G.; CARDOSO, A. A. Diurnal and nocturnal measurements of PAH, nitro-PAH, and oxy-PAH compounds in atmospheric particulate matter of a sugar cane burning region. **Atmospheric Environment**, v. 83, p. 193–201, 2014.
15. URBAN, R. C.; ALVES, C. A.; ALLEN, A. G.; CARDOSO, A. A.; QUEIROZ, M. E. C.; CAMPOS, M. L. A. M. Sugar markers in aerosol particles from an agro-industrial region in Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 90, p. 106–112, 2014.
16. ALVES, N. DE O.; BRITO, J.; CAUMO, S.; ARANA, A.; HACON, S. DE S.; ARTAXO, P.; HILLAMO, R.; TEINILÄ, K.; MEDEIROS, S. R. B. DE; VASCONCELLOS, P. DE C. Biomass burning in the Amazon region: Aerosol source apportionment and associated health risk assessment. **Atmospheric Environment**, v. 120, p. 277–285, 2015.
17. CAUMO, S. E. S.; CLAEYS, M.; MAENHAUT, W.; VERMEYLEN, R.; BEHROUZI, S.; SHALAMZARI, M. S.; VASCONCELLOS, P. C. Physicochemical characterization of winter PM₁₀ aerosol impacted by sugarcane burning from São Paulo city, Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 145, p. 272–279, 2016.

18. URBAN, R. C.; ALVES, C. A.; ALLEN, A. G.; CARDOSO, A. A.; CAMPOS, M. L. A. M. Organic aerosols in a Brazilian agro-industrial area: Speciation and impact of biomass burning. **Atmospheric Research**, v. 169, p. 271–279, mar. 2016.
19. ABBAS, I.; BADRAN, G.; VERDIN, A.; LEDOUX, F.; ROUMIÉ, M.; COURCOT, D.; GARÇON, G. Polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives in airborne particulate matter: sources, analysis and toxicity. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 2, p. 439–475, 2018.
20. IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures. **Iarc Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans**, v. 92, p. 1–868, 2010.
21. NETTO, A. D. P.; MOREIRA, J. C.; DIAS, A. E. X. O.; ARBILLA, G.; FERREIRA, L. F. V.; OLIVEIRA, A. S.; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química Nova**, v. 23, n. 6, p. 765–773, 2000.
22. RAVINDRA, K.; SOKHI, R.; GRIEKEN, R. VAN. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. **Atmospheric Environment**, v. 42, n. 13, p. 2895–2921, 2008.
23. DAT, N.; CHANG, M. B. Review on characteristics of PAHs in atmosphere, anthropogenic sources and control technologies. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 682–693, 2017.
24. LOPES, W. A.; DE ANDRADE, J. B. Fontes, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na atmosfera. **Química Nova**, v. 19, n. 5, p. 497–516, 1996.
25. ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES & DISEASE REGISTRY. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)**. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp69-c2.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2020.
26. IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–130**. Disponível em: <<https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>>. Acesso em: 15 fev. 2022.

27. MOON, H.-B.; LEE, D.-H.; LEE, Y. S.; KANNAN, K. Occurrence and accumulation patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons and synthetic musk compounds in adipose tissues of Korean females. **Chemosphere**, v. 86, n. 5, p. 485–490, 2012.
28. HARVEY, R. G. Mechanisms Of Carcinogenesis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 9, p. 1–23, 1996.
29. MASELLI, B. S.; CUNHA, V.; LIM, H.; BERGVALL, C.; WESTERHOLM, R.; DREIJ, K.; WATANABE, T.; CARDOSO, A. A.; POZZA, S. A.; UMBUZEIRO, G. A.; KUMMROW, F. Similar polycyclic aromatic hydrocarbon and genotoxicity profiles of atmospheric particulate matter from cities on three different continents. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 61, n. 5, p. 560–573, 2020.
30. ALVES, D. K. M.; KUMMROW, F.; CARDOSO, A. A.; MORALES, D. A.; UMBUZEIRO, G. A. Mutagenicity Profile of Atmospheric Particulate Matter in a Small Urban Center Subjected to Airborne Emission From Vehicle Traffic and Sugar Cane Burning. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 57, p. 41–50, 2016.
31. AUFDERHEIDE, M.; SCHEFFLER, S.; MÖHLE, N.; HALTER, B.; HOCHRAINER, D. Analytical in vitro approach for studying cyto- and genotoxic effects of particulate airborne material. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, n. 10, p. 3213–3220, 2011.
32. MUELLER, A.; ULRICH, N.; HOLLMANN, J.; ZAPATA SANCHEZ, C. E.; ROLLE-KAMPCZYK, U. E.; VON BERGEN, M. Characterization of a multianalyte GC-MS/MS procedure for detecting and quantifying polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and PAH derivatives from air particulate matter for an improved risk assessment. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 112967, 2019.
33. LAMMEL, G.; KITANOVSKI, Z.; KUKUČKA, P.; NOVÁK, J.; ARANGIO, A. M.; CODLING, G. P.; FILIPPI, A.; HOVORKA, J.; KUTA, J.; LEONI, C.; PŘÍBYLOVÁ, P.; PROKEŠ, R.; SÁŇKA, O.; SHAHPOURY, P.; TONG, H.; WIETZORECK, M. Oxygenated and Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ambient Air - Levels, Phase Partitioning, Mass Size Distributions, and Inhalation Bioaccessibility. **Environmental Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 2615–2625, 2020.
34. NOVÁKOVÁ, Z.; NOVÁK, J.; KITANOVSKI, Z.; KUKUČKA, P.; SMUTNÁ, M.; WIETZORECK, M.; LAMMEL, G.; HILSCHEROVÁ, K. Toxic potentials of particulate and gaseous air pollutant mixtures and the

- role of PAHs and their derivatives. **Environment International**, v. 139, n. March, p. 105634, 2020.
35. WU, H.; LU, L.; CHEN, J.; ZHANG, C.; LIU, W.; ZHUANG, S. Inhibited Nitric Oxide Production of Human Endothelial Nitric Oxide Synthase by Nitrated and Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Environmental Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 2922–2930, 2020.
36. SHIN, S. M.; LEE, J. Y.; SHIN, H. J.; KIM, Y. P. Seasonal variation and source apportionment of Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (OPAHs) and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in PM_{2.5} in Seoul, Korea. **Atmospheric Environment**, v. 272, n. December 2021, p. 118937, 2022.
37. LAMMEL, G. Polycyclic Aromatic Compounds in the Atmosphere – A Review Identifying Research Needs. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 35, n. 2–4, p. 316–329, 2015.
38. WARNER, S. D. **Photochemical Degradation of Selected Polycyclic Aromatic Compounds**. Doctor of Philosophy—Montreal, CA: Faculty of Graduate Studies and Research - McGill University, 2002.
39. ALVES, N. D. O.; VESSONI, A. T.; QUINET, A.; FORTUNATO, R. S.; KAJITANI, G. S.; PEIXOTO, M. S.; HACON, S. DE S.; ARTAXO, P.; SALDIVA, P.; MENCK, C. F. M.; MEDEIROS, S. R. B. DE. Biomass burning in the Amazon region causes DNA damage and cell death in human lung cells. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1–13, 2017.
40. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. AirQ+: carcinogenic pollutants and risk analysis. **WHO Regional Office for Europe**, 2020.
41. USEPA - U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Development of a Relative Potency Factor (RPF) Approach for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) mixtures. **Federal Register**, 2010.
42. MEDEIROS, P. M.; CONTE, M. H.; WEBER, J. C.; SIMONEIT, B. R. T. Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, Maine. **Atmospheric Environment**, v. 40, p. 1694–1705, 2006.
43. URBAN, R. C. **Material particulado de regiões canavieiras: caracterização química, identificação de marcadores, implicações ambientais e na saúde**. Tese de doutorado—Ribeirão Preto, SP: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP, 2014.

44. URBAN, R. C.; LIMA-SOUZA, M.; CAETANO-SILVA, L.; QUEIROZ, M. E. C.; NOGUEIRA, R. F. P.; ALLEN, A. G.; CARDOSO, A. A.; HELD, G.; CAMPOS, M. L. A. M. Use of levoglucosan, potassium, and water-soluble organic carbon to characterize the origins of biomass-burning aerosols. **Atmospheric Environment**, v. 61, p. 562–569, 2012.
45. DOS REIS, D. C. O. **Caracterização dos íons majoritários do material particulado da atmosfera de Ribeirão Preto, uma cidade canavieira do estado de São Paulo**. Dissertação de mestrado—Ribeirão Preto, SP: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP, 2016.
46. ANDREAE, M. O. Soot Carbon and Excess Fine Potassium: Long-Range Transport of Combustion-Derived Aerosols. **Science**, v. 220, n. 4602, p. 1148–1151, 10 jun. 1983.
47. SCARAMBONI, C.; URBAN, R. C.; LIMA-SOUZA, M.; NOGUEIRA, R. F. P.; CARDOSO, A. A.; ALLEN, A. G.; CAMPOS, M. L. A. M. Total sugars in atmospheric aerosols : An alternative tracer for biomass burning. **Atmospheric Environment**, v. 100, p. 185–192, 2015.
48. ALLEN, A. G.; CARDOSO, A. A.; DA ROCHA, G. O. Influence of sugar cane burning on aerosol soluble ion composition in Southeastern Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 38, n. 30, p. 5025–5038, 2004.
49. PORFÍRIO, D. M.; MONTEIRO, L. R.; DA COSTA, M. L. Rainwater geochemistry inside the Barcarena power station at the mouth of the Tocantins River. **Environmental Technology**, v. 41, n. 8, p. 981–996, 2020.
50. KIM, K. H.; KABIR, E.; KABIR, S. A review on the human health impact of airborne particulate matter. **Environment International**, v. 74, p. 136–143, 2015.
51. PEARSON, J. F.; BACHIREDDY, C.; SHYAMPRASAD, S.; GOLDFINE, A. B.; BROWNSTEIN, J. S. Association between fine particulate matter and diabetes prevalence in the U.S. **Diabetes Care**, v. 33, n. 10, p. 2196–2201, 2010.
52. RIEDIKER, M.; ZINK, D.; KREYLING, W.; OBERDÖRSTER, G.; ELDER, A.; GRAHAM, U.; LYNCH, I.; DUSCHL, A.; ICHIHARA, G.; ICHIHARA, S.; KOBAYASHI, T.; HISANAGA, N.; UMEZAWA, M.; CHENG, T.-J.; HANDY, R.; GULUMIAN, M.; TINKLE, S.; CASSEE, F. Particle toxicology and health - where are we? **Particle and Fibre Toxicology**, v. 16, n. 1, p. 1–33, 2019.

53. PEDERSEN, D. U.; DURANT, J. L.; TAGHIZADEH, K.; HEMOND, H. F.; LAFLEUR, A. L.; CASS, G. R. Human Cell Mutagens in Respirable Airborne Particles from the Northeastern United States. 2. Quantification of Mutagens and Other Organic Compounds. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 24, p. 9547–9560, 2005.
54. DE OLIVEIRA, A. A. F.; DE OLIVEIRA, T. F.; DIAS, M. F.; MEDEIROS, M. H. G.; DI MASCIO, P.; VERAS, M.; LEMOS, M.; MARCOURAKIS, T.; SALDIVA, P. H. N.; LOUREIRO, A. P. M. Genotoxic and epigenotoxic effects in mice exposed to concentrated ambient fine particulate matter (PM_{2.5}) from São Paulo city, Brazil. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 15, n. 1, p. 1–19, 2018.
55. DATEANDTIME.INFO. **Coordenadas geográficas de São Carlos, Brasil**. Disponível em: <<https://dateandtime.info/pt/citycoordinates.php?id=3449319>>. Acesso em: 18 nov. 2021.
56. IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **São Carlos**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/sao-carlos/panorama>>. Acesso em: 18 nov. 2021.
57. CLIMATE-DATA.ORG. **Clima São Carlos (Brasil)**. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/sao-paulo/sao-carlos-4818/>>. Acesso em: 18 nov. 2021.
58. PREFEITURA DE SÃO CARLOS. **A Cidade de São Carlos**. Disponível em: <<http://www.saocarlos.sp.gov.br/index.php/conheca-sao-carlos/115268-a-cidade-de-sao-carlos.html>>. Acesso em: 18 nov. 2021.
59. IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola - Lavoura Temporária**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/sao-carlos/pesquisa/14/10193?indicador=10246&ano=2020>>. Acesso em: 18 nov. 2021.
60. CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Cana-de-Açúcar - Área Total**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>>. Acesso em: 2 mar. 2022.
61. POZZA, S. A. **Identificação das Fontes de Poluição Atmosférica na Cidade de São Carlos - SP**. Dissertação de mestrado—São Carlos, SP: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - UFSCar, 2005.

62. CELLI, C. E.; MARQUES, K. A.; TEIXEIRA, D.; BACHIEGA, E.; MACHADO, A. P. G.; BRUNO, R. L.; CARVALHO, W. M. DE; AGUIAR, M. L.; COURY, J. R. Concentração de Material Particulado Suspenso na Atmosfera em São Carlos - SP. **Nota Técnica-Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 8, p. 6–12, 2003.
63. BRUNO, R. L. **Material Particulado Atmosférico na Cidade de São Carlos-SP: quantificação e identificação de fontes**. Tese de doutorado—São Carlos, SP: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - UFSCar, 2005.
64. ALEXANDRINA, E. C. **Caracterização e Composição Química do Material Particulado Grosso (MP10) no Centro da Cidade de São Carlos (SP)**. Dissertação de mestrado—São Carlos, SP: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - UFSCar, 2015.
65. ALEXANDRINA, E. C. **Análise do Material Particulado na Área Central da Cidade de São Carlos-SP através de Técnicas Espectroanalíticas e Avaliação Multidimensional de Séries Temporais**. Tese de doutorado—São Carlos, SP: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - UFSCar, 2019.
66. ENERGÉTICA QUALIDADE DO AR. **AGV MP10**. Disponível em: <https://www.energetica.ind.br/wp-content/uploads/2015/12/agv_mp10.pdf>. Acesso em: 24 out. 2021.
67. SCARAMBONI, C.; NERIS, J. B.; DO NASCIMENTO, R. DE K. S.; CHIARANDA DA ROSA, N. L.; CARVALHO, J. S.; GROSSELI, G. M.; CAMPOS, M. L. A. M.; FADINI, P. S.; URBAN, R. C. Optimization of a Low Volume Extraction Method to Determine Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aerosol Samples. **Frontiers in Environmental Science**, v. 9, n. November, p. 1–11, 2021.
68. MEDEIROS, P. M.; SIMONEIT, B. R. T. Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1141, n. 2, p. 271–278, 2007.
69. RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.
70. CIANI, R. **Um estudo da sensibilidade da fatoração PMF - Positive Matrix Factorization - em relação às medidas de incerteza das variáveis**. Dissertação de mestrado—São Paulo, SP: Instituto de Matemática e

Estatística - USP, 2016.

71. NORRIS, G.; DUVALL, R. EPA Positive Matrix Factorization (PMF) 5.0 Fundamentals and User Guide. **U S Environmental Protection Agency EPA/600/R-14/108**, p. 1–136, 2014.
72. REFF, A.; EBERLY, S. I.; BHAVE, P. V. Receptor Modeling of Ambient Particulate Matter Data Using Positive Matrix Factorization: Review of Existing Methods. **Journal of the Air & Waste Management Association**, v. 57, p. 146–154, 2012.
73. MINITAB. **Selecione as opções de análise para Teste de outlier**. Disponível em: <<https://support.minitab.com/pt-br/minitab/18/help-and-how-to/statistics/basic-statistics/how-to/outlier-test/perform-the-analysis/select-the-analysis-options/>>. Acesso em: 23 fev. 2022.
74. REILLY, T. P.; BELLEVUE, F. H.; WOSTER, P. M.; SVENSSON, C. K. Comparison of the in vitro cytotoxicity of hydroxylamine metabolites of sulfamethoxazole and dapsone. **Biochemical Pharmacology**, v. 55, n. 6, p. 803–810, 1998.
75. THERMO FISHER SCIENTIFIC. Probes for Reactive Oxygen Species, Including Nitric Oxide. In: **The Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies**. 11. ed. [s.l: s.n.]. cap. 18, p. 805–828.
76. VEGA-AVILA, E.; PUGSLEY, M. K. An overview of colorimetric assay methods used to assess survival or proliferation of mammalian cells. **Proceedings of the Western Pharmacology Society**, v. 54, n. March 2014, p. 10–14, 2011.
77. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **What are the WHO Air quality guidelines?** Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/what-are-the-who-air-quality-guidelines>>. Acesso em: 20 fev. 2022.
78. INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Dados Históricos Anuais**. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>>. Acesso em: 29 jan. 2022.
79. ALEXANDRINA, E. C.; ORTIGOSSA, E. S.; LUI, E. S.; GONÇALVES, J. A. S.; CORRÊA, N. A.; NONATO, L. G.; AGUIAR, M. L. Analysis and visualization of multidimensional time series : Particulate matter (PM10) from São Carlos-SP (Brazil). **Atmospheric Pollution Research**, v. 10, n. 4,

p. 1299–1311, 2019.

80. ALEXANDRINA, E. C.; BABOS, D. V.; ANDRADE, D. F.; COSTA, V. C.; LUI, E. S.; CORRÊA, N. A.; AGUIAR, M. L.; PEREIRA-FILHO, E. R. Particulate matter (PM10) from São Carlos-SP (Brazil): spectroanalytical techniques to evaluate and determine chemical elements. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 99, n. 7, p. 653–669, 2019.
81. CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perfil do setor do açúcar e do etanol no Brasil**. Brasília, DF: Conab, 2017.
82. DVORSKÁ, A.; KOMPRDOVÁ, K.; LAMMEL, G.; KLÁNOVÁ, J.; PLACHÁ, H. Polycyclic aromatic hydrocarbons in background air in central Europe - Seasonal levels and limitations for source apportionment. **Atmospheric Environment**, v. 46, p. 147–154, 2012.
83. DE ANDRADE, S. J.; CRISTALE, J.; SILVA, F. S.; ZOCCOLO, G. J.; MARCHI, M. R. R. Contribution of sugar-cane harvesting season to atmospheric contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Araraquara city, Southeast Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 44, n. 24, p. 2913–2919, 2010.
84. BAYONA, J. M.; CASELLAS, M.; FERNÁNDEZ, P.; SOLANAS, A. M.; ALBAIGÉS, J. Sources and seasonal variability of mutagenic agents in the Barcelona city aerosol. **Chemosphere**, v. 29, n. 3, p. 441–450, 1994.
85. DURANT, J. L.; BUSBY JR., W. F.; LAFLEUR, A. L.; PENMAN, B. W.; CRESPI, C. L. Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols. **Mutation Research**, v. 371, p. 123–157, 1996.
86. NEZIKOVÁ, B.; DEGRENDELE, C.; BANDOWE, B. A. M.; SMEJKALOVÁ, A. H.; KUKUCKA, P.; MARTINÍK, J.; MAYER, L.; PROKES, R.; PRIBYLOVÁ, P.; KLÁNOVÁ, J.; LAMMEL, G. Three years of atmospheric concentrations of nitrated and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons and oxygen heterocycles at a central European background site. **Chemosphere**, v. 269, p. 128738, 2021.
87. BRORSTRÖM-LUNDÉN, E.; LINDSKOG, A. CHARACTERIZATION OF ORGANIC COMPOUNDS ON AIRBORNE PARTICLES. **Environmental International**, v. 11, p. 183–188, 1985.
88. RAMDAHL, T. CHARACTERIZATION OF POLAR COMPOUNDS

SUCH AS POLYCYCLIC AROMATIC KETONES IN AIR POLLUTION INCLUDING WOOD SMOKE. **Environment International**, v. 11, p. 197–203, 1985.

89. VASCONCELLOS, P. D. C.; SANCHEZ-CCOYLLO, O.; BALDUCCI, C.; MABILIA, R.; CECINATO, A. Occurrence and Concentration Levels of Nitro-PAH in the Air of Three Brazilian Cities Experiencing Different Emission Impacts. **Water Air Soil Pollut**, v. 190, p. 87–94, 2008.
90. FELTRACCO, M.; BARBARO, E.; TEDESCHI, S.; SPOLAOR, A.; TURETTA, C.; VECCHIATO, M.; MORABITO, E.; ZANGRANDO, R.; BARBANTE, C.; GAMBARO, A. Interannual variability of sugars in Arctic aerosol : Biomass burning and biogenic inputs. **Science of the Total Environment**, v. 706, p. 136089, 2020.
91. MARCHETTI, S.; HASSAN, S. K.; SHETAYA, W. H.; EL-MEKAWY, A.; MOHAMED, E. F.; MOHAMMED, A. M. F.; EL-ABSSAWY, A. A.; BENGALLI, R.; COLOMBO, A.; GUALTIERI, M.; MANTECCA, P. Seasonal variation in the biological effects of PM_{2.5} from greater Cairo. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 20, p. 4970, 2019.
92. HEYDER, J. Deposition of Inhaled Particles in the Human Respiratory Tract and Consequences for Regional Targeting in Respiratory Drug Delivery. **Proceedings of the American Thoracic Society**, v. 1, n. 6, p. 315–320, 2004.