AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**AVALIAÇÃO DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA DE ELEMENTOS QUÍMICOS PELA
ANÁLISE DE LÍQUEN EPIFÍTICO NO CAMPUS DA CIDADE UNIVERSITÁRIA DE SÃO
PAULO**

ROSIANA ROCHO ROCHA

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de Tecnologia
Nuclear - Aplicações**

**Orientadora:
Profa. Dra. Mitiko Saiki**

**São Paulo
2015**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**AVALIAÇÃO DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA DE ELEMENTOS QUÍMICOS PELA
ANÁLISE DE LÍQUEN EPIFÍTICO NO CAMPUS DA CIDADE UNIVERSITÁRIA DE SÃO
PAULO**

ROSIANA ROCHO ROCHA

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de Tecnologia
Nuclear - Aplicações**

**Orientadora:
Profa. Dra. Mitiko Saiki**

Versão Corrigida

**São Paulo
2015**

Dedico a minha família

AGRADECIMENTOS

À Dra. Mitiko Saiki, pela orientação, dedicação e pelos ensinamentos a mim transmitidos durante a realização deste trabalho.

Ao Dr. Frederico A. Genezini, pela amizade e por toda ajuda durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Dra. Patrícia Junghblut, da UNESP de Botucatu, pela concessão das amostras de líquens de regiões consideradas não poluídas.

Ao Dr. Nemitala Added e Dra. Márcia Rizzutto, do Instituto de Física da USP, IFUSP, por permitir a utilização do laboratório de preparo de amostras e do espectrômetro de fluorescência de raios X e por toda ajuda durante as análises.

À Dra. Ana Maria Graciano Figueiredo pelas valiosas contribuições a este trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP pela oportunidade concedida para executar este trabalho.

À Comissão Nacional de Energia Nuclear, CNEN, pela bolsa de estudos. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pelo auxílio financeiro concedido para aquisição de equipamento utilizados na realização desta pesquisa.

Aos amigos do IPEN: Adenilson, Camila Lange, Daniele Seo, Eliane Santos, Edson Alves, Fábio Sussa, Guilherme Zahn, Iberê Ribeiro, Jéssica Ambrogi, Jefferson Koyaishi, Liliana Castro, Lucas Campaner, Marcos, Regina Beck, Rita de Cássia, Robson Petroni, Rodolfo Gonçalves e Thalita Sanches. Obrigada pela amizade e boa convivência. Que a nossa amizade permaneça.

Ao Luís Amato, por toda ajuda com gráficos e análises estatísticas.

A Fran Foques, Maisa Bruschini e Mariane Colares, por toda cumplicidade, amizade e amor. Mesmo longe sempre serão minhas melhores amigas. Que nossa amizade continue persistindo ao tempo e distância.

Ao Guilherme, grande incentivador durante a realização deste trabalho. Obrigada por estar sempre ao meu lado. Que continuemos a compartilhar sonhos e conquistas.

A minha família, por todo amor, por acreditar em mim acima de tudo e por apoiar minha decisão de trilhar sozinha alguns caminhos. Amo muito vocês e a saudade é enorme.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

**AVALIAÇÃO DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA DE ELEMENTOS QUÍMICOS
PELA ANÁLISE DE LÍQUEN EPIFÍTICO NO CAMPUS DA CIDADE
UNIVERSITÁRIA DE SÃO PAULO**

ROSIANA ROCHO ROCHA

RESUMO

A poluição atmosférica tem sido tema frequente de pesquisas, devido aos efeitos que podem afetar a saúde dos seres vivos, o meio ambiente e clima. A fim de identificar as fontes de emissão dos poluentes e de seus efeitos, o método de biomonitoramento vem sendo estudado devido ao seu baixo custo e a possibilidade de amostragem em amplas áreas geográficas. Neste trabalho, para biomonitoramento passivo da poluição atmosférica no campus da Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira (CUASO) da Universidade de São Paulo, foi utilizado líquen epifítico da espécie *Canoparmelia texana*. Os líquens coletados em troncos de árvores de diferentes pontos da CUASO foram limpos, secos por liofilização e moídos para análise pelos métodos de espectrometria de fluorescência de raios X (XRFS) e análise por ativação neutrônica (NAA). Na XRFS as amostras preparadas na forma de pastilhas foram analisadas para determinação de As, Br, Ca, Cl, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Rb, S, Sr e Zn. Na NAA, alíquotas de amostras de líquens juntamente com padrões sintéticos de elementos foram irradiados no reator IEA-R1 e as atividades induzidas medidas em espectrômetro de raios gama para determinação de As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Rb, Sb, Sc, Se, U, V e Zn. A qualidade dos resultados analíticos foi avaliada pela análise de materiais de referência certificados. Seus resultados de desvios padrão relativos e de erros relativos foram inferiores a 15 % para a maioria dos elementos. Os valores de diferença padronizada ou E_n score obtidos foram inferiores a 1 indicando resultados satisfatórios. A homogeneidade da amostra de líquen foi avaliada tanto pela NAA como pela XRFS por meio das análises em replicatas e estes resultados indicaram a boa reprodutibilidade dos resultados em relação aos elementos determinados. Os resultados dos líquens da CUASO mostraram que as concentrações médias de As, Br, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Rb, Sb, Se e U foram mais altas do que daquelas das regiões consideradas não poluídas e para Fe, K, La, S,

V e Zn foram da mesma ordem de grandeza. O estudo da correlação entre os elementos apresentou alta correlação ($r > 0,7$) para elementos originários de fontes naturais e antrópicas. A análise de componentes principais (PCA) aplicada aos resultados teve seis componentes principais, onde os componentes 1 e 2 corresponderam a 52,9 % da variância dos dados. Os resultados dos fatores de enriquecimento (FE) calculados entre os líquens da CUASO e de uma região considerada limpa foram maiores que 1 para maioria dos elementos, indicando que estes elementos podem ser de fontes antrópicas. Pelos resultados obtidos conclui-se que a origem dos elementos determinados nos líquens da CUASO pode ser atribuída a fontes como a resuspensão de partículas de solo e emissões antrópicas.

ASSESSMENT OF ATMOSPHERIC POLLUTION OF CHEMICAL ELEMENTS BY EPIPHYTIC LICHEN ANALYSIS AT THE CAMPUS OF THE SÃO PAULO UNIVERSITY

ROSIANA ROCHO ROCHA

ABSTRACT

Air pollution has been a frequent topic of research, due to the effects that it can cause on the health of living organisms, environment and climate. In order to identify pollution sources and their effects, biomonitoring has been studied due to its low cost and possibility of sampling in wide geographic areas. In this study for passive biomonitoring of air pollution levels at the Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira (CUASO), University of São Paulo campus, epiphytic lichens of *Canoparmelia texana* species were used. The lichens collected from tree barks at different sampling sites in the CUASO were cleaned, freeze-dried and ground for analyses. Lichen samples were analyzed by X - ray fluorescence spectrometry (XRFS) and neutron activation analysis (NAA). For XRFS, cylindrical pellets of samples were prepared to determine As, Br, Ca, Cl, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Rb, S, Sr and Zn. For NAA, lichen sample aliquots along with synthetic elemental standards were irradiated both for short and long periods at the IEA-R1 nuclear research reactor. The induced activities were measured by a gamma ray spectrometer to determine As, Br, Ca Cd, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Rb, Sb, Sc, Se, U, V and Zn. The precision and accuracy of the results were evaluated by the analysis of certified reference materials (MRCs). Their results of relative errors and standard deviations were below 15% for most of the elements. The standardized difference or En score values were lower than |1| indicating satisfactory results. Replicate analyses of a lichen sample by XRFS and NAA, indicated good homogeneity of the sample for the elements determined. The lichen results showed that the mean concentrations of As, Br, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Rb, Sb, Se and U were higher in samples from CUASO than those from regions considered unpolluted. For Fe, K, La, S, V and Zn, they were of the same order of magnitude. The correlation study between the elements showed high correlation ($r > 0.7$) for elements originated from the natural and anthropogenic sources. The principal component analysis (PCA) applied to the results showed six major components, where components 1 and 2

accounted for 52.9 % of the variance of the data. Enrichment factors (EF) calculated for the results of lichens from CUASO and a region considered unpolluted were $EF > 1$ for most elements, showing that these elements may be from anthropogenic sources. From the results obtained in this study can be concluded that the elements found in lichens from CUASO can be originated from sources such as resuspension of soil particles and anthropogenic emissions.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	22
3. REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1 Poluição atmosférica	23
3.2 Considerações gerais sobre biomonitoramento	25
3.3 Considerações gerais sobre líquens	26
3.3.1 <i>Canoparmelia texana</i>	30
3.4 Os líquens como biomonitores	30
4. METODOLOGIAS	33
4.1 Análise por ativação com nêutrons	33
4.1.1 Princípio do método de análise por ativação com nêutrons	34
4.2 Espectrometria de fluorescência de raios X	38
4.2.1 Fundamento teórico da espectrometria de fluorescência de raios X	38
5. PARTE EXPERIMENTAL	42
5.1 Área de estudo	42
5.2 Coleta de líquens	44
5.3 Tratamento das amostras de líquens	46
5.4 Procedimento para análise por ativação com nêutrons	47
5.4.1 <i>Pesagem das amostras</i>	47
5.4.2 <i>Preparo dos padrões sintéticos de elementos</i>	48
5.4.3 <i>Procedimento para irradiações longas</i>	49
5.4.4 <i>Procedimento para irradiações curtas</i>	51
5.4.5 <i>Identificação de radioisótopos e cálculo das concentrações</i>	52
5.5 Procedimento para espectrometria de fluorescência de raios X	53
5.5.1 <i>Preparo das amostras</i>	53
5.5.2 <i>Procedimento das medições</i>	54
5.6 Análise dos materiais de referência certificados	56
5.7 Cálculos e análise estatística	57
5.7.1 <i>Cálculos dos limites de detecção e quantificação</i>	58
5.7.2 <i>Teste de Levene e Teste t de student</i>	59
5.7.3 <i>Correlação de Pearson</i>	59
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61

6.1	Resultados das análises dos materiais de referência certificados	61
6.2	Limites de detecção e de quantificação dos elementos em líquens	66
6.3	Verificação da homogeneidade das amostras de líquens	67
6.4	Resultados das análises das amostras de líquens	69
6.5	Comparação entre os resultados dos líquens obtidos pela análise por ativação com nêutrons e espectrometria de fluorescência de raios X	72
6.6	Análise dos resultados obtidos e mapas da distribuição das concentrações dos elementos nos líquens da CUASO	74
6.6.1	<i>Arsênio e antimônio</i>	74
6.6.2	<i>Bromo e cloro</i>	76
6.6.3	<i>Cromo, ferro e cobalto</i>	78
6.6.4	<i>Césio e rubídio</i>	80
6.6.5	<i>Cálcio e potássio</i>	80
6.6.6	<i>Magnésio e manganês</i>	81
6.6.7	<i>Escândio, lantânio, urânio e selênio</i>	82
6.6.8	<i>Cádmio e zinco</i>	83
6.6.9	<i>Cobre e vanádio</i>	86
6.6.10	<i>Enxofre e estrôncio</i>	88
6.7	Correlação entre os elementos determinados nos líquens	90
6.8	Análise de componentes principais (PCA)	92
6.9	Fator de enriquecimento	95
7.	CONCLUSÕES	97
	APÊNDICE A – Códigos das amostras de líquen, latitude, longitude, elevação (m) e breve descrição dos pontos de coleta	99
	APÊNDICE B – Resultados das concentrações dos elementos (mg kg ⁻¹) determinados pela NAA nos líquens da CUASO	100
	APÊNDICE C – Resultados das Concentrações dos elementos (mg kg ⁻¹) determinados por XRFS nos líquens da CUASO	103
	APÊNDICE D – Mapas de distribuição das concentrações de Cl, Cs, K, La, Mg, Mn, Rb, Sc, Se, e U nos líquens	105
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Classificação dos poluentes atmosféricos de acordo com características químicas.....	23
Tabela 3.2 Principais tipos de talos dos líquens.....	28
Tabela 5.1 Concentrações e massas dos elementos presentes nos padrões sintéticos utilizados nas irradiações.....	48
Tabela 5.2 Dados nucleares dos radioisótopos utilizados neste trabalho (IAEA, 1990)	53
Tabela 6.1 Concentrações dos elementos (mg kg^{-1}) nos materiais de referência IAEA 336 Lichen e INCT-TL-1 Tea Leaves determinados pelo método de NAA.....	62
Tabela 6.2 Concentrações dos elementos (mg kg^{-1}) nos materiais de referência IAEA 336 Lichen e INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs determinados pelo método de XRFS.....	63
Tabela 6.3 Limites de detecção e de quantificação (mg kg^{-1}) dos elementos na análise de líquens pela análise por ativação com nêutrons.....	66
Tabela 6.4 Limites de detecção e de quantificação (mg kg^{-1}) dos elementos na análise de líquens pela espectrometria de fluorescência de raios X.....	67
Tabela 6.5 Média das concentrações de elementos (mg kg^{-1}) na análise de uma amostra de líquen em triplicata obtidos na NAA.....	68
Tabela 6.6 Resultados das intensidades em contagens s^{-1} obtidos nas medições na análise de líquen pela XRFS.....	69
Tabela 6.7 Concentrações dos elementos (mg kg^{-1}) nos líquens coletados em diferentes pontos de amostragem da CUASO, das regiões limpas determinados pela NAA e valores da literatura.....	70

Tabela 6.8 Concentrações dos elementos (mg kg^{-1}) em líquens coletadas na CUASO e nas amostras das regiões consideradas limpas determinados por XRFS.....	71
Tabela 6.9 Comparação entre as concentrações (mg kg^{-1}) dos elementos determinados nos líquens pelos métodos de NAA e XRFS.....	72
Tabela 6.10 Resultados das correlações de Pearson entre os elementos determinados nos líquens da CUASO.....	91
Tabela 6.11 Resultados da análise de componentes principais (PCA) aplicada aos resultados de elementos determinados nos líquens da CUASO.....	93
Tabela A.1 Códigos das amostras de líquen, latitude, longitude, elevação (m) e breve descrição dos pontos de coleta.....	99
Tabela B.1 Resultados das concentrações (mg kg^{-1}) de As, Br, Ca, Cd, Cl, Co e Cr determinados pela NAA nos líquens da CUASO.....	100
Tabela B.2 Resultados das concentrações (mg kg^{-1}) de Cs, Cu, Fe, K, La, Mg e Mn determinados pela NAA nos líquens da CUASO.....	101
Tabela B.3 Resultados das concentrações (mg kg^{-1}) de Rb, Sb, Sc, Se, U, V e Zn determinados pela NAA nos líquens da CUASO.....	102
Tabela C.1 Resultados das concentrações (mg kg^{-1}) de As, Br, Ca, Cl, Cr, Cu e Fe determinados por XRFS nos líquens da CUASO.....	103
Tabela C.2 Resultados das concentrações (mg kg^{-1}) de K, Mn, Rb, S, Sr e Zn determinados por XRFS nos líquens da CUASO.....	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Estrutura geral de um líquen, mostrando a organização em camadas (Redón 1985, mod. apud Spielmann e Marcelli, 2006).....	27
Figura 3.2 Imagem de um exemplar de líquen da espécie <i>C. texana</i> aderido ao tronco de uma árvore próxima as dependências do Centro de Reator de Pesquisas do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (CRPq – IPEN) Escala da imagem 1:3 cm. Fonte: autora	30
Figura 4.1 – Esquema da sequência de eventos de uma reação nuclear do tipo (n,γ) (Fonte: NMI, 2015).....	34
Figura 4.2 Esquema das etapas de emissão de raios X. Etapa 1: O átomo é excitado e ocorre a ejeção de um elétron de uma camada interna (K), <i>efeito fotoelétrico</i> . Etapa 2: O elétron de uma camada mais externa (L) se move para ocupar a vacância na camada orbital. (Fonte: UTEP, 2015)	39
Figura 5.1 Imagem do mapa da Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira. Fonte: (USP, 2014).....	43
Figura 5.2 Mapa dos pontos de coleta das amostras de líquens na CUASO.....	45
Figura 5.3 Pesagem de líquen em invólucro de polietileno. Imagem (A) mostra a amostra no invólucro de polietileno sobre o prato da balança. Imagem (B) mostra o invólucro de polietileno contendo amostra já selado. (Fonte: Autora do trabalho)...	47
Figura 5.4 Preparação de padrões sintéticos de elementos. Imagem (A) das tiras de papel filtro <i>Whatman</i> nº 40. Imagem (B) da solução padrão sendo pipetadas sobre as tiras de papel filtro. (Fonte: Autora do trabalho)	49
Figura 5.5 Imagem do dispositivo de alumínio utilizado em irradiações longas, “coelho”, e de um suporte de aço inoxidável, “panelinha” (Fonte: Autora do trabalho).....	50

Figura 5.6 Imagem do dispositivo de polietileno utilizado em irradiações curtas, “coelho”, dois padrões sintéticos e de uma amostra de líquen (Fonte: Autora do trabalho)	52
Figura 5.7 Fotos dos materiais utilizados no preparo de pastilhas para XRFS. Imagem (A): prensa hidráulica. Imagem (B): Compactador. (Fonte: Autora do trabalho)	54
Figura 5.8 Imagem (A) do tubo de raios X e detector. Imagem (B) sistema de detecção da técnica de XRFS. Imagem (C) destaque do suporte de amostra contendo uma pastilha. (Fonte: Autora do trabalho)	55
Figura 6.1 Valores de E_n score obtidos para os materiais de referência certificados IAEA-336 Lichen e INCT-TL-1 Tea leaves analisados pelo método de análise por ativação com nêutrons.....	64
Figura 6.2 Valores de E_n score obtidos para os materiais de referência certificados IAEA-336 Lichen e INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs analisados pelo método de espectrometria de fluorescência de raios X.....	65
Figura 6.3 Valores de HORRAT obtidos para elementos determinados nos materiais de referência certificados IAEA-336 Lichen e INCT-TL-1 Tea leaves analisados pelo método de análise por ativação com nêutrons.....	65
Figura 6.4 Gráficos comparativos das médias das concentrações ($M \pm DP$) dos elementos determinados nos líquens pela NAA e XRFS (Resultados em $mg\ kg^{-1}$ a menos que esteja indicado)	73
Figura 6.5 Mapa da distribuição das concentrações de As nos líquens da CUASO.....	75
Figura 6.6 Mapa da distribuição das concentrações de Sb nos líquens da CUASO.....	76
Figura 6.7 Mapa da distribuição das concentrações para Br nos líquens da CUASO.....	77

Figura 6.8 Mapa da distribuição das concentrações para Cr nos líquens da CUASO.....	78
Figura 6.9 Mapa da distribuição das concentrações para Co nos líquens da CUASO.....	79
Figura 6.10 Mapa da distribuição das concentrações para Fe nos líquens da CUASO.....	79
Figura 6.11 Mapa da distribuição das concentrações para Ca nos líquens da CUASO.....	81
Figura 6.12 Mapa da distribuição das concentrações para Cd nos líquens da CUASO.....	85
Figura 6.13 Mapa da distribuição das concentrações para Zn nos líquens da CUASO.....	85
Figura 6.14 Mapa da distribuição das concentrações para Cu nos líquens da CUASO.....	87
Figura 6.15 Mapa da distribuição das concentrações para V nos líquens da CUASO.....	87
Figura 6.16 Mapa da distribuição das concentrações para S nos líquens da CUASO.....	89
Figura 6.17 Mapa da distribuição das concentrações para Sr nos líquens da CUASO.....	90
Figura 6.18 Gráfico das duas componentes principais (PC1) e (PC2) da análise efetuada nos resultados obtidos nos líquens da CUASO.....	94
Figura 6.19 Fatores de enriquecimento (FE) para os elementos determinados nos líquens da CUASO.....	96
Figura D.1 Mapa da distribuição das concentrações de Cl nos líquens da CUASO.....	105

Figura D.2 Mapa da distribuição das concentrações de Cs nos líquens da CUASO.....	105
Figura D.3 Mapa da distribuição das concentrações de K nos líquens da CUASO.....	105
Figura D.4 Mapa da distribuição das concentrações de La nos líquens da CUASO.....	106
Figura D.5 Mapa da distribuição das concentrações de Mg nos líquens da CUASO.....	106
Figura D.6 Mapa da distribuição das concentrações de Mn nos líquens da CUASO.....	106
Figura D.7 Mapa da distribuição das concentrações de Rb nos líquens da CUASO.....	107
Figura D.8 Mapa da distribuição das concentrações de Sc nos líquens da CUASO.....	107
Figura D.9 Mapa da distribuição das concentrações de Se nos líquens da CUASO.....	107
Figura D.10 Mapa da distribuição das concentrações de U nos líquens da CUASO.....	108

LISTA DE SIGLAS

As - Arsênio

Br - Bromo

Ca – Cálcio

Cd- Cádmio

Cl - Cloro

Co - Cobalto

Cr - Cromo

Cs - Césio

Cu - Cobre

CUASO – Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira

Fe - Ferro

FE – Fator de Enriquecimento

K – Potássio

La - Lantânio

Mg – Magnésio

Mn - Manganês

NAA- Análise por ativação com nêutrons

PC – Componente principal

PCA – Análise de componentes principais

Rb – Rubídio

RMSP – Região Metropolitana de São Paulo

S – Enxofre

Sb – Antimônio

Sc – Escândio

Se – Selênio

Sr – Estrôncio

U – Urânio

USP- Universidade de São Paulo

V - Vanádio

XRFS – Espectrometria de fluorescência de raios X

Zn - Zinco

1. INTRODUÇÃO

Os impactos ambientais ocasionados pela poluição atmosférica decorrente do desenvolvimento tecnológico, industrial, do aumento da frota de veículos e de construções nas grandes cidades têm se tornado potencialmente grave para a saúde humana, além de alterar os ecossistemas e o clima.

As atividades humanas têm alterado a composição atmosférica e é esperado que estas alterações continuem em níveis elevados devido à queima de combustíveis fósseis, ao desmatamento tropical e às outras atividades industriais (Monks *et al.*, 2009).

Consequentemente, o monitoramento da poluição aérea e a avaliação dos seus efeitos à saúde têm sido tema frequente de pesquisas em diversos países. Nestas pesquisas têm sido verificadas as relações existentes entre a exposição da população a elevadas concentrações de poluentes e a ocorrência de doenças cardiopulmonares, a mortalidade, o número de internações hospitalares de crianças e adolescentes, entre outros (Pope *et al.*, 2008; Braga *et al.*, 2001).

Além disso, pesquisas e discussões globais têm sido relacionadas à poluição do ar com diversas alterações climáticas e impactos negativos sobre o meio ambiente. Desse modo, o monitoramento da qualidade do ar tem se tornado uma questão importante nos dias de hoje. Atualmente, vários métodos estão disponíveis para medir os poluentes do ar, como os métodos que utilizam instrumentos sofisticados e estações de monitoramento (Bekteshi *et al.*, 2015). Entretanto, muitas vezes estes métodos de monitoramento da qualidade do ar apresentam complexidade devido a várias razões, como custos elevados de instrumentação, e também devido ao grande número de pontos de amostragens necessários para monitoração de áreas urbanas relativamente pequenas.

Há uma demanda crescente de técnicas de monitoramento de qualidade do ar que sejam facilmente aplicadas em diferentes situações. Uma técnica econômica e eficiente para monitorar a qualidade do ar é a de biomonitoramento. Esta técnica permite obter os níveis de poluentes em amplas regiões por meio da avaliação de quaisquer mudanças no comportamento no organismo do monitor ou

das concentrações de substâncias específicas encontradas nos tecidos do monitor (Kularatne e Freitas, 2013; Wolterbeek, 2002).

Os líquens, em especial, são amplamente utilizados como biomonitores (Gerdol *et al.*, 2014; Paoli *et al.*, 2015; Broudreault *et al.*, 2013) devido às suas características singulares, como a capacidade de sobreviver em locais de grande estresse climático, além de ser um organismo simbiótico de crescimento lento, o que permite avaliar a deposição de poluentes por um longo período de tempo. Estas características permitem usar os líquens como biomonitores da poluição atmosférica para mapear os níveis de poluentes em extensas áreas geográficas.

Megacidades como Tóquio, Cidade do México, Nova Iorque, São Paulo e Nova Déli estão entre as cidades mais populosas do mundo. São Paulo é a cidade brasileira com maior número de habitantes, atualmente com mais de 11 milhões (IBGE, 2014), sendo que na Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) o número de pessoas ultrapassa os 20 milhões (IBGE, 2014). A influência da atividade humana em regiões muito populosas acarreta problemas graves, como a habitação, a eliminação de resíduos e poluição do ar local e regional, entre outros (Monks, *et al.*, 2009).

Investigações sobre a poluição do ar na RMSP foram realizadas por meio de biomonitoramento utilizando a bromélia *Tillandsia usneoides* L. (Figueiredo *et al.*, 2007) e também líquens da espécie *Canoparmelia texana* (Saiki *et al.*, 2007; Saiki *et al.*, 2014) coletados em pontos próximos a rede de monitoramento da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

Dando continuidade a estes trabalhos usando a espécie *C. texana*, resolveu-se fazer um estudo de biomonitoramento passivo com maior resolução espacial, por meio da análise de líquens coletados em diferentes pontos da Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira (CUASO) da Universidade de São Paulo (USP). A CUASO tem sido considerada uma região limpa de melhor qualidade ambiental devido às áreas verdes com diversas espécies arbóreas. Também a Superintendência de Gestão Ambiental da Universidade de São Paulo está desenvolvendo uma política ambiental nos seus oito campi (JORUSP, 2015) que inclui a CUASO. Sendo assim, julgou-se de grande interesse fazer um estudo de biomonitoramento nesta área, de modo a contribuir para a preservação da qualidade do ar.

Os resultados a serem obtidos neste estudo são de grande interesse para identificação dos elementos presentes na atmosfera da CUASO assim como para avaliação da variabilidade das concentrações destes elementos entre diferentes pontos de amostragem, os quais podem contribuir como base de dados para futuros estudos.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral desta pesquisa foi avaliar o nível de poluição aérea de elementos químicos no campus da Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira (CUASO), da Universidade de São Paulo, por meio de biomonitoramento passivo usando líquen da espécie *Canoparmelia texana*.

Para atingir este objetivo, foi proposta a realização das seguintes atividades:

- Coleta e preparo de amostras de líquens.
- Obtenção das concentrações de elementos químicos nas amostras de líquens, coletadas em diferentes pontos da CUASO e em regiões consideradas limpas.
- Avaliação da precisão e exatidão dos resultados por meio da análise de materiais de referência certificados (MRCs).
- Tratamento dos dados das análises de líquens para estudo comparativo entre os resultados obtidos nos líquens coletados em diferentes pontos da área de estudo (CUASO) e entre valores obtidos nos líquens da região considerada não poluída.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Poluição atmosférica

A poluição do ar é a presença no ambiente aéreo livre de um ou mais contaminantes do ar em quantidades suficientes que, isoladamente ou em associação com outras emissões, devido à sua concentração e duração, podem ser prejudiciais ao ser humano, planta ou vida animal, ou causar danos à propriedade (EPA, 2010).

Os poluentes podem ser classificados como *primários*, quando emitidos diretamente pelas fontes de emissão, ou como *secundários*, quando são formados por meio de reação química entre poluentes e/ou constituintes naturais da atmosfera. Estes poluentes também podem ser classificados de acordo com suas características moleculares conforme apresentados na Tabela 3.1 (CETESB, 2014).

Tabela 3.1 Classificação dos poluentes atmosféricos de acordo com características químicas.

Poluentes atmosféricos	Características moleculares dos poluentes
Compostos de enxofre	SO ₂ , SO ₃ , compostos de enxofre reduzido (H ₂ S, mercaptanas, dissulfeto de carbono e etc.), sulfatos
Compostos de nitrogênio	NO, NO ₂ , NH ₃ , HNO ₃ , nitratos
Compostos orgânicos	Hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos orgânicos
Monóxido de carbono	CO
Compostos halogenados	HCl, HF, cloretos, fluoretos
Metais pesados	Pb, Cd, As, Ni e etc
Material particulado	Mistura de compostos no estado solido ou líquido
Oxidantes fotoquímicos	O ₃ , formaldeído, acroleína, PAN e etc

Fonte: CESTEB, 2014.

Segundo a legislação brasileira atual (CONAMA03/90), os padrões para qualidade do ar são estabelecidos por meio de sete indicadores, a saber: partículas

totais em suspensão (PTS), fumaça, partículas inaláveis (PI ou PM₁₀), dióxido de enxofre (SO₂), monóxido de carbono (CO), ozônio (O₃) e dióxido de nitrogênio (NO₂) (MMA, 2014). Todos estes indicadores, de modo geral, podem provocar doenças principalmente em pessoas que permanecem muito tempo em locais poluídos.

As partículas totais em suspensão, a fumaça e as partículas inaláveis representam materiais líquidos e sólidos em suspensão na atmosfera, como poeira, pó e fuligem. Emissões de SO₂ estão relacionadas ao uso de combustível fóssil, tanto industrial quanto veicular. Já a emissão de CO está relacionada com processos de combustão tanto de fontes móveis, motores à gasolina, diesel ou álcool, quanto em fontes industriais. O ozônio é formado por reações de hidrocarbonetos e óxidos de nitrogênio presentes no ar, sob radiação solar. O dióxido de nitrogênio é formado pela reação do óxido de nitrogênio e o oxigênio reativo presente na atmosfera (MMA, 2014).

Na Região Metropolitana de São Paulo (RMSP), estes poluentes são monitorados pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB devido aos efeitos adversos que causam para os seres vivos e por sua maior frequência na atmosfera. Desde a década de 70, a CETESB mantém redes de monitoramento da qualidade do ar para avaliar os níveis de poluição atmosférica em diferentes escalas de abrangência. Inicialmente, o monitoramento era efetuado, exclusivamente, por estações manuais, as quais são utilizadas ainda hoje em vários municípios. A rede de monitoramento da CETESB tem 53 estações automáticas e 29 pontos de monitoramento manual no Estado de São Paulo (CETESB, 2014). Porém, as redes de monitoramento não conseguem abranger todas as localidades de interesse, principalmente, em locais remotos bem como não identificam os elementos químicos presentes no material particulado. Além disso, a instalação e manutenção de estações de coleta de amostras de ar necessitam de equipamentos sofisticados de alto custo, manutenção constante e pessoas com treinamento adequado.

Portanto, o uso de biomonitores na avaliação da qualidade do ar é uma alternativa economicamente viável, de fácil amostragem para monitoramento ambiental da poluição do ar atmosférico que permite determinar e quantificar os níveis de elementos químicos no ar atmosférico.

3.2 Considerações gerais sobre biomonitoramento

A técnica de biomonitoramento utiliza organismos vivos que reagem às alterações ambientais, para obter informações sobre parte do ambiente (Khairudin *et al.*, 2014; Sloof e Wolterbeek, 1993).

A fim de evitar possíveis dúvidas sobre a terminologia do que se entende por biomonitores, bioindicadores, biomonitoramento ativo e biomonitoramento passivo neste trabalho são utilizadas as definições de Markert (2007):

- *Bioindicador* – é definido como um organismo (ou parte de um organismo ou de uma comunidade de organismos) que contém informação da qualidade do meio ambiente (ou a uma parte do meio ambiente).

- *Biomonitor* – um organismo (ou parte de um organismo ou de uma comunidade de organismos) é considerado biomonitor, quando contém informações dos aspectos qualitativos e quantitativos da qualidade do ambiente.

- *Bioindicação ativa* (biomonitoramento) se entende por bioindicadores (biomonitores) criados em laboratórios os quais são expostos de forma padronizada no campo por um período de tempo definido.

- *Bioindicação passiva* (biomonitoramento) é a utilização de organismos que já estão inseridos naturalmente no ecossistema a ser estudado.

O uso de bioindicadores surgiu como uma alternativa aos métodos convencionais na avaliação da qualidade do ar. O biomonitoramento oferece a oportunidade de determinar o padrão de distribuição de poluentes em larga escala (Nogueira, 2006). Além disso, a utilização de plantas para o diagnóstico ambiental apresenta vantagens em comparação à utilização de filtros de ar e coletores de deposição, tais como a facilidade da coleta de amostras e o baixo custo (Wolterbeek, 2002).

Outra vantagem da técnica de biomonitoramento sobre a técnica instrumental tradicional é a possibilidade de estimar os efeitos da poluição atmosférica não apenas nas áreas urbanas, mas também em ambientes remotos (Giordani, 2007). Portanto, os biomonitores podem ser utilizados no mapeamento de locais específicos a fim de investigar os níveis de poluentes específicos desses locais (Szczepaniak e Biziuk, 2003).

Os seres vivos em geral, são indicadores de qualquer modificação natural ou antrópica causada aos ambientes. Alguns são sensíveis, outros mais

resistentes (Mazzitelli *et al.*, 2006). Assim sendo, para que um organismo seja adequado para aplicação como monitor deve satisfazer alguns critérios relevantes, a saber (Sloof, 1993):

- Os organismos devem ser comuns na área de interesse.
- Disponíveis em qualquer momento ou época.
- O monitor deve ser tolerante aos poluentes em níveis relevantes.
- A amostragem e preparação das amostras devem ser fáceis e rápidas.

Muitos tipos de organismos monitores têm sido utilizados no biomonitoramento da poluição do ar, como os líquens (Saiki *et al.*, 2014), os musgos (Gerdol *et al.*, 2014), as cascas de árvores (Baptista *et al.*, 2008), as bromélias (Markert *et al.*, 2011) entre outros.

Os líquens estão entre os organismos mais utilizados em estudos de biomonitoramento devido à sua imediata resposta aos impactos ambientais (Mazzitelli *et al.*, 2006).

Segundo Seaward (1993), os líquens são distribuídos em toda parte e sobrevivem em locais de grande variabilidade ambiental e suas características fisiológicas são sensíveis às perturbações naturais e interferências humanas relativas a poluição do ar. O seu valor como monitores de poluição do ar é indiscutível.

Face ao exposto serão utilizados neste trabalho, para biomonitoramento passivo, os líquens da espécie *Canoparmelia texana*, de modo que serão apresentados a seguir considerações sobre este biomonitor.

3.3 Considerações gerais sobre líquens

Os líquens são organismos simbióticos, formados por uma associação entre fungo e alga. As algas podem pertencer ao Reino *Monera*, no caso das cianobactérias (antigamente chamadas algas azuis), ou ao Reino *Protista*, no caso das algas verdes. Já os fungos (Reino *Fungi*) pertencem, em sua grande maioria, ao filo *Ascomycota* (98% dos líquens), com poucos representantes no filo *Basidiomycota* (que engloba os cogumelos, por exemplo). Portanto, o termo

“**líquen**” refere-se a estrutura biológica resultante de associação entre estas espécies (Spielmann e Marcelli, 2006).

Nessa associação, a **alga** chamada de **fotobionte**, realiza a fotossíntese, enquanto o **fungo** chamado de **micobionte** supri a alga com água e minerais (Conti e Cecchetti, 2001).

Na maioria dos líquens, as algas se localizam entre camadas fechadas de tecido fúngico sem cutícula protetora (Richardson e Nieboer, 1981). A Fig. 3.1 mostra a estrutura geral de um líquen (Spielmann e Marcelli, 2006).

Figura 3.1 Estrutura geral de um líquen, mostrando a organização em camadas (Redón 1985, mod. apud Spielmann e Marcelli, 2006).

A fisiologia dos líquens é tal que eles são capazes de absorver, indiscriminadamente, uma grande variedade de substâncias a partir do ar ambiente, através de toda a sua superfície (Aznar *et al*, 2008; Conti e Cecchetti, 2001).

A interface entre o ambiente e os tecidos interiores do líquen ocorre através do talo (Kularatne e Freitas, 2013). O talo de um líquen representa a maior parte do corpo do líquen e pode até ser reconhecido como uma minicomunidade, onde vivem indivíduos de espécies e até reinos diferentes de maneira organizada (Spielmann e Marcelli, 2006).

Os tipos de talo definem os níveis de família e gênero dos líquens (Grube e Hawksworth, 2007) de modo que a identificação da espécie é feita pelo talo (Spielmann e Marcelli, 2006). Os principais tipos de talos dos líquens são apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 Principais tipos de talos dos líquens.

<p>Filamentoso: Talo formado por filamentos frouxos e entrelaçados. Ex: <i>Coenogonium</i>, Brasil (Spielmann e Marcelli, 2006)</p>
<p>Crostoso: Talo bastante achatado e aderido ao substrato Ex: <i>Haematomma ochroleucum</i>, Noruega (NHM, 2014)</p>
<p>Folioso: Talo diferente do crostoso por estar menos aderido ao substrato. O talo é preso por estruturas próprias Ex: <i>Canoparmelia texana</i>, Brasil (fonte: autora)</p>
<p>Fruticoso: Talo formado por ramos que podem ser cilíndricos ou achatados Ex: <i>Ramalina stenospora</i>, Florida (LNAI, 2014).</p>
<p>Esquamuloso: Talo formado por pequenas escamas agregadas Ex: <i>Normandina pulchella</i>, Irlanda (IRISHLICHENS, 2014)</p>
<p>Difórmico: O talo é uma combinação dos tipos crostoso-fruticoso ou escamoso-fruticoso Ex: <i>Cladonia deformis</i>, Inglaterra (LNAI, 2014)</p>

Os líquens se colonizam em cascas de árvores, rochas, solo e ocorrem em todos os ecossistemas terrestres, cobrindo cerca de 6 % da superfície terrestre do planeta. São dominantes em regiões de tundra do Ártico e da Antártida, onde eles formam uma parte importante da cadeia alimentar (Purvis e Pawlik-Skowronska, 2008).

Estes ecossistemas dominados por líquens são locais onde as plantas vasculares estão em seus limites fisiológicos, enquanto o líquen ganha uma

vantagem ecológica distinta da sua capacidade de sobreviver ao frio extremo, calor e estresse hídrico (Honegger, 1991).

Os líquens apresentam crescimento relativamente lento (crescem apenas alguns milímetros por ano) e são organismos perenes. Sem cutículas protetoras e raízes, os líquens absorvem nutrientes e metais da deposição atmosférica úmida e seca (Purvis e Pawlik-Skowronska, 2008).

A deposição úmida envolve qualquer tipo de evento de precipitação que remove do ar os aerossóis e material particulado do ar, enquanto a deposição seca envolve a fixação de gases ou material particulado transportadas pelo ar. Elementos depositados úmidos e secos acumulados no talo do líquen podem ser transportados através da superfície em espaços intercelulares (Clair *et al.*, 2002).

Os líquens podem absorver água até cerca de 100 por cento do seu peso seco. O teor de água do talo do líquênico, rapidamente, entra em equilíbrio com o ambiente circundante. Como consequência, em condições úmidas, as substâncias tóxicas dissolvidas na água da chuva têm acesso fácil às células dentro do talo.

Outra característica dos líquens é a sua capacidade de acumular substâncias do ambiente por processos que incluem a absorção ativa de ânions, a adsorção passiva de cátions por meio de um processo de troca iônica e a retenção de partículas. Sua considerável capacidade de absorção para íons metálicos pode ser explicada pela presença de sítios de ligação de metal, tanto na alga quanto no fungo. Esses sítios são, em grande parte, extracelulares, funcionando de uma forma comparável às resinas de troca catiônicas sintéticas (Richardson e Nieboer, 1981).

A capacidade dos líquens de absorver substâncias presentes na atmosfera faz com que estes organismos sejam os mais utilizados em estudos de biomonitoramento da poluição do ar. Líquens de várias espécies têm sido utilizados pelos pesquisadores em diferentes áreas de estudo (Saiki *et al.*, 2014; Gerdol *et al.*, 2014; Paoli *et al.*, 2012; Jeran *et al.*, 2002; Kirchner e Daillant, 2002).

Neste trabalho, a espécie de líquen utilizada é a *Canoparmelia texana* (Tuck.) Elix & Hale. A sua escolha se deve à sua presença natural na região de estudo, localizada na cidade de São Paulo.

3.3.1 *Canoparmelia texana*

A espécie *C. texana* é um líquen epifítico folioso da família *Parmeliaceae*, com ampla distribuição em ambientes abertos e bastante comum nos cerrados e áreas urbanas do Brasil. Esta espécie possui talo circular com crescimento radial, o qual está relacionado com a fotossíntese e a umidade do local onde se encontra.

Na realidade, enquanto as outras espécies desaparecem de regiões poluídas, *C. texana* é muito mais abundante nessas regiões do que nos ambientes naturais não poluídos, o que a caracteriza como uma espécie indicadora de poluição (Coccaro, 2001; Marcelli, 1998).

C. texana pode ser encontrada em praticamente todos os locais na cidade de São Paulo. Esta espécie é muito tolerante e cobre grandes áreas de troncos em locais expostos, como os parques e no campus da USP da capital (Marcelli, 1998). A Figura 3.2 mostra a fotografia de um exemplar da espécie de líquen *C. texana* aderida ao tronco de uma árvore.

Figura 3.2 Imagem de um exemplar de líquen da espécie *C. texana* aderido ao tronco de uma árvore próxima as dependências do Centro de Reator de Pesquisas do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (CRPq – IPEN) Escala da imagem 1:3 cm. Fonte: autora

3.4 Os líquens como biomonitores

Como os líquens vêm sendo amplamente analisados para estudos ambientais, neste item será apresentada um levantamento bibliográfico dos

trabalhos em que estas espécies são utilizadas como biomonitores de poluição atmosférica.

Desde os meados do século XIX, a utilização de líquens como biomonitores vem sendo amplamente difundida em vários países. Verifica-se que os países do continente europeu têm apresentado um maior número de pesquisas relacionadas com a utilização de líquens para avaliar os níveis da poluição atmosférica.

Scerbo *et al* (1999) utilizaram líquens para avaliar a qualidade do ar na província de Livorno Toscana, Itália. Neste trabalho foram determinados os seguintes elementos: As, Cd, Cr, Ni, Pb, V, Zn e Hg. As suas análises revelaram um nível generalizado de poluição atmosférica proveniente de impacto antrópico na área de estudo. Os resultados mostraram altas concentrações de Hg, Cd, Pb, e V na atmosfera da região estudada. Os autores concluíram que estes resultados podem estar relacionados com a presença de siderurgias, fábricas de produtos químicos, processos de combustão relacionados com a produção de energia e emissões veiculares.

Brunialti e Frati (2007) avaliaram tendências temporais durante um período de sete anos (1996-2003) da variação das concentrações de nove elementos (Cd, Cr, Ni, Pb, V, Cu, Zn, Fe e Al) utilizando a espécie de líquen folioso *Xanthoria parietina*. O estudo foi realizado em líquens da Província de Ancona (parte central da Itália) e cujo resultado revelou que as concentrações de Al, Cr, Fe, Ni e Zn foram mais altas em líquens de 2003, sugerindo que a área de estudo foi submetida a uma carga maior destes metais. No entanto, a concentração de Pb diminuiu em 2003 e os autores relataram que desde 1992 houve na Itália a proibição da adição de composto de chumbo na gasolina. Para Cd, Cu e V os autores não observaram diferenças substanciais. Face aos resultados obtidos, os autores concluíram que o biomonitoramento ao longo do tempo pode se revelar útil na detecção dos principais elementos associados a poluição do ar.

Khairudin *et al* (2014) determinaram elementos traço em líquens epifíticos usando a técnica de análise por ativação com nêutrons (NAA). Os autores determinaram 14 elementos (As, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Rb, Sc, Sm, Th e Zn) em amostras de líquen (*Parmotrema sp.*) coletados em sete locais em na cidade universitária Bandar Baru Bangi, da província de Sul Klang. As altas concentrações encontradas para As, Cr e Zn foram relacionadas a fontes

antrópicas na área de estudo. Os autores deste trabalho salientaram que os líquens são biomonitores adequados para a identificação de potenciais elementos traço poluentes no ar.

Boamponsen *et al* (2010) avaliaram a deposição de metais pesados na atmosfera de Tarkwa, distrito de mineração de ouro em Gana. A técnica de análise por ativação com nêutrons (NAA) foi utilizada na determinação dos elementos As, Al, Cd, Co, Cu, Hg, Mn, Sb, Th e V em amostras de líquen da espécie *Parmelia sulcata*. Aos resultados analíticos obtidos foram aplicados métodos estatísticos multivariados e determinados os índices de poluição. Seus resultados indicaram que atividades agrícolas, fontes antrópicas não pontuais e poeira natural do solo podem ter contribuído muito para a presença de Al, Cu, Mn e V nos líquens. Além disso, a atividade de mineração de ouro foi uma importante fonte de emissão dos 10 elementos determinados na atmosfera da área de estudo. Os autores concluíram que os resultados obtidos constituem uma ferramenta valiosa para o desenvolvimento de estratégias eficazes para monitoramento do ar em áreas influenciadas pelas atividades de mineração de ouro.

Paoli *et al* (2012) utilizaram líquen epifítico da espécie *Flavoparmelia caperata* L. (Hale) como indicadores de poluição em torno de um aterro sanitário no centro da Itália durante ao longo de 14 anos de gestão de resíduos. Segundo os autores, este foi o primeiro estudo realizado usando líquens para monitorar o impacto ambiental de aterros sanitários. Os elementos As, Cd, Cr, Ni Pb, V e Zn foram selecionados para estudo por apresentarem risco toxicológico e o Fe por estar associado a contaminação por solo. Estes elementos foram determinados pela técnica de espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Os autores verificaram uma diminuição da diversidade líquênica limitada na região frontal do aterro, bem como um aumento na deposição Cd, Cr, Fe e Ni ao longo do período de 14 anos. Os autores concluíram que o monitoramento usando líquens pode fornecer informações essenciais aos estudos de impacto ecológico.

A revisão bibliográfica realizada neste trabalho indica que os líquens continuam sendo amplamente usados como biomonitores bastante eficazes da poluição atmosférica.

4. METODOLOGIAS

4.1 Análise por ativação com nêutrons

A análise por ativação é um método quantitativo de análise química baseado na ativação nuclear de elementos presentes nas amostras analisadas (Alfassi, 1990). A ativação nuclear acontece quando há a interação entre um núcleo estável e partículas incidentes ou ativadoras (n , p , α , γ , etc.) e há formação de um núcleo radioativo e emissão de partículas (n , p , α , γ , etc.).

Em geral, a ativação é induzida por um fluxo de nêutrons de um reator nuclear. Neste processo os isótopos estáveis são transformados em isótopos radioativos ou radionuclídeos artificiais, e há medição da radioatividade induzida aos elementos do material analisado. Este método é conhecido como Análise por Ativação com Nêutrons (NAA).

Enrico Fermi foi um dos primeiros, nos anos 1930, utilizando nêutrons, a produzir isótopos radioativos artificiais. Após a descoberta do nêutron por Chadwick em 1932, Frédéric e Irene Joliot Curie descobriram em 1934 a radioatividade induzida. George de Hevesy e Hilde Levi seguiram pesquisando sobre a irradiação de elementos de terras raras e os resultados dessas pesquisas marcaram o início da análise por ativação com nêutrons em 1935 (Bode, 2011). O estudo de G. Hevesy e H. Levi foi o primeiro trabalho publicado sobre este método no ano de 1936.

Em 1949, Boyd sugeriu o termo “*análise por ativação*” e no mesmo ano Brown e Goldberg demonstraram a viabilidade do uso de um reator nuclear como fonte de um alto fluxo de nêutrons (Bode, 2011).

Desde então, houve o desenvolvimento dos reatores nucleares, detectores semicondutores, computadores e softwares consolidando a NAA como um método analítico de análise multielementar de alta resolução e eficiência.

O crescente desenvolvimento e aperfeiçoamento da NAA tem possibilitado o uso desta técnica em inúmeros campos de aplicação, tais como, de pesquisas ambientais, geológicas, nutricionais, biomedicina, arqueologia entre outros.

4.1.1 Princípio do método de análise por ativação com nêutrons

O princípio do método da análise por ativação com nêutrons consiste na interação do núcleo de um elemento da amostra com um feixe de nêutrons seguida da medida da radioatividade do radionuclídeo formado.

Na irradiação, quando um nêutron interage com um núcleo alvo (A_ZX) por meio de uma colisão não elástica, forma-se um núcleo composto (${}^{A+1}_ZX^*$) num estado excitado. O núcleo composto, quase que instantaneamente, sofre desexcitação para uma configuração mais estável, por meio da emissão de raios gama "pronto" característicos. O tempo de vida do núcleo composto é da ordem de 10^{-16} a 10^{-9} s.

Em geral, esta nova configuração produz um núcleo radioativo (${}^{A+1}_ZX$), que emite uma partícula β^- e decai para um novo nuclídeo (${}^{A+1}_{Z+1}X^*$) que também sofre desexcitação por meio da emissão de um ou mais raios gama característico. Este processo de interação para formação de um radioisótopo é representado no esquema da reação nuclear apresentado na Figura 4.1.

Figura 4.1 Esquema da sequência de eventos de uma reação nuclear do tipo (n,γ) (Fonte: NMI, 2015).

A radiação gama de desexcitação é medida no método de NAA, permitindo a análise qualitativa e quantitativa do elemento que deu origem a este radioisótopo ou radionuclídeo. Como cada radionuclídeo decai com uma determinada meia vida e como a maioria deles emite um ou mais raios gama, a identificação do radioisótopo é feita pela meia vida e energias dos raios gama.

Considerando que após certo tempo de irradiação (t_i), a atividade induzida de um elemento em taxas de contagens (T) é obtida pela relação (De Soete *et al.*, 1972):

$$T = \frac{\varepsilon I_y N m \theta [1 - e^{-\lambda t_i}]}{M} \quad (1)$$

Sendo ε a eficiência do detector, N a constante de Avogadro, M massa atômica, θ a abundancia isotópica e m a massa do elemento, I_y é a intensidade da transição gama utilizada na análise e λ a constante de desintegração.

A determinação das concentrações dos elementos de interesse presentes nas amostras pode ser feita por meio método comparativo, onde um padrão do elemento de massa conhecida é irradiado e medido nas mesmas condições da amostra. Assim sendo as taxas de contagem para amostra e padrão (T_a e T_p) são obtidas pelas equações (2) e (3):

$$T_{a0} = \frac{\varepsilon I_y N m_a \theta [1 - e^{-\lambda t_i}]}{M} \quad (2)$$

$$T_{p0} = \frac{\varepsilon I_y N m_p \theta [1 - e^{-\lambda t_i}]}{M} \quad (3)$$

Os índices a e p representam amostra e padrão respectivamente, onde T_{a0} e T_{p0} são as taxas de contagens da amostra e do padrão no tempo $t=0$.

Considerando que amostra e padrão foram irradiados nas mesmas condições (posição, geometria e tempo), pode-se calcular a massa do elemento de interesse obtendo a razão das equações (2) e (3) e tendo a relação:

$$m_a = \frac{T_{a0} m_p}{T_{p0}} \quad (4)$$

Onde T_{a0} e T_{p0} são as taxas de contagens da amostra e do padrão no tempo $t=0$, m_a e m_p são a massa do elemento na amostra e no padrão, respectivamente.

A concentração do elemento de interesse na amostra (C_a), pode ser calculada efetuando a divisão de ambos os termos da equação (4) pela massa total da amostra (M_a):

$$C_a = \frac{T_{a0} m_p}{T_{p0} M_a} \quad (5)$$

Onde $C_a = m_a/M_a$.

Porém, devido a impossibilidade de realizar simultaneamente as medidas das taxas de contagens da amostra e padrão, pode-se fazer a correção aplicando a lei de decaimento usando a relação (Friedlander *et al.*, 1964):

$$T = T_0 e^{-\lambda t d} \quad (6)$$

Onde T é a taxa de contagem no tempo t , T_0 é a taxa de contagem no tempo $t=0$, λ é a constante de desintegração e td é o tempo de decaimento no tempo t .

Escrevendo a relação (6) para amostra e padrão, tem-se:

$$T_a = T_{0a} e^{-\lambda t d_a} \quad (6a)$$

$$T_p = T_{0p} e^{-\lambda t d_p} \quad (6b)$$

Substituindo as relações (6a) e (6b) na equação (5), tem-se:

$$C_a = \frac{T_a m_p e^{\lambda(t d_a - t d_p)}}{T_p M_a} \quad (7)$$

Onde:

C_a é a concentração do elemento na amostra, $t d_a$ e $t d_p$ são os tempos de decaimento da amostra e do padrão, respectivamente. λ é a constante de desintegração, m_p é a massa do elemento no padrão e M_a é a massa total da amostra. T_a e T_p são as taxas de contagens da amostra e do padrão nos tempos $t d_a$ e $t d_p$, respectivamente.

A equação (7) foi utilizada no cálculo da concentração do elemento de interesse na amostra pelo método comparativo.

A NAA é uma técnica muito utilizada na determinação de elementos em diversos tipos de amostras. Essa grande variedade de aplicações em parte está relacionada com as suas vantagens, das quais se destacam:

- Método não destrutivo, isto é, não é necessário fazer separação química dos elementos de interesse;
- Técnica multielementar, é possível determinar as concentrações de diversos elementos na mesma amostra em uma única análise;
- Alta precisão e exatidão dos resultados para a maioria dos elementos;
- Alta sensibilidade. A técnica permite a determinação de elementos em concentrações muito baixas, da ordem de ng g^{-1} , dependendo do elemento e da composição da amostra;
- Os elementos podem ser analisados independentes do estado químico em que se encontram;
- É necessária apenas uma pequena quantidade de massa da amostra para análise;
- Não há problema de contaminação da amostra após a irradiação;
- No caso da análise por meio das irradiações curtas, a amostra pode ser reanalisada após o decaimento dos radioisótopos de meias vidas curtas;
- Para elementos cujos radioisótopos formados são possíveis de serem detectados por meio de irradiações por período curto, o tempo de análise pode ser muito rápido.

Toda técnica analítica apresenta algumas desvantagens e no caso da NAA as suas limitações são:

- Reações nucleares de interferência que podem causar dificuldades na determinação de alguns elementos.
- Alguns elementos como O, N, C e Pb não são possíveis de serem determinados devido a suas características nucleares não favoráveis à NAA.
- Não é possível identificar a forma química do elemento presente na amostra.
- Exposição do analista a doses de radiação.

- Necessidade de ter um reator nuclear, instalações adequadas para o manuseio de material radioativo, serviço de proteção radiológica disponível, equipamentos de monitoração de radiação e geração de rejeitos radioativos.

4.2 Espectrometria de fluorescência de raios X

A espectrometria de fluorescência de raios X (XRFS) é uma técnica analítica multielementar e não destrutiva que permite obter dados quantitativos e qualitativos por meio da detecção dos raios X característicos emitidos pelos elementos químicos presentes nas amostras.

Trata-se de uma técnica analítica muito simples, na qual a incidência de raios X na amostra provoca excitação nos átomos dos elementos presentes nela, que em sua desexcitação emitem raios X característicos, ou seja, com energias características para cada elemento. Um detector mede as energias e intensidades dos raios X emitidos pela amostra os quais permitem a identificação e determinação dos elementos presentes na amostra.

Diferentes tipos de fontes podem ser usados para gerar raios X que incidirão na amostra, tais como, as fontes com partículas carregadas (elétrons, prótons, etc.), isótopos radioativos (radiação γ) e tubos de raios X.

A geração dos raios X ocorre por meio da desaceleração de elétrons que colidem com um alvo metálico. Na geração estão envolvidos dois processos fundamentais, radiação chamada de *bremsstrahlung* e raios X característicos (Serway e Jewett Jr., 2005).

4.2.1 Fundamento teórico da espectrometria de fluorescência de raios X

Quando as amostras são excitadas por uma fonte de alta energia, a interação dos fótons com átomos pode provocar a excitação ou a ionização de elétrons orbitais de camadas internas. Esse fenômeno torna o átomo instável com uma vacância em uma camada eletrônica, quase instantaneamente ocorre um rearranjo na configuração eletrônica, de modo que um elétron de uma camada orbital mais externa passa a ocupar a vacância existente e ao se deslocar o átomo libera uma quantidade de energia. Este excesso de energia é emitido como um

fóton de "fluorescência" de raios X secundário, tendo energia discreta correspondente à diferença de energia entre os dois níveis orbitais envolvidos na transição (Potts e Webb, 1992). Uma vez que cada elemento apresenta um único conjunto de níveis de energia, cada elemento emite um padrão de raios X característicos (Amptek, 2015) Na Figura 4.2 é ilustrado o processo de fluorescência de raios X.

Figura 4.2 Esquema das etapas de emissão de raios X. Etapa 1: O átomo é excitado e ocorre a ejeção de um elétron de uma camada interna (K), *efeito fotoelétrico*. Etapa 2: O elétron de uma camada mais externa (L) se move para ocupar a vacância na camada orbital. (Fonte: UTEP, 2015).

A intensidade dos raios X de certo elemento é proporcional à concentração desse elemento na amostra. Desse modo, a equação fundamental da XRFS (Filho Nascimento, 1999) é dada pela relação:

$$I = C.S.A \quad (8)$$

Onde:

I = intensidade fluorescente em contagens, s^{-1} ;

C = concentração do elemento de interesse na amostra;

S = representa a sensibilidade do espectrômetro de raios X para o elemento de interesse e

A = fator de absorção do elemento de interesse.

Nas análises quantitativas, para determinar a concentração de n elementos, é possível utilizar padrões contendo os n elementos, com as concentrações dentro das faixas esperadas para aquele tipo de amostra. Desse modo, a equação (8) pode ser escrita respectivamente para amostra e padrão como sendo:

$$I_a = C_a \cdot S_a \cdot A_a \quad (9)$$

$$I_p = C_p \cdot S_p \cdot A_p \quad (10)$$

Onde os índices a e p se referem à amostra e ao padrão, respectivamente.

Nesse caso, para o elemento de interesse as constantes físicas, sensibilidades elementares, fator geométrico, eficiência do detector etc., serão idênticas. Isto é podem ser escritas as seguintes relações:

$$A_a = A_p \quad (11)$$

$$S_a = S_p \quad (12)$$

Considerando as relações de igualdade (11) e (12) e a razão entre as equações (9) e (10), tem-se que a concentração de um elemento na amostra pode ser calculada pela relação:

$$C_a = \frac{I_a}{I_p} \cdot C_p \quad (13)$$

Nesse trabalho, se utilizou os materiais de referência certificados (MRCs) IAEA 336 Lichen da International Atomic Energy Agency (IAEA), Austria e o INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs do Institute of Nuclear Chemistry and Technology (INCT), Polônia como padrões no cálculo das concentrações dos elementos por XRFS.

A técnica de XRFS é versátil, sendo possível seu uso em diversos campos da ciência. Frequentemente utilizada em arqueometria na análise materiais cerâmicos, assim como em análises de amostras metálicas e ambientais. A característica mais marcante da análise por XRFS é que esta técnica permite a

análise qualitativa e quantitativa de quase todos os elementos de Be a U em uma amostra desconhecida (Gauglitz e Vo-Dinh, 2003).

Outras vantagens da utilização desta técnica são:

- Rapidez na análise das amostras.
- Possibilidade de medidas *in situ* utilizando equipamentos portáteis.
- Baixo custo de funcionamento por determinação (Marguí *et al.*, 2009; Gauglitz e Vo-Dinh, 2003).

Alguns pontos positivos que XRFS apresenta em comum com NAA são:

- Capacidade multielementar, é possível determinar simultaneamente as concentrações de diversos elementos em uma mesma amostra.
- A análise das amostras é não destrutiva.
- Os resultados apresentam boa precisão e exatidão nas determinações dos elementos.

Em contrapartida, existem algumas desvantagens. As amostras devem ser perfeitamente homogêneas, pois podem ocorrer efeitos de absorção da radiação primária e da radiação de fluorescência. Isto requer que as amostras não homogêneas naturalmente passem por um processo de moagem e preparação de pastilhas (Gauglitz e Vo-Dinh, 2003).

Restringindo seu uso mais frequente para fins ambientais, a XRFS apresenta sensibilidade limitada para alguns importantes elementos poluentes (por exemplo, Cd e Pb) e uma precisão e exatidão um pouco inferior em comparação com técnicas de espectroscopia atômica (Marguí *et al.*, 2009).

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Área de estudo

A Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira (CUASO) da Universidade de São Paulo (USP) também chamada de campus da capital é a área de estudo desta pesquisa.

A CUASO foi inaugurada em 1968, e recebeu o nome do governador do Estado Armando de Salles Oliveira, fundador da USP em 25 de janeiro de 1934. A CUASO constituiu a união de Escolas, Faculdades e Institutos já existentes na cidade de São Paulo, como a Faculdade de Direito, Faculdade de Medicina, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Escola Politécnica, Instituto Butantã entre outros (Campos, 2004).

Atualmente, ocupa uma área territorial de 4.492.414,40 m² na qual 843.470,00 m² são áreas edificadas e 40.303,00 m² são áreas esportivas (USP, 2014). Nesta área, estão sediadas unidades de ensino e pesquisa como Escola Politécnica, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), o Centro de Estudos e Pesquisas em Administração Municipal (CEPAM), Academia de Polícia e o Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo (CTMSP).

O campus da capital está localizado entre as coordenadas geográficas 23,5622 S e 46,7275 W com altitude em torno de 750 m, no bairro do Butantã, região Oeste da cidade de São Paulo. A CUASO situa-se próximo a rodovias e avenidas com grande fluxo de veículos, como Marginal Pinheiros, Raposo Tavares, Francisco Morato, Vital Brasil, Corifeu de Azevedo Marques, Jaguaré e Escola Politécnica.

Cerca de 100 000 pessoas (USP, 2014) incluindo funcionários e alunos que circulam no campus, e cerca de 1600 (USP, 2014) alunos são residentes permanentes no Conjunto Residencial da Universidade de São Paulo (CRUSP). Além disso, um grande número de pessoas visita a USP diariamente para realização de cursos, participação em eventos diversos e práticas esportivas como corrida, ciclismo e outros. Na Figura 5.1 está o mapa da CUASO – USP.

O clima na cidade de São Paulo segundo Koppen é Cwa (CPA, 2014), clima subtropical úmido, de inverno seco e verão quente (EMBRAPA, 2013).

Segundo a Estação Meteorológica do Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas (IAG) da USP, o ano de 2014 na cidade de São Paulo foi muito seco, com chuva (1216,8 mm/ano) cerca de 13% abaixo da média climatológica (1402,8 mm calculada de 1933 a 2014). Ao longo do ano de 2014, foram registrados recordes de temperatura, em 17 de outubro de 2014, e 37,2 °C passou a ser a maior temperatura já registrada desde 1933. A umidade relativa do ar ficou abaixo da média climatológica em 11 meses do ano de 2014 e a direção dos ventos foram predominantemente de Sudeste (SE) e Sul-Sudeste (SSE), durante os anos de 2013 e 2014 (IAG/USP, 2014).

Entre os meses de maio e setembro 2014, o número de dias desfavoráveis à dispersão de poluentes no inverno esteve abaixo da média dos últimos 10 anos, com a ocorrência de 37 dias desfavoráveis, o que corresponde a 24% do tempo. Em função do inverno de 2014 ter sido um dos mais secos dos últimos anos foi observado um aumento significativo de focos de queimadas na RMSP (CETESB, 2014) onde está inserida a CUASO, região de estudo deste trabalho.

O campus da capital da USP abriga atualmente uma das estações automáticas de monitoramento da poluição do ar da CETESB e nesta estação são medidos diariamente os seguintes parâmetros: NO, NO₂, NO_x, CO e O₃.

5.2 Coleta de líquens

A coleta dos líquens da espécie *Canoparmelia texana* na área de estudo ocorreu entre fevereiro de 2013 e maio de 2014. No total foram coletadas 40 amostras de líquens nesta área de estudo.

Os pontos de coleta foram escolhidos fazendo a divisão da área em quadrantes, e, no mínimo, uma amostra foi obtida de cada quadrante. A área de cada quadrante foi de aproximadamente 200 000 m². No momento da coleta foram registradas as coordenadas geográficas (latitude e longitude) dos pontos de coleta com auxílio do equipamento GPS (Geographical Position System) modelo GPSMAP 78 da marca Garmin. Na Figura 5.2 é possível observar os triângulos que representam os locais onde as amostras foram coletadas na região de estudo. No Apêndice A está a descrição dos pontos de coleta dos líquens na CUASO.

Para a coleta líquens de aproximadamente 10 cm foram previamente umedecidos com água purificada Milli-Q e então removidos de troncos de árvores com o auxílio de uma faca de titânio a uma altura de aproximadamente 1,5 m do solo e armazenados em sacos de papel.

O armazenamento das amostras de líquens em sacos de papel é necessário para que não ocorra a formação de mofos.

Figura 5.2 Mapa dos pontos de coleta das amostras de líquens na CUASO.

Além das amostras coletadas na CUASO, duas amostras da espécie *Canoparmelia texana* foram adquiridas de regiões consideradas limpas. Estas amostras são as seguintes:

- Líquens coletados no Instituto Florestal localizado no município de Itirapina/SP, codificado como RL1. Segundo IBGE (2014) a cidade de Itirapina tem 16.938 habitantes. Localiza-se entre a latitude -22,2267 e longitude -47,8309 e está a altitude de 770 m. A temperatura média anual é de 21,9 °C e a precipitação média anual é de 1459 mm. A hidrografia é bastante rica e o uso econômico do solo na região é feita por meio de plantio de laranja, cana-de-açúcar e milho, pastagens e reflorestamento (Instituto Florestal, 2015).

- Líquens coletados no Jardim Botânico de Botucatu/SP, codificado como RL2. A cidade de Botucatu é conhecida como a “cidade dos bons ares” e está situada no alto da serra, localizada entre a latitude -22,8860 e longitude -48,4985 e

está a 840 m de altitude. Atualmente, tem uma população de 127.348 habitantes (IBGE, 2014). A temperatura média anual é de 20,7 °C e a precipitação média anual de 1358,6 mm (CPA, 2014). O perfil industrial é bastante diversificado. Na área agrícola, a citricultura está em pleno desenvolvimento. Além disso, Botucatu também possui rios e formações geológicas que movimentam o turismo (PMB, 2015).

5.3 Tratamento das amostras de líquens

No laboratório, as amostras de líquens foram submetidas a uma limpeza. Para isso, os líquens foram limpos examinando os em um microscópio estereoscópico Modelo 4060, da marca Olympus. Este procedimento foi realizado para remover materiais estranhos, tais como fragmentos de casca de árvores, pequenos insetos e areia. Estes materiais foram removidos manualmente com auxílio de pinças previamente higienizadas, para evitar possível contaminação. Os líquens limpos foram armazenados em potes plásticos, para posterior imersão em água purificada Milli-Q. Os líquens permaneceram imersos em água por cerca de 3 minutos, para remoção de material particulado como solo e poeiras. Com auxílio de uma peneira de nylon os líquens foram separados da água, e, ainda úmidos, foram colocados em potes de plástico e guardados no freezer a uma temperatura aproximada de -18° C por 24 horas para posterior secagem.

As amostras foram secas por liofilização a uma pressão de aproximadamente $8,0 \times 10^{-2}$ mbar por um período de aproximadamente 16 h, utilizando o liofilizador Micro Modulyo da marca Thermo Electron. A seguir, as amostras foram submetidas à moagem em um micromoinho vibratório “pulverisette 0” da Fritsch com almofariz e bola de ágata e depois peneiradas em peneira de nylon. Algumas amostras foram moídas manualmente com uso de almofariz e pistilo de ágata devido à dificuldade na moagem pelo micromoinho.

O armazenamento das amostras na forma de pó foi feito em frascos plásticos previamente desmineralizados. As tampas destes frascos foram vedadas com parafilme, e as amostras foram identificadas e armazenadas em um dessecador contendo sílica no seu interior. Este procedimento é recomendável para evitar que as amostras absorvam umidade do meio ambiente.

5.4 Procedimento para análise por ativação com nêutrons

5.4.1 *Pesagem das amostras*

Para a determinação dos elementos pela NAA, cerca de 180 mg de cada uma das amostras em pó foram pesados em um invólucro de polietileno. Estes invólucros de polietileno de dimensões de cerca de 1,0 cm x 1,0 cm foram preparados utilizando folhas de polietileno previamente limpas usando solução de ácido nítrico p.a. diluído e água purificada Milli-Q seguida de secagem a temperatura ambiente.

Os invólucros de polietileno vazios foram pesados previamente, e depois a amostra foi adicionada ao interior do invólucro seguida da nova pesagem. A diferença entre as massas do invólucro vazio e cheio representa a massa da amostra. A pesagem foi feita em uma balança analítica da marca Shimadzu modelo AU220D com precisão de $\pm 0,00001$ g. Após a pesagem, o invólucro contendo a amostra foi selado e identificado. Na Figura 5.3 pode se observar a amostra no invólucro de polietileno durante e após a pesagem.

Figura 5.3 Pesagem de líquen em invólucro de polietileno. Imagem (A) mostra a amostra no invólucro de polietileno sobre o prato da balança. Imagem (B) mostra o invólucro de polietileno contendo amostra já selado. (Fonte: Autora do trabalho)

5.4.2 Preparo dos padrões sintéticos de elementos

No preparo de soluções diluídas monoelementares e multielementares foram utilizadas soluções padrão de elementos certificadas da Spex CertiPrep USA, materiais volumétricos previamente verificados quanto a sua calibração e água purificada Milli-Q. A Tabela 5.1 mostra os elementos químicos dos padrões sintéticos utilizados nas irradiações longa e curta com seus respectivos códigos, concentrações e massas.

Tabela 5.1 Concentrações dos elementos das soluções de padrões sintéticos e massas dos elementos irradiados.

Código da solução padrão	Elementos	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Massa em 50 μL
BR3	Br	100,20	5,01 μg
CL	Cl	10000	500,0 μg
CV3	Cu	4808,028	240,04 μg
	V	479,99	23,99 μg
F3	Ca	9979,00	498,95 μg
	Rb	199,807	9,980 μg
	Fe	7205,76	360,29 μg
	Zn	720,821	36,041 μg
L3	K	10013,0	500,65 μg
	La	12,014	600,7 ng
	Cs	12,002	600,1 ng
	Sc	1,600	80,0 ng
	Co	3,007	150,35 ng
	Cd	199,92	9996,0 ng
MG	Mg	10012	500,6 μg
MN1	Mn	79,818	3,99 μg
S3	As	30,04	1502 ng
	Cu	2003,76	100,19 μg
	Se	160,14	8007,05 ng
	Cr	40,219	2010,95 ng
	Mo	60,209	3010,45 ng
	Sb	12,018	600,90 ng
U3	U	200,51	10,02 μg

Cada uma das soluções padrão foi pipetada (50 μL) sobre tiras de papel filtro *Whatman* n° 40, de dimensões aproximadas de 1,55 cm x 6,00 cm, utilizando pipetador automático da marca *Eppendorf* previamente verificado quanto à sua calibração.

As tiras de papel contendo as alíquotas pipetadas foram deixadas no dessecador por 24 h para a secagem da solução pipetada. Posteriormente, estas tiras foram cortadas nas suas bases, dobradas e colocadas em invólucros de polietileno, os quais foram selados com uma seladora elétrica para plástico e com auxílio de uma folha de celofane. A Figura 5.4 mostra as imagens do papel filtro *Whatman* cortado em tiras e a pipetagem das soluções padrão.

Figura 5.4 Preparação de padrões sintéticos de elementos. Imagem (A) das tiras de papel filtro *Whatman* n° 40. Imagem (B) da solução padrão sendo pipetadas sobre as tiras de papel filtro (Fonte: Autora do trabalho).

5.4.3 Procedimento para irradiações longas

A determinação dos elementos As, Br, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, K, La, Rb, Sb, Sc, Se, U, e Zn pelo método de análise por ativação com nêutrons foi realizada irradiando as amostras e os padrões sintéticos dos elementos no reator nuclear de pesquisa IEA-R1, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN – CNEN/SP.

Para a irradiação longa, as amostras e os padrões sintéticos dos elementos foram envoltos individualmente em folha de alumínio. Posteriormente este conjunto foi embrulhado em uma nova folha de alumínio e colocado em um dispositivo para irradiação longa. Este dispositivo consistiu em um pequeno cilindro de alumínio, denominado “*coelho*”.

O “*coelho*” contendo este conjunto de amostra e padrões foi fechado com uma tampa a qual foi soldada pelo Pessoal do Serviço de Irradiação. A irradiação foi feita sob fluxo de nêutrons térmicos de $4,0 \times 10^{12}$ a $5,0 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por um período de 16 horas. Para as medições, as amostras e padrões foram retirados do “*coelho*” após 3 dias de decaimento sob a supervisão do Pessoal de Proteção Radiológica. As amostras e padrões foram fixados individualmente em suportes de aço inoxidável (“*panelinhas*”) de cerca de 3,0 cm de diâmetro usando fita gomada. Na Figura 5.5 é possível observar as imagens do “*coelho*” e da “*panelinha*” utilizados em irradiações longas.

Figura 5.5 Imagem do dispositivo de alumínio, “*coelho*”, utilizado em irradiações longas, e de um suporte de aço inoxidável, “*panelinha*” (Fonte: Autora do trabalho).

Após cerca de 3 a 4 dias de decaimento, as medições das atividades gama das amostras e padrões foram feitas usando um detector semicondutor de germânio hiperpuro da marca Canberra, modelo GC3020 ligado a um analisador digital de espectro DSA 1000 também da Canberra e a um microcomputador.

A verificação do funcionamento do sistema de contagens foi feita diariamente antes de iniciar as medições fazendo a contagem de uma fonte de ^{57}Co

+ ^{60}Co . A resolução do sistema utilizado foi de 0,90 keV para o pico de 121,97 keV do ^{57}Co e de 1,70 keV para o pico de 1332,49 do ^{60}Co . Também foi feita a escolha adequada da distância entre a amostra e o detector para as contagens de modo que a percentagem do tempo morto não ultrapassasse 8 %. A aquisição e o processamento dos espectros gama foram feitos usando o programa *Genie* 2000 versão 3.1 da Canberra. Do processamento foram obtidos os dados de taxas de contagem e as energias dos raios gama.

As medições das atividades gama dos radioisótopos de meia vida longa foram feitas em três diferentes tempos de decaimento de aproximadamente 5, 10 e 15 dias para detecção de um número maior de elementos e eliminar o problema das interferências espectrais. Os tempos de contagens variaram de 20000 a 50000 s para as amostras e de 5400 a 6000 s para os padrões dos elementos.

5.4.4 Procedimento para irradiações curtas

Para determinação dos elementos cujos radioisótopos correspondentes apresentam tempos de meia vida curtos como Cl, Cu, Mg, Mn e V, uma amostra e os padrões sintéticos foram colocados juntos em um novo invólucro de polietileno o qual foi inserido em um dispositivo para irradiação curta, de polietileno, denominado “coelho”. A Figura 5.6 mostra a foto do “coelho” utilizado nas irradiações curtas, dois padrões sintéticos e uma amostra de líquen.

O dispositivo contendo a amostra e padrões sintéticos foi submetido à irradiação curta na Estação Pneumática nº 4 do reator nuclear de pesquisa IEA-R1 por um período de 25 s sob fluxo de nêutrons térmicos de $6,6 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Na irradiação, curta um cronômetro foi utilizado para registrar os tempos final e inicial de medição da amostra e dos padrões para posterior cálculo do tempo de decaimento. Após a irradiação, amostra e padrões sintéticos foram fixados no suporte de aço inoxidável (“panelinhas”), utilizando fita gomada.

Figura 5.6 Imagem do dispositivo de polietileno, “coelho”, utilizado em irradiações curtas, de dois padrões sintéticos de elementos e de uma amostra de líquen em invólucros de polietileno (Fonte: Autora do trabalho).

As medições das atividades gama das amostras e padrões foram realizadas em dois tempos de decaimento diferentes. A primeira medição foi feita cerca de 3 a 4 minutos de decaimento e o tempo de contagem foi de 300 s para determinação de Mg e V. A segunda medição foi feita cerca de 60 minutos de decaimento e o tempo de contagem foi de 600 s para determinação de Cl e Mn.

As medições foram feitas utilizando o mesmo sistema de contagens utilizado para irradiações longas.

5.4.5 Identificação de radioisótopos e cálculo das concentrações

A identificação dos radioisótopos foi feita pelo tempo de meia vida e a energia dos raios gama e o cálculo das concentrações foi feito pelo método comparativo aplicando a relação (7) onde são requeridos os valores de taxas de contagens, tempos de decaimento e as massas da amostra e dos elementos nos padrões. Os radioisótopos identificados, os tempos de meia vida e as energias dos raios gama utilizados neste trabalho são apresentados na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 Dados nucleares dos radioisótopos utilizados neste trabalho (IAEA, 1990).

Elementos	Radioisótopos	Energias dos raios gama (keV)	Tempos de meia vida
As	⁷⁶ As	559,10	26,32 h
Br	⁸² Br	776,52	35,3 h
Ca	⁴⁷ Ca	1297,09	4,54 d
Cd	¹¹⁵ Cd	527,91	53,56 h
Cl	³⁸ Cl	1642,69	37,24 min
Co	⁶⁰ Co	1173,24	5,27 a
Cr	⁵¹ Cr	320,08	27,7 d
Cs	¹³⁴ Cs	795,85	2,06 a
Cu	⁶⁴ Cu	1345,77	12,7 h
Cu	⁶⁶ Cu	1039,20	5,10 min
Fe	⁵⁹ Fe	1099,25	44,5 d
K	⁴² K	1524,58	12,36 h
La	¹⁴⁰ La	1596,21	40,27 h
Mg	²⁷ Mg	1014,43	9,46 min
Mn	⁵⁶ Mn	1810,72	2,58 h
Rb	⁸⁶ Rb	1076,60	18,66 d
Sb	¹²² Sb	564,24	2,70 d
	¹²⁴ Sb	1690,98	60,2 d
Sc	⁴⁶ Sc	889,28	83,81 d
Se	⁷⁵ Se	264,66	119,77 d
U	²³⁹ Np	106,12;277,60	2,36 d
V	⁵² V	1434,08	3,75 min
Zn	⁶⁵ Zn	1115,55	243,9 d

5.5 Procedimento para espectrometria de fluorescência de raios X

As análises por espectrometria de fluorescência de raios X foram realizadas no Instituto de Física da Universidade de São Paulo (IFUSP).

5.5.1 *Preparo das amostras*

Para análise das amostras de líquens por XRFS, foi necessária a compactação das amostras em pó em formato de pastilhas circulares. Para isso, o compactador foi previamente limpo usando detergente neutro, água destilada e

álcool isopropílico, e seco com pistola de jato de ar. A seguir, a amostra na forma de pó foi adicionada ao compactador com auxílio de uma espátula plástica descartável. O compactador contendo a amostra foi colocado em uma prensa hidráulica. Na Figura 5.7 estão as imagens da prensa hidráulica e compactador utilizado.

O êmbolo de pressão da prensa hidráulica foi ajustado de acordo com o tamanho do compactador, a entrada de ar do sistema foi fechada e manualmente foi feito o bombeamento da pressão até o manômetro registrar uma tonelada. Após 30 s de aplicação dessa pressão o sistema foi aberto, e o compactador foi colocado na posição inversa para retirada da amostra. A amostra em formato de pastilha foi armazenada em um envelope de papel dentro de um dessecador, de modo a evitar a absorção de umidade para posterior medida no espectrômetro de fluorescência de raios X.

Figura 5.7 Fotos dos materiais utilizados no preparo de pastilhas para XRFS. Imagem (A): prensa hidráulica. Imagem (B): Compactador. (Fonte: Autora do trabalho)

5.5.2 Procedimento das medições

Para análise das amostras de líquens por XRFS foram utilizados dois sistemas de medição. Para detecção dos elementos Ca, Cl, Cr, Fe, K, Mn e S as

medições foram feitas usando uma tensão de 30 kV e corrente de 5 μ A. Para os elementos As, Br, Cu, Sr, Rb e Zn, as medições foram feitas com uma tensão de 30 kV e corrente de 50 μ A e com o uso de um sistema de filtros. Este sistema de filtros consistiu de dois filtros de alumínio de 250 μ m de espessura cada e um filtro de tungstênio com espessura de 25 μ m. O tempo de medição foi de 600 s para todos os elementos.

A aquisição de dados foi feita utilizando um tubo de raios X X-Mini, um detector de raios X XR-100SSD e pré-amplificador, um processador de sinal PX4 e um software de análise XRS-FP todos da marca Amptek. Todos estes componentes são ligados a um microcomputador. Na Figura 5.8 está a foto do equipamento utilizado e também o formato das amostras submetidas as medições. Para o processamento dos espectros da XRFS foi utilizado o software WINQXAS da Agencia Internacional de Energia Atômica (IAEA).

Figura 5.8 Imagem (A) do tubo de raios X e detector. Imagem (B) sistema de detecção da técnica de XRFS. Imagem (C) porta amostra contendo uma amostra em forma de pastilha. (Fonte: Autora do trabalho)

5.6 Análise dos materiais de referência certificados

O controle de qualidade dos resultados necessita do uso de materiais que possuam certo grau de confiança quanto ao seu uso, como homogeneidade, níveis confiáveis de incertezas e rastreabilidade quanto aos resultados. Desse modo, materiais de referência certificados são utilizados para avaliar o grau de precisão e exatidão dos resultados, ou seja, para controle de qualidade analítica.

Os materiais de referência certificados (MRCs) selecionados para uso no presente trabalho foram IAEA 336 Lichen da International Atomic Energy Agency (IAEA), Austria e os materiais INCT-TL-1 Tea Leaves e INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs ambos procedentes do Institute of Nuclear Chemistry and Technology (INCT), Polônia. Estes materiais são armazenados em recipientes de polietileno com tampa vedada com parafilme, dentro do dessecador à temperatura ambiente.

Os MRCs IAEA 336 Lichen e INCT-TL-1 Tea Leaves foram utilizados para verificar a precisão e exatidão dos resultados obtidos pelo método de NAA. Para expressar os resultados destas análises na base seca foram feitas as determinações do percentual de umidade residual desses MRCs. Foram pesados cerca de 200 a 250 mg de cada um dos materiais de referência em um pesa-filtro e colocados na estufa para secagem a uma temperatura de 80 °C por um período de 24 h.

O valor de percentagem de umidade obtido na secagem do material de referência IAEA Lichen 336 foi de 4,45 % e para o MRC INCT-TL-1 Tea Leaves foi de 3,72 %. Esses valores de percentagem de perda de umidade foram utilizados para o cálculo das concentrações dos elementos determinados nos MRCs na base seca. As análises desses materiais de referência foram realizadas conforme o procedimento adotado para as análises de líquens.

Para o método de XFRS, foram utilizados o material de referência IAEA Lichen 336 e o material de referência certificado INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs, como padrões para o cálculo das concentrações dos elementos determinados nas amostras de líquens e também no controle de qualidade das medições.

Estes materiais de referência foram colocados em uma prensa hidráulica e preparados em formato de pastilhas. As análises desses materiais de referência foram feitas de acordo com o procedimento adotado para as amostras de líquens pelo método de XRFS.

5.7 Cálculos e análise estatística

A análise estatística dos resultados das concentrações dos elementos determinados nos materiais de referência certificados (MRCs) foi feita por meio do cálculo da média aritmética (M), desvio padrão (DP), desvio padrão relativo (DPR) e erro relativo (ER).

Para avaliar a exatidão dos resultados nas análises dos MRCs foram calculados os valores de E_n score ou diferença padronizada utilizando a relação (INMETRO,2010):

$$E_n = \frac{x_{lab} - x_{ref}}{(U_{(lab)}^2 + U_{(ref)}^2)^{1/2}} \quad (14)$$

Onde: x_{lab} é o valor da concentração do elemento obtida para o MRC. x_{ref} é o valor do certificado da concentração do elemento no MRC. $U_{(lab)}$ é a incerteza expandida associada às médias das concentrações obtidas para o elemento; $U_{(ref)}$ é a incerteza expandida do valor certificado para o elemento no MRC.

A precisão dos resultados depende da concentração do elemento na amostra. Desta maneira, a avaliação da aceitabilidade das características de precisão de um método de análise pode ser realizada aplicando o critério de HORRAT (Wood, 1999). Desse modo, os valores de repetitividade e de reprodutibilidade calculados podem ser comparados com os valores de repetitividade e de reprodutibilidade teóricos que podem ser calculados a partir da equação de Horwitz (Horwitz, 1982). O valor de HORRAT para reprodutibilidade é calculado utilizando a seguinte equação (Wood, 1999):

$$HORRAT = \frac{DPR}{DPR_H} \quad (15)$$

Onde o desvio padrão relativo (DPR) obtido nas determinações dos elementos nos MRCs é comparado com o desvio padrão relativo previsto pela equação de Horwitz (DPR_H). O DPR_H é dado pela equação (Horwitz e Albert, 2006) como sendo:

$$DPR_H = 2^{(1-0,5\log C)} \quad (16)$$

Na equação (16) a concentração (C) do elemento em mg kg^{-1} (ppm) deve ser expressa como fração de massa ($C = 10^{-6}$).

Horwitz e Albert (2006) consideram que se o valor de HORRAT = 1 o resultado é preciso. Empiricamente são aceitos valores entre 0,5 e 2,0. Porém a função de Horwitz apresenta limitações para valores de concentrações muito altos ou muito baixos (Thompson, 2000; Lisinger e Josephs, 2006). Wood (1999) considera que se o valor de HORRAT ≤ 2 , a reprodutibilidade dos resultados pode ser considerada aceita.

5.7.1 Cálculos dos limites de detecção e quantificação

Os valores de limites de detecção e de quantificação são importantes para verificar se a técnica de análise química atende adequadamente às necessidades de medição (Currie, 1999). O limite de detecção indica a concentração mínima de um analito que pode ser detectado. O limite de quantificação é a menor concentração do analito que pode ser quantificada com precisão e incerteza (Konieczka e Namiesnik, 2009).

Para calcular estes limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) dos elementos da NAA em termos de taxas de contagens, utilizou-se o critério de Currie e foram usadas as relações (Currie, 1999):

$$LD = 3,29 \frac{\sqrt{BG}}{LT} \quad (17)$$

$$LQ = 10 \frac{\sqrt{BG}}{LT} \quad (18)$$

Onde BG, (“background”), é a taxa de contagem da radiação de fundo e LT é o tempo de contagem. O valor do BG foi obtido da saída de dados do processamento do espectro.

Uma vez obtidos os valores de LD e LQ, os limites de detecção (LDc) e quantificação (LQc) em termos de concentração dos elementos foram calculados pelo método comparativo.

Na XRFS, os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) dos elementos foram calculados em contagens s^{-1} , utilizando as relações (19) e (20) respectivamente segundo Nascimento Filho, (1999):

$$LD = 3\sqrt{BG} \quad (19)$$

$$LQ = 10\sqrt{BG} \quad (20)$$

O cálculo do valor do limite de detecção e de quantificação dos elementos em termos de concentração (LDc e LQc) foi feito pela comparação com os dados do padrão.

5.7.2 Teste de Levene e Teste *t* de student

Estes testes foram aplicados aos resultados dos elementos determinados nos líquens pelos métodos de NAA e XRFS utilizando o software SPSS versão 22 da IBM.

O Teste de Levene avalia homogeneidade das variâncias dos grupos, sendo a hipótese nula (H_0) a igualdade das variâncias ($\sigma_1 = \sigma_2$) ou H_1 variâncias diferentes ($\sigma_1 \neq \sigma_2$).

O Teste *t* de student avalia a diferença entre as médias das populações de cada grupo e obtém um valor de *t* que deve ser comparado com o valor de *t* tabelado para o número de graus de liberdade $((n_1+n_2) - 2)$ para amostras independentes. Sendo que n_1 e n_2 são os números determinações de cada população.

5.7.3 Correlação de Pearson

A fim de verificar a existência da correlação entre os elementos determinados nos líquens da CUASO foi obtida a matriz correlação de Pearson utilizando o software SPSS versão 22, da IBM.

O coeficiente de correlação de Pearson (*r*) é uma medida da variância compartilhada entre duas variáveis e estes valores de coeficiente são adimensionais e variam de -1 a 1. Segundo Dancey e Reidy (2005) quando o valor de *r* varia 0,10 até 0,30 a associação entre as variáveis é fraca, se *r* = 0,40 até 0,6

esta associação é moderada. Quando r varia 0,70 até 1 a associação é considerada forte, sendo assim quanto mais próximo de -1 ou 1 mais forte a associação entre as variáveis.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Resultados das análises dos materiais de referência certificados

Na Tabela 6.1 são apresentados os resultados das análises dos materiais de referência certificados IAEA 336 Lichen e INCT-TL-1 Tea Leaves pelo método de NAA, juntamente com valores dos certificados e os valores de En score. Conforme esta Tabela, os erros relativos percentuais (ER) obtidos para o material de referência IAEA 336 Lichen foram inferiores a 9,4 % e os valores dos desvios padrão relativos (DPR) variaram entre 3,2 a 11,2 %. Para o material INCT-TL-1 Tea Leaves, os valores de ER variaram entre 1,0 % e 14,2 % e os DPR ficaram abaixo de 9,1 %, com exceção para Mg, Sb e Se. A baixa precisão na determinação dos elementos Sb e Se pode ser atribuída aos baixos teores destes elementos neste material e no certificado são apresentados os valores informativos. A determinação do Mg apresentou dificuldades devido à baixa taxa de contagens do pico de 1014 keV do ^{27}Mg e a utilização do pico de 843,76 keV não foi possível devido à interferência do pico de 846,76 keV do ^{56}Mn .

Na Tabela 6.2 são apresentados os resultados obtidos nos materiais de referência certificados IAEA 336 Lichen e INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs pelo método de XRFS. São apresentados também nesta Tabela os valores dos respectivos certificados, os erros relativos percentuais e os valores de En score. Os valores de ER (Tabela 6.2) obtidos para o material de referência IAEA 336 – Lichen ficaram abaixo de 10,3 %, com exceção para o resultado de As, que apresentou um ER de 34,0 %. Para INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs, os resultados obtidos de ER ficaram abaixo de 9,4 %, com exceção novamente para o elemento As, onde o ER obtido foi igual a 27,8 %. Ambos os MRCs apresentam baixas concentrações deste elemento e este fato ocasionou um pico com baixa intensidade em contagens por segundo que pode ficar sobreposta pela intensidade da radiação de fundo na XRFS.

Tabela 6.1 Concentrações dos elementos (mg kg⁻¹) nos materiais de referência IAEA 336 Lichen e INCT-TL-1 Tea Leaves determinados pelo método de NAA.

Elementos	IAEA Lichen 336 (IAEA, 1990)					INCT-TL-1 Tea Leaves (INCT,2002)				
	Valor do certificado	M ± DP (n)	DPR (%)	ER (%)	E _n score	Valor do certificado	M ± DP (n)	DPR (%)	ER (%)	E _n score
As	0,63 (0,55-0,71)	0,63 ± 0,05(5)	7,9	0,0	0,0001	0,106 ± 0,021	0,096 ± 0,002(4)	2,1	9,4	-0,0005
Br	12,9 (11,2-14,6)	13,0 ± 0,5(4)	4,3	0,7	0,01	12,3 ± 1,0	13,1 ± 1,2 (4)	9,1	6,5	0,0008
Ca	-	2555 ± 177(5)	6,9	-	-	5820 ± 520	5892 ± 166(5)	2,8	1,2	0,11
Cl	1900 (1600-2200)*	1722 ± 136(5)	7,9	9,4	-0,14	573 ± 48	492 ± 44(5)	8,9	14,2	-0,81
Co	0,29 (0,24-0,34)	0,27 ± 0,02(5)	6,0	6,9	-0,08	0,387 ± 0,042	0,402 ± 0,026(5)	6,5	3,9	0,0003
Cr	1,06 (0,89-1,23)*	1,09 ± 0,05(5)	4,6	2,8	0,03	1,91 ± 0,22	1,94 ± 0,09(5)	4,6	1,6	0,08
Cs	0,110 (0,097-0,123)	0,114 ± 0,007(5)	6,2	3,6	0,07	3,61 ± 0,37	3,78 ± 0,19(5)	5,0	4,7	0,0004
Fe	430 (380-480)	435 ± 18(5)	4,2	1,1	0,01	432 *	547 ± 22(5)	4,0	-	-
K	1840 (1640-2040)	1903 ± 159(5)	8,3	3,4	-0,05	17000 ± 1200	18509 ± 1118(5)	6,0	8,9	0,59
La	0,66 (0,56-0,76)	0,61 ± 0,05(5)	8,2	7,5	-0,12	1,00 ± 0,07	0,99 ± 0,09(5)	9,0	1,0	-0,0001
Mg	-	881 ± 99(4)	11,2	-	-	2240 ± 170	2457 ± 500(3)	20,3	9,7	0,21
Mn	63 (56-70)	62 ± 6(5)	9,6	1,6	-0,02	1570 ± 110	1507 ± 130(5)	8,6	4,0	-0,22
Rb	1,76 (1,54-1,98)*	1,66 ± 0,11(5)	6,6	5,7	-0,10	81,5 ± 6,5	82,5 ± 2,2(5)	2,7	1,2	0,12
Sb	0,073 (0,063-0,083)	0,071 ± 0,003(5)	4,2	2,7	-0,05	0,050*	0,051 ± 0,009(4)	17,6	-	-
Sc	0,17 (0,15-0,19)*	0,18 ± 0,01(5)	5,5	5,9	0,12	0,266 ± 0,024	0,258 ± 0,014(5)	5,4	3,0	-0,0003
Se	0,22(0,18-0,26)	0,24 ± 0,02(5)	8,3	9,0	0,12	0,076*	0,068 ± 0,013(4)	19,1	-	-
V	1,47 (1,25-1,69)*	1,46 ± 0,12(5)	8,2	0,7	-0,01	1,97 ± 0,37	-	-	-	-
Zn	30,4 (27,0-33,8)	31,2 ± 1,0(5)	3,2	2,6	0,03	34,7 ± 2,7	35,6 ± 0,4(5)	1,1	2,6	0,32

M – Média aritmética; DP– Desvio Padrão; n – número de determinações; DPR– Desvio Padrão Relativo; ER- Erro Relativo; * Valor informativo; En score– Diferença padronizada

Tabela 6.2 Concentrações dos elementos (mg kg⁻¹) nos MRCs IAEA 336 Lichen e INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs determinados pelo método de XRFS.

IAEA Lichen 336 (IAEA,1990)					INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs (INCT,2002)			
Elementos	Valor do certificado	C ± u	ER (%)	E _n score	Valor do certificado	C ± u	ER (%)	E _n score
As	0,63 (0,55-0,71)	0,41 ± 0,33	34,9	-0,29	0,191 ± 0,023	0,140 ± 0,108	26,3	-0,21
Br	12,9 (11,2-14,6)	12,9 ± 5,1	0,0	0,004	7,71 ± 0,61	7,67 ± 3,88	0,5	-0,003
Ca	-	3202 ± 210	-	-	-	-	-	-
Cl	1900 (1600-2200)*	1929 ± 139	1,5	0,02	2840 ± 200	2795 ± 731	1,6	-0,01
Cr	1,06 (0,89-1,23)*	1,00 ± 0,23	5,6	-0,06	1,69 ± 0,13	1,79 ± 0,75	5,9	0,03
Cu	3,6 (3,1-4,1)	3,9 ± 2,7	8,3	0,06	7,77 ± 0,53	7,04 ± 5,33	9,4	-0,05
Fe	430 (380-480)	474 ± 7	10,2	0,30	460*	417	9,3	-
K	1840 (1640-2040)	1851 ± 118	0,6	0,01	19100 ± 1200	18980 ± 4891	0,6	-0,01
Mn	63 (56-70)	67 ± 6	6,3	0,09	191 ± 12	178 ± 53	6,8	-0,05
Rb	1,76 (1,54-1,98)*	1,79 ± 1,05	1,7	0,02	10,7 ± 0,7	10,5 ± 6,6	1,8	-0,01
S	-	787 ± 61	-	-	2410 ± 140	-	-	-
Sr	9,3 (8,2-10,4)	9,2 ± 1,7	1,7	-0,01	37,6 ± 2,7	37,7 ± 11,3	0,2	0,003
Zn	30,4 (27,0-33,8)	30,3 ± 3,6	0,3	-0,003	33,5 ± 2,1	33,6 ± 11,7	0,3	0,002

C ± u – Concentração ± incerteza combinada; ER- Erro Relativo; * Valor informativo; E_n score – Diferença padronizada

$$u = Ci \cdot \sqrt{\left(\frac{\sigma_p}{C_p}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{Ai}}{(A_i)}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{Ap}}{(A_p)}\right)^2}$$

Onde: Os índices i e p se referem a elemento e padrão, respectivamente; Ci é a concentração do elemento i;

A é a intensidade do pico para o elemento i; σ é a incerteza da intensidade do pico para o elemento

Os valores da diferença padronizada ou E_n score foram calculados apenas para os elementos que apresentam valores certificados ou recomendados. O resultado é considerado aceitável quando o valor de E_n varia entre -1 e 1 (INMETRO, 2010). Nas Figuras 6.1 e 6.2 estão os valores de E_n score obtidos neste trabalho, todos os valores de E_n variaram entre -1 e 1 indicando que os resultados obtidos estão dentro da faixa de valores certificados a um nível de confiança de 95%.

Aplicando o critério de HORRAT, para avaliar a precisão dos resultados, aos elementos determinados nos MRCs foram obtidos valores de HORRAT < 2 (Figura 6.3) que indicam precisão aceitável segundo Wood (1999). A única exceção foi para Mg, cujo valor de HORRAT ficou fora da aceitabilidade.

Figura 6.1 Valores de E_n score obtidos para os materiais de referência certificados IAEA-336 Lichen e INCT-TL-1 Tea leaves analisados pelo método de análise por ativação com nêutrons.

Figura 6.2 Valores de E_n score obtidos para os materiais de referência certificados IAEA-336 Lichen e INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs analisados pelo método de espectrometria de fluorescência de raios X.

Figura 6.3 Valores de HORRAT obtidos para elementos determinados nos materiais de referência certificados IAEA-336 Lichen e INCT-TL-1 Tea leaves analisados pelo método de análise por ativação com nêutrons.

6.2 Limites de detecção e de quantificação dos elementos em líquens

Na Tabela 6.3 estão os resultados dos limites de detecção (LDc) e quantificação (LQc) dos elementos determinados nos líquens pela NAA, juntamente com os dados dos radioisótopos medidos, bem como as concentrações dos elementos obtidas em uma amostra de líquen. Os valores de LDc e LQc dos elementos são inferiores que as suas concentrações encontradas no líquen e isto indica que a técnica de NAA é adequada para determinação desses elementos em líquens. Para U os valores de LDc e LQc obtidos foram da mesma ordem de grandeza das concentrações da amostra.

Tabela 6.3 Limites de detecção e de quantificação (mg kg^{-1}) dos elementos na análise de líquens pela análise por ativação com nêutrons.

Elementos	Radioisótopos	Energia dos raios gama (keV)	Limite de detecção (LDc)	Limite de quantificação (LQc)	Concentração do elemento no líquen ($C \pm IC$)
As	^{76}As	559,10	0,004	0,012	$0,315 \pm 0,018$
Br	^{82}Br	776,52	0,006	0,018	$2,4 \pm 0,1$
Ca	^{47}Ca	1297,09	76	232	30493 ± 1117
Cd	^{115}Cd	527,91	0,13	0,41	$0,80 \pm 0,14$
Cl	^{38}Cl	1642,69	0,68	2,1	363 ± 5
Co	^{60}Co	1173,24	0,002	0,006	$0,177 \pm 0,056$
Cr	^{51}Cr	320,08	0,02	0,07	$1,9 \pm 1,4$
Cs	^{134}Cs	795,85	0,004	0,012	$0,150 \pm 0,029$
Cu	^{66}Cu	1039,20	0,37	1,13	$14,4 \pm 4,4$
Fe	^{59}Fe	1099,25	2	6	438 ± 21
K	^{42}K	1524,58	0,02	0,07	$8,0 \pm 2,8$
La	^{140}La	1596,21	0,002	0,005	$0,897 \pm 0,030$
Mg	^{27}Mg	1014,43	13	41	751 ± 115
Mn	^{56}Mn	1810,72	0,022	0,068	$129,5 \pm 2,4$
Rb	^{86}Rb	1076,60	0,08	0,25	$6,4 \pm 2,5$
Sb	^{122}Sb	564,24	0,002	0,005	$0,337 \pm 0,018$
Sc	^{46}Sc	889,28	0,0002	0,001	$0,094 \pm 0,006$
Se	^{75}Se	264,66	0,023	0,07	$0,23 \pm 0,04$
U	^{239}Np	277,60	0,01	0,032	$0,03 \pm 0,01$
V	^{52}V	1434,08	0,010	0,031	$1,55 \pm 0,10$
Zn	^{65}Zn	1115,55	0,07	0,2	88 ± 9

C – Concentração; IC – Incerteza da concentração calculada considerando erros nas taxas de contagens da amostra e padrão

Na Tabela 6.4 estão os limites de detecção e de quantificação para os elementos determinados na análise dos líquens pelo método de XRFS, juntamente com as concentrações desses elementos em uma amostra de líquen. Os LDc e LQc obtidos para os elementos são inferiores que as concentrações dos elementos encontrados no líquen, com exceção para Rb, onde o LQc foi ligeiramente superior à concentração obtida para amostra. Estes resultados indicam que a técnica de XRFS é adequada para determinação desses elementos em amostras de líquens.

Tabela 6.4 Limites de detecção e de quantificação (mg kg^{-1}) dos elementos na análise de líquens pela espectrometria de fluorescência de raios X.

Elementos	Limite de detecção (LDc)	Limite de quantificação (LQc)	Concentração do elemento no líquen ($C \pm IC$)
As	0,17	0,56	$1,21 \pm 0,36$
Br	0,4	1,4	$5,3 \pm 0,9$
Ca	22	74	9847 ± 641
Cl	24	80	235 ± 21
Cr	0,22	0,75	$3,44 \pm 0,65$
Cu	1,9	5,9	$16,3 \pm 5,5$
Fe	4,0	14,0	682 ± 231
K	28	94	1942 ± 122
Mn	5,0	16,0	$83,6 \pm 6,6$
Rb	0,9	3,2	$2,8 \pm 1,3$
S	70	232	2744 ± 641
Sr	2,0	6,6	$26,3 \pm 3,1$
Zn	4,0	12,0	235 ± 33

C – Concentração; IC – Incerteza da concentração

6.3 Verificação da homogeneidade das amostras de líquens

Para avaliar a homogeneidade das amostras de líquens foram realizadas análises em triplicata de uma amostra de líquen pelo método de NAA. A Tabela 6.5 mostra os resultados obtidos nestas análises. Para todos os elementos determinados, os valores de desvios padrão relativos (DPR) foram menores que 9,1 %, indicando boa homogeneidade da amostra preparada com relação aos elementos determinados.

Tabela 6.5 Média das concentrações de elementos (mg kg^{-1}) da análise de uma amostra de líquen em triplicata pelo método de NAA.

Elementos	M $\pm$ DP	DPR (%)
As	0,247 $\pm$ 0,011	4,3
Br	4,3 $\pm$ 0,3	7,3
Ca	45403 $\pm$ 517	1,1
Cd	0,93 $\pm$ 0,02	1,8
Cl	208 $\pm$ 16	7,7
Co	0,202 $\pm$ 0,015	7,2
Cr	1,39 $\pm$ 0,02	1,3
Cs	0,186 $\pm$ 0,004	2,1
Cu	14 $\pm$ 0,4	2,8
Fe	361 $\pm$ 2	0,4
K	1870 $\pm$ 101	5,2
La	1,43 $\pm$ 0,05	3,6
Mg	888 $\pm$ 64	7,2
Mn	16,3 $\pm$ 0,8	5,0
Rb	11,7 $\pm$ 0,1	1,2
Sb	0,24 $\pm$ 0,01	2,7
Sc	0,081 $\pm$ 0,002	2,6
Se	0,17 $\pm$ 0,02	9,1
V	2,63 $\pm$ 0,11	4,2
Zn	92,6 $\pm$ 1,8	1,9

M – Média aritmética; DP – Desvio Padrão;
DPR – Desvio Padrão Relativo

Na XRFS foi feita uma avaliação da repetitividade do equipamento de XRFS e para isso foram realizadas 10 medições de uma pastilha de líquen em uma posição fixa. A fim de avaliar a homogeneidade da amostra de líquen preparada na forma de pastilhas, foram realizadas medições em 4 posições diferentes em cada face da amostra, totalizando 8 medições.

Na Tabela 6.6 são apresentados os resultados das intensidades em termos de contagens s^{-1} . Observa-se que os DPR para as 10 medições em uma mesma posição ficaram abaixo de 11,7 % indicando uma boa repetitividade, com exceção para o elemento As. Nas medições de 8 posições diferentes de uma mesma pastilha os resultados de DPR variaram de 2,7 a 12,8 % indicando a boa homogeneidade da amostra de líquen preparada em forma de pastilha para os elementos considerados. Para o elemento As, os resultados apresentaram valores

altos de DPR nas medições, devido provavelmente à baixa concentração deste elemento na amostra.

Tabela 6.6 Resultados das intensidades em contagens s⁻¹ obtidos nas medições na análise de líquen pela XRFS.

Elementos	Medidas em 1 posição fixa (n=10)		Medidas em 8 posições distintas	
	M ± DP	DPR (%)	M ± DP	DPR (%)
As	64 ± 19	30,1	75,0 ± 9,6	12,8
Br	128 ± 15	11,7	450 ± 31	6,9
Ca	367724 ± 2439	0,66	140675 ± 5479	3,9
Cl	2418 ± 49	2,03	265 ± 24	9,1
Cr	1257 ± 65	5,2	1722 ± 122	7,1
Cu	62,4 ± 8,7	14,0	172,1 ± 11,2	6,7
Fe	22936 ± 153	0,66	41119 ± 2017	4,9
K	6102 ± 137	2,2	19872 ± 703	3,5
Mn	3931 ± 104	2,6	2287 ± 61	2,7
Rb	70,1 ± 9,9	14,1	637 ± 40	6,3
S	1389 ± 64	4,6	7067 ± 362	5,1
Sr	3591 ± 289	8,05	681 ± 35	5,2
Zn	436 ± 43	9,9	811 ± 41	5,0

M – Média aritmética; DP– Desvio Padrão; DPR– Desvio Padrão Relativo;
n= número de determinações

6.4 Resultados das análises das amostras de líquens

Utilizando a técnica de NAA foi possível a determinação dos seguintes elementos As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Rb, Sb, Sc, Se, U, V e Zn nos líquens coletados na região de estudo da CUASO. Na Tabela 6.7 estão as médias das concentrações dos elementos obtidos nos líquens da área de estudo, das amostras de regiões consideradas limpas e valores da literatura para a Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) (Saiki *et al.*, 2007).

Aplicando o método de XRFS foi possível a determinação dos elementos As, Br, Ca, Cl, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Rb, S, Sr e Zn nos líquens. Os resultados dessas análises para os líquens da região de estudo e de duas regiões consideradas limpas estão apresentados na Tabela 6.8.

Tabela 6.7 Concentrações dos elementos (mg kg^{-1}) nos líquens coletados em diferentes pontos de amostragem da CUASO, nas regiões consideradas limpas determinados pela NAA e valores da literatura.

Elementos	Área de estudo		Regiões limpas*		Valores da literatura**
	M $\pm$ DP (n)	Faixa de Concentração	RL1 (C $\pm$ IC)	RL2 (C $\pm$ IC)	RMSP (M $\pm$ DP)
As	0,39 $\pm$ 0,14(40)	0,13 - 0,70	0,19 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,01	1,40 $\pm$ 0,33
Br	6,01 $\pm$ 3,73(40)	2,69 - 18,30	4,78 $\pm$ 0,02	3,54 $\pm$ 0,02	9,14 $\pm$ 5,05
Ca	33391 $\pm$ 23748(40)	1760 – 96862	7237 $\pm$ 294	11935 $\pm$ 1185	42498 $\pm$ 10867
Cd	1,24 $\pm$ 1,68 (30)	0,29 – 8,93	-	-	3,00 $\pm$ 2,70
Cl	341 $\pm$ 106(40)	120 – 618	671 $\pm$ 9	206 $\pm$ 3	484 $\pm$ 87
Co	0,35 $\pm$ 0,18(40)	0,12 – 0,88	0,21 $\pm$ 0,09	0,28 $\pm$ 0,10	1,06 $\pm$ 0,45
Cr	3,79 $\pm$ 1,67(38)	1,34 – 6,65	1,72 $\pm$ 0,12	1,80 $\pm$ 0,13	15,62 $\pm$ 11,52
Cs	0,230 $\pm$ 0,150(38)	0,066 – 0,942	0,109 $\pm$ 0,044	0,098 $\pm$ 0,06	0,448 $\pm$ 0,161
Cu	21,2 $\pm$ 9,5(26)	9,5 – 45,8	5,8 $\pm$ 1,7	35,4 $\pm$ 8,8	-
Fe	916 $\pm$ 411(40)	267 – 2023	680 $\pm$ 4	684 $\pm$ 4	4031 $\pm$ 1412
K	2283 $\pm$ 1402(40)	569 – 4938	827 $\pm$ 1	1403 $\pm$ 2,2	4414 $\pm$ 1418
La	1,72 $\pm$ 0,75(40)	0,572 – 3,70	1,14 $\pm$ 0,057	1,00 $\pm$ 0,064	6,0 $\pm$ 2,3
Mg	1010 $\pm$ 360(39)	509 – 2034	901 $\pm$ 128	2043 $\pm$ 197	-
Mn	49,4 $\pm$ 32,2(40)	5,6 – 133,0	38,8 $\pm$ 0,9	269,6 $\pm$ 5,3	62,0 $\pm$ 19,0
Rb	10,3 $\pm$ 5,9(40)	2,7– 26,9	2,94 $\pm$ 0,28	6,7 $\pm$ 0,35	14,85 $\pm$ 3,90
Sb	0,72 $\pm$ 0,44(40)	0,22 – 2,35	0,10 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	1,39 $\pm$ 0,48
Sc	0,20 $\pm$ 0,03(40)	0,06 – 0,46	0,23 $\pm$ 0,013	0,20 $\pm$ 0,01	0,91 $\pm$ 0,26
Se	0,27 $\pm$ 0,08(40)	0,13 – 0,43	0,08 $\pm$ 0,06	0,08 $\pm$ 0,07	0,70 $\pm$ 0,16
U	0,09 $\pm$ 0,04(34)	0,03 – 0,20	0,04 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,11
V	2,25 $\pm$ 0,87(40)	0,62 – 4,46	2,51 $\pm$ 0,12	2,39 $\pm$ 0,13	-
Zn	119 $\pm$ 69(40)	55 – 404	25,7 $\pm$ 0,2	32,5 $\pm$ 0,3	158 $\pm$ 43

M – Média aritmética; DP– Desvio Padrão; n – número de amostras; C – Concentração; “–” não detectado; IC

– Incerteza da concentração calculada considerando erros nas taxas de contagens da amostra e padrão; *

Regiões consideradas não poluídas; ** Saiki *et al* (2007)

Tabela 6.8 Concentrações dos elementos (mg kg⁻¹) em líquens coletados na CUASO e em regiões consideradas limpas, determinados por XRFS.

Elementos	Área de estudo		Regiões limpas*	
	M ± DP(n)	Faixa de Concentração	RL1 (C ± IC)	RL2 (C ± IC)
As	0,57 ± 0,26(39)	0,17 – 1,25	0,21 ± 0,13	-
Br	5,7 ± 3,6(40)	1,1 – 21,2	4,7 ± 1,3	1,1 ± 0,7
Ca	31094 ± 20093(40)	2258 – 77710	10764 ± 700	27093 ± 1761
Cl	251 ± 137(40)	45 – 698	564 ± 41	105 ± 13
Cr	2,19 ± 0,62(40)	1,12 – 3,44	1,63 ± 0,33	1,78 ± 0,15
Cu	13,2 ± 9,6(39)	3,0 – 43,1	2,7 ± 1,4	-
Fe	525 ± 261(40)	58 – 1269	727 ± 246	330 ± 112
K	1988 ± 1026(40)	322 – 4416	865 ± 57	1077 ± 69
Mn	74 ± 37(40)	24 – 205	93 ± 8	175 ± 14
Rb	10,0 ± 5,0(40)	3,7 – 27,2	-	13,9 ± 2,1
S	1630 ± 697(40)	639 – 3549	549 ± 42	1122 ± 76
Sr	53 ± 48(40)	10 – 178	41 ± 4	113 ± 9
Zn	119 ± 66(40)	31 – 326	33 ± 4	16 ± 2

M – Média aritmética; DP – Desvio Padrão; n – número de amostras; “–” não detectado; C – Concentração; IC – Incerteza de concentração; * Regiões consideradas não poluídas

Os resultados individuais dos líquens analisados pela NAA e XRFS estão apresentados nos Apêndices B e C, respectivamente.

Observa-se nas Tabelas 6.7 e 6.8 as concentrações médias obtidas para a maioria dos elementos nos líquens da área de estudo são mais elevadas ou da mesma ordem de grandeza das dos líquens das duas regiões limpas. As exceções foram para Cl que apresentou uma concentração mais elevada para a amostra da região limpa RL1 e para Mg, Mn e Sr as concentrações elevadas foram obtidas para o líquen RL2 proveniente de outra região considerada não poluída.

Por outro lado, as concentrações médias dos elementos encontrados nos líquens da CUASO foram, em geral, mais baixas ou da mesma ordem de grandeza dos valores médios apresentados da literatura para a RMSP (Saiki *et al.*, 2007).

Para melhor visualização e discussão dos resultados obtidos nos líquens da CUASO estão apresentados no item 6.6 deste trabalho os mapas de distribuição das concentrações de elementos nos líquens.

6.5 Comparação entre os resultados dos líquens obtidos pela análise por ativação com nêutrons e espectrometria de fluorescência de raios X

As determinações de As, Br, Ca, Cl, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Rb e Zn nos líquens da área de estudo foram obtidas pelas técnicas de análise por ativação com nêutrons e espectrometria de fluorescência de raios X. A fim de avaliar se os resultados obtidos por estas duas técnicas apresentam diferenças significativas, foram aplicados o Teste de Levene juntamente com Teste *t de student* para amostras independentes com nível de confiança de 95%.

Na Tabela 6.9 estão os valores médios de concentrações, os desvios padrão juntamente com os resultados dos testes estatísticos para as concentrações dos elementos determinados por XRFS e NAA. Nesta Tabela os resultados apresentados com letras minúsculas iguais (na linha) indicam que não há diferença significativa entre as médias.

Tabela 6.9 Comparação entre as concentrações (mg kg^{-1}) dos elementos determinados nos líquens pelos métodos de XRFS e NAA.

Elementos	XRFS	NAA
	M $\pm$ DP(n)	M $\pm$ DP(n)
As	0,57 $\pm$ 0,26(39) ^a	0,39 $\pm$ 0,14(40) ^b
Br	5,7 $\pm$ 3,6(40) ^a	6,0 $\pm$ 3,7(40) ^a
Ca	31094 $\pm$ 20093(40) ^a	33391 $\pm$ 23748(40) ^a
Cl	251 $\pm$ 137(40) ^a	341 $\pm$ 106(40) ^b
Cr	2,19 $\pm$ 0,62(40) ^a	3,79 $\pm$ 1,67(38) ^b
Cu	13,2 $\pm$ 9,6(39) ^a	21,2 $\pm$ 9,5(26) ^a
Fe	525 $\pm$ 261(40) ^a	916 $\pm$ 411(40) ^b
K	1988 $\pm$ 1026(40) ^a	2283 $\pm$ 1402(40) ^a
Mn	74 $\pm$ 37(40) ^a	59,5 $\pm$ 69,7(40) ^a
Rb	10,0 $\pm$ 5,0(40) ^a	10,3 $\pm$ 5,9(40) ^a
Zn	119 $\pm$ 66(40) ^a	119 $\pm$ 69(40) ^a

Letras minúsculas idênticas na mesma linha indicam que não há diferença significativa.

M – Média aritmética; DP – Desvio Padrão;

n – número de amostras

A maioria dos elementos não apresentou diferença significativa, com exceção de As, Cl, Cr e Fe. Para melhor visualização destes dados, na Figura 6.4 (A, B, C) são apresentados os gráficos dos valores médios das concentrações com seus desvios padrão.

A diferença significativa entre os dados, observada para Cl, Cr e Fe pode ser atribuída aos resultados obtidos pela XRFS. A proximidade e sobreposição dos picos desses elementos no espectro de XRFS, ocasionou dificuldades na obtenção das intensidades das áreas dos picos destes elementos, que posteriormente foram utilizados nos cálculos das concentrações dos elementos.

Também a determinação de As pela XRFS apresentou dificuldade devido à baixa intensidade do pico ocasionado pela sua baixa concentração nos líquens. Um pico com baixa intensidade pode estar sobreposto pela radiação de fundo na XRFS, tornando difícil a quantificação correta do elemento.

Figura 6.4 Gráficos comparativos das médias das concentrações ($M \pm DP$) dos elementos determinados nos líquens pela NAA e XRFS (Resultados em mg kg^{-1} a menos que esteja indicado).

6.6 Análise dos resultados obtidos e mapas da distribuição das concentrações dos elementos nos líquens da CUASO

Para melhor compreensão dos resultados das concentrações dos elementos nos líquens da CUASO, será apresentada uma discussão destes resultados usando os mapas de distribuição das concentrações. Neste item são apresentados os mapas de elementos de interesse do ponto de vista ambiental visando identificar suas possíveis origens. Os mapas de distribuição das concentrações dos demais elementos determinados neste trabalho estão no Apêndice D.

Estes mapas da distribuição das concentrações de elementos nos líquens foram obtidos utilizando software *Surfer* versão 12 e aplicando o método de Krigagem para uma função linear. A função linear foi escolhida por meio de estudo variográfico dos dados de 21 elementos determinados pela NAA e de S e Sr por XRFS.

6.6.1 Arsênio e antimônio

A Figura 6.5 mostra o mapa da distribuição das concentrações de As nos líquens da área de estudo sendo que as concentrações mais elevadas são indicadas com as cores mais intensas. De acordo com este mapa, as mais altas concentrações de As encontram-se em pontos das regiões Centro, Norte, Sul e Sudeste da CUASO e, como estes pontos ficam próximos às rodovias seus altos teores podem estar relacionados a emissões veiculares.

De acordo com os resultados obtidos nas análises de líquens *C. texana* (Tabelas 6.7 e 6.8), a concentração média de As ficou abaixo do valor médio obtido por Saiki *et al.*, (2007) para RMSP, porém seu valor foi mais elevado do que as regiões consideradas não poluídas.

O As é um elemento tóxico e segundo Bajpai *et al* (2013) a sua origem no ar pode estar relacionada às emissões da indústria metalúrgica, indústria eletrônica, combustão de combustíveis fósseis, atividade de processamento de minérios e outros. O As é encontrado na gasolina e diesel (Brandão *et al.*, 2006) e em material particulado (PM_{2,5}) emitidos por tubos de escape de motores a diesel e gasolina (Schauer *et al.*, 2006).

Figura 6.5 Mapa da distribuição das concentrações de As nos líquens da CUASO.

A Figura 6.6 mostra o mapa da distribuição das concentrações de Sb na CUASO. Neste mapa é possível observar que a concentração de Sb apresentou ampla variabilidade entre os pontos de coleta de líquens e as mais altas concentrações de Sb estão nos pontos da região Norte, Nordeste e Leste da CUASO. Para o Sb, a concentração média encontrada na área de estudo foi sete vezes maior do que os valores das regiões limpas, mas seu valor foi inferior ao da RMSP.

Com relação a presença de Sb no meio ambiente convém salientar que este elemento apresenta características geoquímicas relacionadas com o As, e está associada a mais de 100 minerais e os seus níveis elevados têm sido observados em regiões industriais (Kabata-Pendias, 2011). Este elemento é usado como retardador do fogo em materiais plásticos, borrachas, têxteis, tintas e papel (Nordberg et al., 2007). O Sb também está associado a queima de combustíveis fósseis e desgaste de freios de veículos (Schauer et al., 2006).

Boamponsem et al., (2010) que determinaram metais em líquens em uma região de mineração de ouro obtiveram concentrações de Sb variando de 0,78 a 10,35 ppm e na região de controle a concentração de 0,16 ppm. Os autores

atribuíram a origem destas altas concentrações de Sb na região de estudo a fontes antrópicas.

Na área de estudo deste trabalho, foram obtidas altas concentrações de Sb próxima a Rodovia Marginal Pinheiros, indicando possível associação deste elemento com emissões veiculares.

Figura 6.6 Mapa da distribuição das concentrações de Sb nos líquens da CUASO.

6.6.2 Bromo e cloro

A concentração média de Br nos líquens da área de estudo foi da mesma ordem de grandeza dos das regiões limpas e da RMSP.

Segundo Fuga *et al.*, (2008) a presença de Br em líquens de RMSP pode estar associada a emissões de fontes veiculares ou industriais. Bergamaschi *et al.*, (2002) determinaram Br e outros metais em líquens do Himalaia e por meio da avaliação de seu fator de enriquecimento concluíram que este elemento pode derivar de fontes naturais e antrópicas.

Segundo Kabata-Pendias (2011), a presença do Br pode estar associada ao impacto de exaustão dos carros. Este elemento na forma de 1,2 dibromoetano é adicionado à gasolina para elevar seu teor de octano e evitar problemas de desgastes. Mas o uso deste aditivo tem diminuído devido as

modificações nas legislações ambientais. Todos os compostos de bromo são muito persistentes e viajam longas distâncias tanto na água quanto na atmosfera

A Figura 6.7 mostra o mapa da distribuição das concentrações de Br nos líquens da CUASO. De acordo com esta Figura as concentrações de Br são elevadas em pontos próximos a região Noroeste, Centro e Sudeste. Na parte Norte da CUASO está localizada a portaria que dá acesso às avenidas da Escola Politécnica e Marginal Pinheiros, isto é próximo a locais de intenso tráfego veicular.

Figura 6.7 Mapa da distribuição da concentração para Br nos líquens da CUASO

Para o Cl, o teor obtido nos líquens da área de estudo foi da mesma ordem de grandeza do de Botucatu e da RMSP, porém foi duas vezes menor do de Itirapina. A origem de Cl nos líquens da CUASO pode ser, provavelmente, de fonte natural.

O Cl é um elemento comum encontrado no meio ambiente terrestre em rochas ígneas, arenito, calcários rochas, minerais como depósitos de sal de rocha sólida, como ingrediente dissolvido na água do mar e do subsolo salmouras (Kabata-Pendias, 2011).

6.6.3 Cromo, ferro e cobalto

Os líquens coletados na CUASO apresentaram concentrações de Cr, Co e Fe mais elevadas das das regiões consideradas limpas, porém inferiores às concentrações médias da RMSP (Tabela 6.7). As Figuras 6.8, 6.9 e 6.10 dos mapas da distribuição das concentrações de Cr, Co e Fe, respectivamente, mostram que altas concentrações destes elementos são encontradas em pontos próximos das regiões Norte, Nordeste, Sudeste e também no Centro da CUASO.

Bajpai *et al.*, (2013) determinaram Fe em líquens variando de 334,97 a 989,93 $\mu\text{g g}^{-1}$ e observaram que houve aumento da concentração deste elemento próximo às áreas de tráfego veicular. Khairudin *et al.* (2014) obtiveram concentrações de Cr variando de 1,91 a 12,3 mg kg^{-1} e de Co entre 0,16 e 0,52 mg kg^{-1} em líquens epifíticos da Província de Sul Klang.

Segundo Schauer *et al.*, (2006) teores de Fe e Cr estão presentes em pó de freio e pó de estradas. Também a presença de Cr, Co e Fe está associada à produção das chamadas superligas, além disso, a presença de Co tem sido observada na queima de combustíveis fósseis (Nordberg *et al.*, 2007).

Portanto, os teores de Cr, Co e Fe encontrados nos líquens da CUASO podem estar relacionados com as emissões veiculares e de indústrias metalúrgicas pequenas localizadas na cidade de São Paulo.

Figura 6.8 Mapa da distribuição das concentrações para Cr nos líquens da CUASO.

Figura 6.9 Mapa de distribuição das concentrações de Co nos líquens da CUASO.

Figura 6.10 Mapa da distribuição das concentrações para Fe nos líquens da CUASO.

6.6.4 Césio e rubídio

As concentrações médias obtidas para Cs e Rb nos líquens da CUASO apresentaram ampla variabilidade e foram superiores às dos líquens das áreas limpas, e inferiores à do líquen da RMSP. Estes dois elementos estão presentes naturalmente nos líquens (Bergamaschi *et al.*, 2002) e apresentam comportamento semelhante e são facilmente absorvidos podendo competir com absorção de K pelas plantas (Kabata-Pendias, 2011).

6.6.5 Cálcio e potássio

Os resultados obtidos para Ca e K, mostram que as suas concentrações médias nos líquens da CUASO são mais elevadas do que os das regiões limpas e mais baixas dos da RMSP (Tabela 6.7).

O Ca e K ocorrem naturalmente nos líquens e são elementos essenciais para a sobrevivência deste organismo. A origem destes elementos nos líquens pode ser de diversas fontes, mas de acordo com Garty *et al.*, (2003) a presença de Ca e K nos líquens pode ser atribuída à deposição seca de poeira do solo. Zhang *et al.*, (2002) relatam que a presença do Ca não está relacionada apenas a sua origem da poeira do solo, mas também ao pó de cimento das construções.

A Figura 6.11 mostra o mapa de distribuição das concentrações de Ca nos líquens da CUASO. Para Ca, suas altas concentrações estão em pontos localizados nas regiões Oeste e Sul da CUASO. Nos líquens da área de estudo, é possível que as altas concentrações de Ca estejam relacionadas com a poeira de construções, pois no campus e proximidades existem vários prédios em construção e, além disso, sabe-se da existência de uma pequena fábrica de produção de cimento perto da CUASO.

Figura 6.11 Mapa da distribuição das concentrações de Ca nos líquens da CUASO.

6.6.6 *Magnésio e manganês*

Para Mg, a concentração média obtida nos líquens da CUASO foi inferior à do líquen de Botucatu, e da mesma ordem de grandeza do líquen de Itirapina.

O Mg é o segundo cátion mais abundante em micro-organismos (Blackweel *et al.*, 1998) e é um nutriente que ocorre em altas concentrações nas plantas (Reimann *et al.*, 1999).

Bergamaschi *et al.*, (2002) encontraram concentrações de Mg em líquens do Himalaia variando de 319 a 5839 mg kg⁻¹. Os autores calcularam o fator de enriquecimento deste elemento nos líquens e relataram que suas altas concentrações podem indicar uma alteração local não aparente ou origem antrópica.

A concentração média de Mn obtida nos líquens da CUASO foi da mesma ordem de grandeza da dos líquens de Itirapina e RMSP, porém inferior à do de Botucatu.

O Mn é naturalmente abundante no solo e é considerado como um dos elementos menos tóxicos no ambiente (Bajpai *et al.*, 2013). Este elemento é um

micronutriente importante e é um componente intrínseco em árvores (Pacheco e Freitas, 2009). Hauck *et al.*, (2001) demonstraram que a concentração de Mn em líquens epifíticos depende de características das cascas de árvores e / ou das propriedades do solo, no entanto, Bargagli e Nimis (2002) relataram que concentrações de Mn acima de $140 \mu\text{g g}^{-1}$ podem ocorrer devido a alterações muito altas deste elemento no ambiente.

Os teores de Mg e Mn encontrados nos líquens da CUASO pode ser de origem natural, uma vez que o Mg é um nutriente das plantas e o Mn é abundante no solo.

As altas concentrações de Mg e Mn obtidas no líquen RL2, amostra esta coletada no Jardim Botânico da Cidade de Botucatu-SP, podem ser originários de fontes diversas, sendo necessária uma investigação detalhada para explicar as altas concentrações destes elementos nos líquens deste local considerado limpo.

6.6.7 Escândio, lantânio, urânio e selênio

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 6.7) para os líquens da CUASO, as concentrações médias para Sc, La e U foram muito próximas às dos das regiões limpas e inferiores às dos da RMSP.

Para Se, a concentração média nos líquens da CUASO foi mais alta que das regiões limpas e inferior que da RMSP.

Khairudin *et al.*, (2014) determinaram Sc e La em líquens e atribuíram a origem dos teores destes elementos como do solo. Bergamaschi *et al.*, (2002) também determinaram Sc em líquens do Himalaia e também relacionaram sua origem como do solo. Estes pesquisadores utilizaram as concentrações obtidas para Sc no cálculo do fator de enriquecimento dos elementos nos líquens.

Jeran *et al.*, (2002 e 1996) determinaram La, Sc, Se e U em líquens e na realização da extração de fatores dos resultados, estes elementos agruparam-se como sendo do fator 1 (F1) atribuído pelos autores como sendo fator solo. Fuga *et al.*, (2008) também atribuíram a origem destes elementos em líquens da RMSP ao solo. Na CUASO, é provável que a origem destes elementos nos líquens seja de resuspensão de partículas de solo.

6.6.8 Cádmio e zinco

Nos líquens coletados na CUASO, a concentração média de Cd foi de $1,16 \pm 1,60 \text{ mg kg}^{-1}$ e a determinação quantitativa deste elemento foi possível em 30 amostras sendo que seus resultados variaram entre 0,29 e $8,93 \text{ mg kg}^{-1}$. Este elemento não foi detectado nas amostras das regiões consideradas limpas. Na RMSP os resultados obtidos por Saiki *et al.*, (2007) apresentaram um valor médio de $3,0 \pm 2,7 \text{ mg kg}^{-1}$.

O Cd é considerado como um dos metais mais ecotóxicos que exibem efeitos adversos sobre todos os processos biológicos de seres humanos, animais e plantas. Este elemento apresenta potencial negativo que afeta o meio ambiente e na qualidade dos alimentos. O Cd apresenta alta afinidade com Zn e sua produção ocorre principalmente como um subproduto da extração e refino de minérios de Zn. A aplicação de Cd está na produção de pilhas, baterias, pigmentos, revestimentos e estabilizante para materiais plásticos (Kabata-Pendias, 2011).

Além disso, Cd pode estar presente nos produtos como diesel e gasolina (Pulles *et al.*, 2012). Os estudos deste elemento em material particulado têm revelado que Cd pode provir de poeira de estrada (Schauer *et al.*, 2006) e da queima de combustíveis (Pacyna *et al.*, 2007). Já nos líquens, Paoli *et al.*, (2013) e Bajpai *et al.*, (2013) relacionaram as concentrações elevadas de Cd encontrados em líquens com o tráfego veicular.

Para o Zn, foi obtida nos líquens da CUASO uma concentração média mais alta do que das regiões limpas e da mesma ordem de grandeza da RMSP (Tabela 6.7).

O Zn é um elemento uniformemente distribuído nos solos e no Brasil, a concentração de zinco pode variar de 4 a 19 mg kg^{-1} dependendo do tipo de solo (Melo Jr. *et al.*, 2006). O zinco é usado em muitas indústrias, principalmente para evitar a corrosão do aço. É um componente importante de várias ligas e é amplamente usado como catalisador na produção de substâncias químicas diferentes (por exemplo, borracha, plásticos, pigmentos, lubrificantes e pesticidas). Também o Zn pode ser utilizado em baterias de automóvel, equipamento, tubos e dispositivos domésticos. Os diferentes compostos de Zn têm aplicações médicas e odontológicas (Kabata-Pendias, 2011).

No meio urbano, teores de Zn estão diretamente relacionados à emissões veiculares. Zn é um dos elementos mais abundantes e medidos em material particulado. Sua presença tem sido observada em emissões de veículos movidos a diesel, gasolina, assim como na poeira de estrada, desgaste de peças, emissões de tudo de escape e desgaste de freios (Schauer *et al.*, 2006).

Paoli *et al.*, (2013); Bajpai *et al.*, (2013); Brunialti e Frati, (2007); determinaram Zn em líquens e relacionaram sua presença com as emissões do tráfego de veículos.

Saiki *et al.*, (2007) relacionaram as altas concentrações de Cd e Zn nos líquens da cidade de Santo André, da RMSP, com emissões de indústrias e fábricas petroquímicas localizadas próximas a Santo André. De acordo com Bargagli e Nimis (2002), concentrações de Cd > 2,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ e Zn > 155 $\mu\text{g g}^{-1}$ em líquens analisados na Itália podem indicar alterações muito altas no meio ambiente.

As Figuras 6.12 e 6.13 mostram os mapas da distribuição das concentrações de Cd e de Zn nos líquens da CUASO. Altas concentrações de Zn são observadas em pontos próximos às regiões Norte, Sul e Sudeste. As altas concentrações de Cd e Zn nos líquens são localizadas em pontos na parte Sul da CUASO e estão próximas a pontos de ônibus da Av. Prof. Lineu Prestes, onde há grande circulação de veículos. Portanto as possíveis fontes de origem de Cd e Zn nos líquens da CUASO podem ser atribuídas a emissões veiculares.

Figura 6.12 Mapa da distribuição das concentrações de Cd nos líquens da CUASO.

Figura 6.13 Mapa da distribuição das concentrações de Zn nos líquens da CUASO.

6.6.9 Cobre e vanádio

O Cu foi determinado em 26 amostras de líquens da CUASO e a sua concentração média foi mais alta que a do líquen de Itirapina e da mesma ordem de grandeza da de Botucatu.

Para V, a concentração média dos líquens da CUASO foi da mesma ordem de grandeza das regiões consideradas limpas.

Boamponsen *et al.*, (2010) obtiveram concentrações de Cu e V nos líquens variando entre 0,26 e 370 ppm e entre 1,53 e 27,24 ppm, respectivamente. Brunialti e Frati (2007) também determinaram Cu e V em líquens e a origem do Cu foi associada a emissão dos escapamentos de veículos e as atividades de mineração. Já a origem de V foi associada a indústria de refino de petróleo e emissões de tráfego veicular.

De acordo com Scerbo *et al.*, (2002) na Província de Pisa, na Itália, a emissão veicular indicou ser a principal fonte de origem de Cu além de Cd, Cr, Pb e Zn na atmosfera.

Schauer *et al.*, (2006) relataram sobre a presença de V em emissões de escape de veículos a diesel, gasolina e pó de desgaste dos pneus e de Cu em poeira de estrada, combustão de combustível, óleo lubrificante e poeira de freios.

Além disso, o V é utilizado na indústria de aço, na produção de motores de avião, bem como catalisador na indústria de vidros, cerâmica e química. O Cu é muito utilizado na indústria eletrônica (nos fios e cabos), na produção de ligas metálicas e tratamento de madeira. O Cu e V também podem estar adicionados a pesticidas e pigmentos (Kabata-Pendias, 2011; Nordberg *et al.*, 2007).

Os mapas de distribuição das concentrações de Cu e V são apresentados nas Figuras 6.14 e 6.15, respectivamente. De acordo com estes mapas, as altas concentrações destes elementos estão em pontos localizados nas regiões Norte e Sudeste e as áreas com níveis mais baixos estão apenas na parte Centro-Oeste da CUASO.

De acordo com os trabalhos da literatura, as altas concentrações de Cu e V encontrados nos líquens da região de estudo podem ser atribuídas a emissões veiculares.

Figura 6.14 Mapa da distribuição das concentrações de Cu nos líquens da CUASO.

Figura 6.15 Mapa da distribuição das concentrações de V nos líquens da CUASO.

6.6.10 Enxofre e estrôncio

Para S, a concentração média dos líquens da CUASO foi mais alta que do de Itirapina e da mesma ordem de grandeza do de Botucatu.

O S está presente na atmosfera na forma de dióxido de enxofre (SO_2) e este é gás é liberado na atmosfera das emissões naturais (vulcânicas) ou fontes antrópicas, como na produção fertilizantes, papel, fundição de aço e nas emissões veiculares devido a queima de combustível fóssil (CETESB, 2015). Os líquens são conhecidos como espécies sensíveis a este gás (Ferreti *et al.*, 2004), tendo potencial para fornecer informação quantitativa sobre a poluição de enxofre na atmosfera (Wadleigh, 2003). Segundo Giordani (2007), altas concentrações de SO_2 no ar atmosférico podem reduzir a diversidade de espécies de líquens.

Carreras *et al.* (1998) observaram aumento nos teores de S nos líquens transplantados para pontos no centro da cidade e estes autores atribuíram este resultado como devido a emissões industriais e veiculares.

Os pontos onde os líquens apresentaram altas concentrações de S na área de estudo podem ser vistos nas regiões Nordeste, Leste e Sudeste (Figura 6.16) estes níveis elevados podem estar relacionados com a queima de combustíveis fosseis ocasionadas pelos veículos que transitam em rodovias próximas.

Figura 6.16 Mapa da distribuição das concentrações de S nos líquens da CUASO

O Sr nos líquens da CUASO apresentou concentração média da mesma ordem de grandeza da do líquen de Itirapina, porém mais baixa que a do líquen de Botucatu.

Sr é um elemento relativamente comum na crosta da terrestre e os minerais de argila apresentam uma grande capacidade para absorvê-lo. Este elemento não tem aplicação como metal puro, sendo utilizado na produção de cerâmica e vidro. Outras utilizações de compostos Sr estão em várias tecnologias de metalurgia, pigmentos de tintas luminescentes e alguns medicamentos (Kabata-Pendias, 2011). A presença de Sr em material particulado tem sido relacionada a poeira de estrada, emissão de tubos de escape de veículos a diesel e gasolina e do pó de desgaste de freio (Schauer *et al.*, 2006).

Nos biomonitores a presença de Sr foi investigada por Malaspina *et al.*, (2014) que determinaram uma severa acumulação de Sr em líquens da variedade *ceratea*. Pacheco e Freitas (2009) determinaram Sr em líquens e relacionaram sua presença como sendo de origem marinha.

Na Figura 6.17 as altas concentrações de Sr podem ser vistas em pontos localizadas na parte Nordeste, Sul e Oeste da CUASO. A origem deste elemento

nos líquens da CUASO pode ser de origem natural devido a resuspensão de partículas de solo e também de emissões veiculares.

Figura 6.17 Mapa da distribuição das concentrações de Sr nos líquens da CUASO.

6.7 Correlação entre os elementos determinados nos líquens

Foi verificada se há uma correlação entre os elementos determinados nas análises dos líquens. Na Tabela 6.10 é apresentada a matriz de correlação de Pearson para os 21 elementos determinado pela NAA e para S e Sr determinados por XRFS. Os coeficientes de correlação mais altos ($r > 0,7$) estão apresentados em negrito na Tabela 6.10.

Tabela 6.10 Resultados das correlações de Pearson entre os elementos determinados nos líquens da CUASO.

	As	Br	Ca	Cd	Cl	Co	Cr	Cs	Cu	Fe	K	La	Mg	Mn	Rb	S	Sb	Sc	Se	Sr	U	V	Zn
As	1																						
Br	0,197	1																					
Ca	-0,220	-0,134	1																				
Cd	-0,052	0,080	0,330*	1																			
Cl	-0,080	0,033	0,048	0,404**	1																		
Co	0,686**	0,241	-0,225	0,122	-0,081	1																	
Cr	0,647**	-0,020	-0,088	0,134	-0,144	0,773**	1																
Cs	0,333*	0,090	-0,145	-0,156	-0,152	0,484**	0,324*	1															
Cu	0,22	0,297	-0,210	0,150	0,051	0,361*	0,186	0,272	1														
Fe	0,644**	0,065	-0,056	0,185	-0,124	0,802**	0,938**	0,336*	0,28	1													
K	0,301	-0,291	-0,251	-0,147	-0,355*	0,414**	0,627**	0,444**	0,113	0,515**	1												
La	0,460**	0,110	-0,006	0,377*	0,047	0,662**	0,764**	-0,015	0,188	0,791**	0,305	1											
Mg	-0,007	-0,129	0,097	-0,074	-0,342*	0,076	0,164	0,201	0,100	0,173	0,280	-0,007	1										
Mn	0,222	-0,046	0,021	0,206	0,326*	0,048	0,212	-0,037	0,203	0,159	0,003	0,201	-0,022	1									
Rb	0,224	-0,202	-0,207	-0,149	-0,366*	0,354*	0,512**	0,529**	0,179	0,447**	0,875**	0,130	0,328*	0,034	1								
S	0,309	-0,094	-0,439**	-0,151	-0,504**	0,240	0,337*	0,196	0,169	0,306	0,538**	0,168	0,117	-0,178	0,495**	1							
Sb	0,473**	-0,259	-0,178	0,048	-0,054	0,489**	0,817**	0,266	0,068	0,651**	0,613**	0,570**	0,033	0,110	0,413**	0,315*	1						
Sc	0,626**	0,095	-0,034	0,117	-0,143	0,797**	0,923**	0,331*	0,253	0,984**	0,490**	0,762**	0,176	0,124	0,443**	0,281	0,607**	1					
Se	0,722**	0,116	-0,194	0,129	-0,105	0,723**	0,746**	0,367*	0,287	0,770**	0,452**	0,684**	0,083	0,150	0,343*	0,269	0,549**	0,737**	1				
Sr	-0,078	0,101	0,791**	0,402*	0,169	0,063	0,054	-0,062	0,005	0,104	-0,255	0,198	0,092	0,021	-0,242	0,532**	-0,046	0,102	-0,019	1			
U	0,490**	0,080	-0,247	-0,025	0,046	0,697**	0,816**	0,271	0,082	0,748**	0,376*	0,562**	-0,043	-0,035	0,335	0,191	0,657**	0,781**	0,460**	-0,044	1		
V	0,597**	0,198	-0,137	0,085	-0,194	0,779**	0,742**	0,296	0,427**	0,853**	0,412**	0,672**	0,131	0,041	0,447**	0,484**	0,376*	0,860**	0,672**	-0,035	0,562**	1	
Zn	0,150	0,122	0,012	0,807**	0,263	0,320*	0,282	-0,148	0,353*	0,311	0,026	0,565**	-0,172	0,177	-0,066	0,096	0,250	0,206	0,280	0,225	0,065	0,253	1

* A correlação é significativa no nível de confiança de 95 %; ** A correlação é significativa no nível de confiança de 99%

O Cr apresentou alta correlação com oito elementos (Fe, Sc, Sb, U, Co, La, Se e V) sendo que a mais alta correlação foi com Fe ($r = 0,938$). Fe, Cr e Co também apresentaram altas correlações que podem estar relacionadas com as emissões de indústrias metalúrgicas e de veículos, enquanto que entre Cr e os elementos Sc, Se, La e U as suas altas correlações podem ser devido ao acúmulo destes elementos do solo pelos líquens da região de estudo. As altas correlações entre o Cr e os elementos Sb e V podem ser devidas à origem veicular destes elementos presentes nos líquens.

As altas correlações entre K e Rb e entre Ca e Sr podem ser devido às suas origens naturais, pois cátions com mesmo número de valência podem competir entre si nos micro-organismos e apresentar correlações.

As e Se apresentaram alta correlação ($r = 0,722$) que pode estar associada à presença destes elementos no solo, isso possivelmente explica as altas correlações de Se com Co e Sc.

O Sc apresentou altas correlações com os elementos Co, Fe, La, U e V provavelmente devido estes elementos apresentarem a sua origem principalmente da resuspensão de partículas do solo.

O Cd e Zn apresentaram um alto coeficiente de correlação ($r = 0,807$), cujo resultado pode estar relacionado à presença destes dois elementos em emissões veiculares.

Os elementos que apresentaram coeficientes de correlação não significativo foram Br, Cl, Cs, Cu, Mg, Mn e S.

6.8 Análise de componentes principais (PCA)

Neste item serão apresentados os resultados da análise de componentes principais (PCA) aplicada aos resultados de elementos determinados nos líquens da CUASO. Para PCA foi utilizado o software SPSS versão 22 da IBM. Assim como na avaliação da correlação de Pearson, foram utilizados os resultados de 21 elementos determinados pela NAA e de S e Sr por XRFS.

A PCA foi feita com intuito de verificar se existe um padrão de semelhança entre os vários elementos determinados nos líquens. Na PCA os elementos de cada componente extraído podem ter uma inter-relação.

A Tabela 6.11 dos resultados da PCA mostra os 6 componentes principais (PC) extraídos com 80,4 % de variância.

Tabela 6.11 Resultados da análise de componentes principais (PCA) aplicada aos resultados de elementos determinados nos líquens da CUASO.

Matriz de componente rotativa^a						
Elementos	Componentes					
	1	2	3	4	5	6
As	0,729	-0,162	-0,211	0,137	-0,246	-0,060
Br	0,213	0,023	0,008	0,057	-0,797	-0,037
Ca	-0,121	0,092	0,879	-0,179	-0,010	0,076
Cd	0,036	0,829	0,287	-0,129	0,027	-0,115
Cl	0,026	0,445	0,103	0,043	0,006	-0,774
Co	0,840	0,072	-0,093	0,307	-0,161	-0,031
Cr	0,944	0,092	0,021	0,066	0,223	0,112
Cs	0,378	-0,185	-0,143	0,753	0,060	0,044
Cu	0,154	0,466	-0,130	0,586	-0,363	0,102
Fe	0,940	0,155	0,056	0,115	0,039	0,102
K	0,407	-0,055	-0,282	0,380	0,584	0,355
La	0,770	0,426	0,131	-0,223	-0,037	0,025
Mg	-0,014	-0,058	0,329	0,377	0,113	0,594
Mn	0,006	0,714	0,178	0,288	-0,034	-0,231
Rb	0,273	-0,118	-0,193	0,534	0,493	0,415
S	0,228	0,010	-0,599	0,005	0,103	0,682
Sb	0,695	0,086	-0,144	-0,037	0,531	-0,074
Sc	0,936	0,052	0,094	0,117	-0,004	0,101
Se	0,757	0,054	-0,050	0,250	-0,106	-0,025
Sr	0,114	0,243	0,884	-0,018	-0,103	-0,127
U	0,835	-0,092	-0,076	-0,012	0,212	-0,056
V	0,777	0,118	-0,117	0,196	-0,281	0,279
Zn	0,193	0,892	-0,056	-0,181	-0,026	-0,047

Método de rotação: Varimax com normalização e Kaiser;

^a Rotação convergida em 9 iterações

No componente principal 1 (PC1), os coeficientes de ponderação indicaram a dominância relativa dos elementos As, Co, Cr, Fe, La, Sb, Sc, Se, U e V. No segundo componente (PC2) Cd, Mn e Zn são dominantes. O terceiro (PC3) apresenta dominância de Ca e Sr, enquanto no quarto (PC4) Cs, Cu e Rb são dominantes. No quinto componente (PC5) apenas o K é dominante e o sexto componente (PC6) apresenta dominância de Mg e S.

Br e Cl não apresentaram dominância significativa em nenhum componente.

O PC1 representa 35,2 % da variância da análise efetuada, enquanto PC 2 representa 17,7 %, estes dois componentes são os mais representativos (52,9 %) na PCA. Os elementos que apresentaram maior dominância relativa no PC1 e no PC2 também apresentaram altas correlações ($r > 0,7$) na matriz de correlação de Pearson (Tabela 6.10) com exceção do Mn. Para melhor visualização desses componentes, a Figura 6.18 mostra o gráfico da PC1 em função de PC2.

No PC1 estão presentes elementos podem ter como origem a resuspensão de partículas de solo que se acumulam nos líquens e elementos associados a emissões veiculares.

Os elementos Cd, Mn e Zn podem ter se agrupado no PC2 pois sua presença nos líquens pode ter a mesma origem. Estes metais são relacionados, em diversos estudos, com emissões veiculares.

Figura 6.18 Gráfico das duas componentes principais (PC1) e (PC2) da análise efetuada nos resultados dos líquens da CUASO.

6.9 Fator de enriquecimento

A distribuição dos elementos químicos no meio ambiente depende de inúmeros fatores, como das características geológicas, clima, precipitação, direção dos ventos entre outros.

Uma questão fundamental em estudos ambientais é encontrar a influência antrópica sobre o meio ambiente e para avaliar a diferença entre as fontes de origem natural e antrópica (Prudêncio, 2006).

A fim de avaliar as origens dos elementos químicos determinados em líquens, muitas vezes os resultados são analisados utilizando o fator de enriquecimento (FE) (Pacheco e Freitas, 2009; Khairudin *et al.*, 2014; Bergamaschi *et al.*, 2002; Klos *et al.*, 2011).

A comparação relativa dos elementos químicos nos líquens, pode ser determinada utilizando a equação:

$$FE = \frac{(C_X/C_{Sc})_{liquen}}{(C_X/C_{Sc})_{ambiente}} \quad (21)$$

Onde C_X é a concentração do elemento químico de interesse e C_{Sc} é a concentração do elemento de referência (escândio). O elemento escândio é utilizado como referência pois raramente sua presença é atribuída a fontes antrópicas.

Os dados de concentrações do ambiente utilizados com mais frequência são de amostras de solo da região de estudo ou da literatura. Prudêncio (2007) utilizou um valor médio entre FE de musgos e do solo para calcular o FE nos líquens.

Neste trabalho, foi determinado fator de enriquecimento (FE) calculado utilizando a concentração média dos elementos determinados nos líquens da CUASO e os resultados obtidos para a amostra de líquen de Itirapina, região considerada limpa, como valores aproximados para o ambiente.

Na Figura 6.19 estão os valores do fator de enriquecimento nos líquens da CUASO. Os valores de $FE = 1$ podem indicar que o elemento determinado se originou a partir do solo, considerando - se que o líquen da RL1 tenha acumulado

este elemento somente da resuspensão de partículas do solo. Se o valor de FE > 1 para o elemento de interesse, existe maior probabilidade de a concentração de esse elemento na atmosfera estar acima do natural.

Figura 6.19 Fatores de enriquecimento (FE) para os elementos determinados nos líquens da CUASO.

De acordo com os resultados da Figura 6.19, todos os elementos apresentaram valores de FE > 1, com exceção do Cl e V. O Sc apresentou FE=1 como esperado, pois este elemento é utilizado no cálculo de FE. Para V o valor de FE também foi 1, isso mostra de as concentrações de V são iguais nas áreas comparadas. O Cl apresentou um valor de FE < 1, isto ocorre, pois, a concentração de Cl obtida para o líquen de Itirapina foi maior que a média das concentrações nos líquens da CUASO. Isso mostra a importância em realizar uma investigação mais detalhada sobre os teores de Cl e V nos líquens da região da cidade de Itirapina.

Os valores de FE > 1 para os elementos determinados nos líquens da CUASO podem indicar que na atmosfera da região estudada estes elementos podem ser de origem antrópica.

7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas análises de materiais de referência certificados utilizando as técnicas de NAA e XRFS foram, em geral, concordantes com os valores dos certificados, apresentando baixos valores de porcentagens de erro relativo e de desvios padrão relativos para maioria dos elementos determinados. Também os valores de E_n score obtidos foram entre -1 e 1 indicando que os resultados são aceitáveis e os valores de HORRAT foram inferiores a 2 indicando precisão aceitável dos resultados para os elementos determinados, com exceção do Mg. Pelos resultados obtidos nos materiais de referência certificados pode se concluir que os procedimentos de NAA e XRFS adotados neste trabalho permitem fornecer resultados exatos e precisos.

Os resultados da NAA de uma amostra de líquen em triplicata indicaram a boa homogeneidade da amostra preparada com relação aos elementos determinados. Também a homogeneidade da amostra preparada foi evidenciada pela análise de uma amostra pelo método XRFS.

Pelo método NAA foram determinados As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Rb, Sb, Sc, Se, U, V e Zn nos líquens, enquanto que pelo método XRFS foram determinados As, Br, Ca, Cl, Cr, Fe, K, Mn, Rb, S, Sr e Zn. A comparação entre os resultados obtidos pelos dois métodos mostrou que houve diferenças significativas entre as concentrações para as determinações de As, Cl, Cr e Fe.

A comparação entre os resultados das determinações dos elementos nos líquens da CUASO e das regiões consideradas não poluídas mostraram que as concentrações médias de As, Br, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, K, Rb, S, Sb, Se e Zn foram altas nos líquens da CUASO, enquanto que para Cu, Fe, La, Sc, U e V foram da mesma ordem de grandeza. As exceções foram para Cl, cuja concentração obtida para o líquen do Instituto Florestal, Itirapina, foi mais alta que a média da CUASO e para Mg, Mn e Sr suas concentrações foram mais altas para o líquen do Jardim Botânico, Botucatu.

O resultado do estudo da correlação entre os elementos determinados nos líquens da CUASO permitiu concluir que há uma forte correlação entre os

elementos oriundos de resuspensão de partículas de solo, emissões veiculares, e de origem natural. O Cr apresentou alta correlação com oito elementos, indicando que a presença deste elemento nos líquens pode ter origens distintas, enquanto que os elementos Cd e Zn se correlacionaram fortemente apenas entre si, indicando que estes elementos podem ser da mesma fonte de origem.

A análise de componentes principais (PCA) aplicada aos resultados obtidos nos líquens da CUASO apresentou seis componentes representando 80,4 % da variância total dos dados, sendo que os componentes um e dois juntos totalizaram 52,9 % dessa variância. No componente principal 1 estão As, Co, Cr, Fe, La, Sb, Sc, Se, U e V e no componente principal 2 Cd, Mn e Zn. Os elementos indicados nesses componentes, com exceção do Mn, apresentaram também alta correlação entre elementos.

Com base nos resultados do fator de enriquecimento (FE) entre os líquens da CUASO e da região limpa, a maioria dos elementos apresentou um FE > 1 indicando que as emissões antrópicas podem ser responsáveis pelo acúmulo desses elementos nos líquens.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, foi possível apresentar hipóteses sobre as prováveis fontes de origem dos elementos determinados nos líquens da CUASO. Entre estas fontes estão da resuspensão de partículas de solo, de emissões veiculares, de construções, de pequena indústria de cimento e de indústria metalúrgica. Embora a área estudada tenha apresentado níveis de elementos mais baixos que a RMSP, os impactos de emissões antrópicas podem estar alterando o nível dos poluentes atmosféricos na CUASO.

Pelos resultados obtidos neste trabalho pode se concluir que o biomonitoramento é um método adequado para avaliação de impactos ambientais, sendo uma alternativa de monitoramento abrangente, baixo custo e de fácil implantação. Neste contexto os valores de concentrações médias de elementos obtidos neste trabalho pode ser de grande utilidade para comparação dos níveis de poluição nos futuros estudos.

APÊNDICE A – Códigos das amostras de líquen, latitude, longitude, elevação (m) e breve descrição dos pontos de coleta

Tabela A.1 – Códigos das amostras de líquen, latitude, longitude, elevação (m) e breve descrição dos pontos de coleta

Código da amostra	Latitude	Longitude	Elevação	Breve descrição dos pontos de coleta
LQ1	-23,563850	-46,734650	767,5	Prédio informática -IPEN
LQ2	-23,563550	-46,735917	773,7	Estacionamento CRPq- IPEN
LQ3	-23,564267	-46,736167	757,4	Laboratório Radioquímica - IPEN
LQ4	-23,566833	-46,738617	-	Entrada Odontologia
LQ5	-23,566350	-46,738917	-	Estacionamento - Odontologia
LQ6	-23,567283	-46,739500	-	Frente da Clínica - Odontologia
LQ7	-23,565617	-46,738917	-	Entrada Biomédicas II
LQ8	-23,566350	-46,725567	773,9	Entrada CEPAM
LQ9	-23,566717	-46,727717	779,6	Biblioteca IQ
LQ10	-23,567467	-46,730167	787,9	Rotatória Av. Prof. Lineu Prestes / R. Matão
LQ11	-23,562017	-46,739667	775,1	Laboratório de Biomateriais - CCTM-IPEN
LQ12	-23,560000	-46,733733	741,3	Entrada IAG/USP
LQ13	-23,560283	-46,725567	733,0	R. Reitoria – Banco do Brasil
LQ14	-23,560483	-46,725833	732,1	R. Reitoria – Banco Santander
LQ15	-23,561017	-46,721867	-	Entrada Edusp/ MAC
LQ16	-23,559250	-46,737817	743,7	Rádio USP
LQ17	-23,560483	-46,736567	760,5	Acesso IFUSP/IPEN
LQ18	-23,562167	-46,736783	769,1	Portaria IPEN-GREIC
LQ19	-23,559800	-46,730867	737,3	Porta bandeiras – FAU
LQ20	-23,561583	-46,730167	747,4	R. Matão - Filosofia
LQ21	-23,565600	-46,729917	784,5	R. do Matão – Estacionamento IB
LQ22	-23,566600	-46,726367	726,9	Canteiro central Av. Afrânio Peixoto
LQ23	-23,561467	-46,729717	724,2	Av. Prof. Mello Moraes/Acesso CPTM
LQ24	-23,556250	-46,722133	738,8	Av. Prof. Mello Moraes/Acesso Raia
LQ25	-23,553900	-46,734617	731,2	Av. Escola Politécnica/P2
LQ26	-23,555850	-46,731300	724,5	Faculdade de Eng. Civil/ Estacionamento
LQ27	-23,555400	-46,732433	717,5	Faculdade de Eng. Civil/Restaurante
LQ28	-23,552150	-46,731450	730,0	Terminal de Ônibus/P2
LQ29	-23,558667	-46,721783	728,7	R. Anfiteatro/Serviço Social
LQ30	-23,563100	-46,719750	730,3	Entrada Casa da Cultura Japonesa
LQ31	-23,551983	-46,729583	-	Av. Prof. Mello Moraes/P2
LQ32	-23,553033	-46,727717	-	Av. Prof. Mello Moraes/Poli Mecânica
LQ33	-23,555933	-46,723450	-	Av. Prof. Mello Moraes/Psicologia
LQ34	-23,557567	-46,719600	-	Av. Prof. Mello Moraes/CRUSP
LQ35	-23,564183	-46,712683	-	Av. Prof. Mello Moraes/P1
LQ36	-23,563967	-46,714567	-	Av. da Universidade /Educação
LQ37	-23,569333	-46,726017	717,4	Estacionamento/CEPAM
LQ38	-23,568500	-46,726333	-	Portaria CEPAM/Restaurante
LQ39	-23,568667	-46,731467	-	Av. Prof. Lineu Prestes/ICB
LQ40	-23,568717	-46,730700	-	Acesso Vila Indiana

“-“ não medido

APÊNDICE B – Resultados das concentrações dos elementos (mg kg⁻¹) determinados pela NAA nos líquens da CUASO

Tabela B.1 – Resultados das concentrações (mg kg⁻¹) de As, Br, Ca, Cd, Cl, Co e Cr determinados pela NAA nos líquens da CUASO

Código da amostra	As	Br	Ca	Cd	Cl	Co	Cr
LQ1	0,366	4,7	58211	0,84	373	0,306	3,45
LQ2	0,258	6,2	45712	0,91	192	0,219	1,41
LQ3	0,406	6,5	11078	0,48	461	0,411	3,54
LQ4	0,434	9,3	33102	1,32	382	0,658	5,90
LQ5	0,449	18,3	72437	4,49	398	0,492	4,93
LQ6	0,645	9,9	41865	1,62	369	0,533	5,20
LQ7	0,414	4,8	32360	2,46	435	0,533	4,50
LQ8	0,315	2,7	30493	0,79	363	0,177	1,86
LQ9	0,193	3,4	65543	8,93	618	0,205	3,00
LQ10	0,402	9,9	6695	0,59	265	0,307	3,17
LQ11	0,311	5,7	17116	-	437	0,176	2,16
LQ12	0,291	4,5	21116	0,29	301	0,241	2,20
LQ13	0,36	6,6	19868	1,00	245	0,354	3,55
LQ14	0,425	3,5	22714	-	280	0,358	3,60
LQ15	0,697	13,1	22992	-	250	0,456	3,90
LQ16	0,207	4,4	88121	0,37	418	0,178	1,58
LQ17	0,557	8,3	25495	0,38	481	0,390	2,18
LQ18	0,259	5,4	96862	0,42	272	0,154	2,09
LQ19	0,263	11,7	6013	<LD	378	0,137	1,54
LQ20	0,348	4,5	36128	0,33	442	0,136	1,34
LQ21	0,132	7,1	8768	-	537	0,119	1,52
LQ22	0,561	3,7	54503	1,14	392	0,286	3,84
LQ23	0,683	6,4	1760	0,42	293	0,882	5,85
LQ24	0,369	6,0	11663	-	280	0,282	3,90
LQ25	0,619	3,5	35958	0,75	459	0,349	6,00
LQ26	0,355	5,7	8928	0,95	377	0,370	3,38
LQ27	0,345	17,2	4722	-	275	0,408	3,26
LQ28	0,335	2,8	31795	-	324	0,333	5,23
LQ29	0,304	2,8	18390	0,44	470	0,241	2,11
LQ30	0,537	5,1	27254	2,00	231	0,546	5,39
LQ31	0,401	3,5	24583	1,33	270	0,735	6,65
LQ32	0,580	3,5	24245	0,66	437	0,518	7,75
LQ33	0,474	6,7	54624	1,02	324	0,591	6,88
LQ34	0,248	2,7	23427	0,39	199	0,239	3,67
LQ35	0,523	3,3	2257	0,43	196	0,324	4,69
LQ36	0,490	3,6	21894	1,25	197	0,335	5,60
LQ37	0,183	2,7	67311	-	120	0,120	2,35
LQ38	0,437	3,1	64638	0,34	263	0,247	4,46
LQ39	0,283	4,5	38635	<LD	312	0,240	4,57
LQ40	0,334	3,0	56377	0,69	311	0,339	3,31
Média	0,395	6,0	33391	1,24	341	0,348	3,79
Desvio Padrão	0,140	3,7	23748	1,68	106	0,175	1,67
Mediana	0,368	4,8	26375	0,78	324	0,329	3,58
Mínimo-Máximo	0,132 - 0,697	2,7 - 18,3	1760 - 96862	0,29 - 8,94	120 - 618	0,119 - 0,882	1,34 - 7,74

"- "não detectado

APÊNDICE B – Continuação

Tabela B.2 – Resultados das concentrações (mg kg⁻¹) de Cs, Cu, Fe, K, La, Mg e Mn determinados pela NAA nos líquens da CUASO

Código da amostra	Cs	Cu	Fe	K	La	Mg	Mn
LQ1	0,161	-	889	912	1,626	774	33,8
LQ2	0,190	-	360	1987	1,49	1139	16,9
LQ3	0,192	-	969	3288	1,557	906	41,4
LQ4	0,209	-	1649	1474	2,843	806	47,1
LQ5	0,258	23,1	1220	1253	2,563	1186	74,5
LQ6	0,183	-	1314	1112	2,018	1325	47,6
LQ7	0,107	32,3	1150	1335	3,324	1157	90,3
LQ8	0,150	15,5	438	797	0,897	751	125,9
LQ9	0,075	26,8	844	885	2,045	593	130,4
LQ10	-	16,2	766	1651	1,869	509	30,7
LQ11	0,112	11,4	580	1168	1,259	656	22,4
LQ12	0,134	11,3	573	1147	1,314	1497	106,6
LQ13	0,204	23,3	985	972	1,464	836	66,1
LQ14	0,155	13,3	955	1250	1,784	1133	26,9
LQ15	0,15	33	1044	818	1,517	800	51,6
LQ16	0,376	-	370	675	0,625	955	47,2
LQ17	0,196	24,5	576	725	1,499	768	29,2
LQ18	-	9,5	441	570	0,758	883	13,7
LQ19	0,334	15,2	381	959	0,574	1010	99,9
LQ20	0,116	11,5	267	972	0,776	681	43,4
LQ21	0,066	16,1	281	667	1,22	594	15,8
LQ22	0,349	-	823	2282	2,045	1064	41,8
LQ23	0,942	39,2	1549	4361	1,449	1072	41,8
LQ24	0,200	21,7	1020	2160	1,444	745	37,9
LQ25	0,184	15,2	1172	2951	2,22	933	44,1
LQ26	0,200	15,9	923	1821	1,777	888	38,6
LQ27	0,400	31,2	698	3370	1,647	698	51,5
LQ28	0,293	11,6	993	3725	2,248	940	27,7
LQ29	0,161	11,6	467	3716	0,707	995	84,4
LQ30	0,149	-	1342	3755	3,367	576	40,1
LQ31	0,288	28,0	1248	4701	2,224	1694	49,1
LQ32	0,269	-	1567	4160	2,64	-	45,5
LQ33	0,257	45,9	2023	3964	3,706	1134	133,0
LQ34	0,293	-	816	3683	1,485	1219	26,4
LQ35	0,236	26,0	1021	4938	1,39	1243	31,0
LQ36	0,164	-	1188	4312	2,079	1669	33,4
LQ37	0,163	-	460	1967	0,735	903	5,6
LQ38	0,397	22,3	1275	3936	1,436	1478	37,1
LQ39	0,249	-	1149	3116	1,535	2304	25,3
LQ40	0,178	-	853	3797	1,450	883	20,3
Média	0,230	21,2	916	2283	1,715	1010	49,4
Desvio Padrão	0,146	9,5	411	1402	0,745	359	32,2
Mediana	0,194	19,0	939	1894	1,526	933	41,6
Mínimo-Máximo	0,066 - 0,942	9,5 - 45,9	267 - 2023	570 - 4938	0,574 - 3,706	509 - 2304	5,6 - 133,0

"-" não detectado

APÊNDICE B – Continuação

Tabela B.3 – Resultados das concentrações (mg kg⁻¹) de Rb, Sb, Sc, Se, U, V e Zn determinados pela NAA nos líquens da CUASO

Código da amostra	Rb	Sb	Sc	Se	U	V	Zn
LQ1	4,0	0,459	0,198	0,307	0,071	2,33	82,9
LQ2	11,8	0,249	0,083	0,176	0,044	2,01	94,7
LQ3	17,6	0,477	0,208	0,278	0,093	2,49	92,2
LQ4	7,3	0,679	0,376	0,315	0,147	3,73	127,9
LQ5	7,4	0,6	0,29	0,374	0,105	2,61	182,7
LQ6	6,1	0,661	0,308	0,312	0,171	2,54	110,0
LQ7	4,5	1,08	0,211	0,307	0,099	2,47	296,9
LQ8	6,4	0,337	0,094	0,231	0,033	1,55	88,1
LQ9	5,3	0,616	0,147	0,206	0,05	1,79	404,5
LQ10	9,3	0,526	0,164	0,226	0,072	2,52	244,1
LQ11	6,0	0,345	0,14	0,164	0,133	1,61	59,6
LQ12	4,5	0,362	0,144	0,209	0,06	1,05	78,8
LQ13	8,5	0,483	0,217	0,259	0,095	3,17	93,3
LQ14	3,9	0,553	0,234	0,277	0,082	2,08	80,5
LQ15	5,6	0,566	0,239	0,283	0,077	3,39	108,1
LQ16	3,6	0,32	0,087	0,129	-	0,76	57,5
LQ17	3,1	0,387	0,142	0,286	0,07	2,75	123,4
LQ18	2,7	0,251	0,106	0,174	0,04	1,27	73,4
LQ19	6,7	0,337	0,077	0,154	-	0,62	80,8
LQ20	4,5	0,222	0,063	0,151	-	0,83	55,0
LQ21	3,9	0,423	0,063	0,194	-	1,63	79,5
LQ22	8,3	1,266	0,154	0,350	0,062	1,42	123,3
LQ23	20,9	1,067	0,328	0,410	0,124	3,73	130,8
LQ24	9,3	1,27	0,205	0,287	0,129	1,92	94,5
LQ25	14,2	1,092	0,25	0,336	-	2,42	111,3
LQ26	11,3	0,571	0,21	0,363	0,100	2,29	101,6
LQ27	14,8	0,375	0,154	0,265	0,069	2,26	131,3
LQ28	11,0	1,459	0,237	0,328	-	2,14	80,8
LQ29	13,6	0,397	0,099	0,222	0,042	1,21	70,8
LQ30	9,6	0,907	0,292	0,433	0,121	2,95	200,6
LQ31	22,8	1,409	0,297	0,286	0,200	3,10	148,5
LQ32	15,4	2,351	0,364	0,302	0,200	2,64	138,2
LQ33	14,9	1,064	0,459	0,370	0,146	4,46	151,6
LQ34	17,8	0,731	0,197	0,209	0,099	2,22	70,5
LQ35	17,7	1,174	0,198	0,381	0,100	2,12	163,5
LQ36	13,8	1,237	0,235	0,260	0,091	2,61	139,3
LQ37	12,1	0,394	0,096	0,187	0,048	1,06	56,1
LQ38	26,9	0,534	0,303	0,301	0,100	3,39	58,8
LQ39	13,3	0,964	0,254	0,260	0,064	2,63	65,8
LQ40	13,0	0,538	0,188	0,202	0,076	2,38	115,1
Média	10,3	0,718	0,203	0,269	0,0945	2,25	119,2
Desvio Padrão	5,9	0,444	0,093	0,076	0,0428	0,87	69,1
Mediana	9,3	0,560	0,202	0,278	0,092	2,31	98,2
Mínimo-Máximo	2,7 - 26,9	0,222 - 2,351	0,063 - 0,459	0,129 - 0,433	0,033 - 0,200	0,62 - 4,46	55,0 - 404,5

“- ” não detectado

APÊNDICE C – Resultados das Concentrações dos elementos (mg kg⁻¹) determinados por XRFS nos líquens da CUASO

Tabela C.1 – Resultados das concentrações (mg kg⁻¹) de As, Br, Ca, Cl, Cr, Cu e Fe determinados por XRFS nos líquens da CUASO

Código da amostra	As	Br	Ca	Cl	Cr	Cu	Fe
LQ1	0,360	3,3	28618	290	2,56	3,9	530
LQ2	0,502	1,7	46947	109	1,92	4,8	194
LQ3	0,554	4,3	10979	433	2,26	5,3	480
LQ4	0,868	3,1	34991	352	2,14	5,3	859
LQ5	1,256	7,0	71076	381	1,22	5,8	493
LQ6	0,625	3,7	46626	361	1,93	4,5	619
LQ7	1,186	1,9	35117	549	2,21	24,0	672
LQ8	0,331	2,5	33773	342	2,12	12,2	275
LQ9	1,008	1,1	67913	698	1,52	15,2	411
LQ10	0,823	5,3	9847	235	3,44	16,3	682
LQ11	0,462	3,3	18457	359	2,66	10,2	364
LQ12	0,738	1,9	22955	280	2,72	20,2	844
LQ13	0,548	4,5	26235	288	2,75	15,0	703
LQ14	0,506	6,6	37883	376	2,12	12,3	275
LQ15	0,527	4,3	26028	121	2,69	27,4	698
LQ16	0,281	2,3	74950	294	1,45	-	172
LQ17	0,637	4,7	30421	348	2,17	20,1	417
LQ18	0,288	2,9	77710	153	1,16	10,1	142
LQ19	-	10,4	7861	275	3,25	19,0	386
LQ20	0,467	3,1	38102	320	1,92	10,2	186
LQ21	0,521	6,6	9835	213	2,88	11,9	224
LQ22	0,637	2,5	54191	213	1,70	3,1	297
LQ23	0,420	10,8	2303	169	2,96	35,9	1269
LQ24	0,336	4,6	12351	127	2,57	21,7	692
LQ25	0,429	4,1	24625	374	2,07	11,9	744
LQ26	0,883	7,4	9522	305	3,25	13,8	793
LQ27	1,099	21,2	5758	244	3,06	29,4	606
LQ28	0,621	6,2	32291	223	2,32	9,7	604
LQ29	0,335	7,3	2558	292	1,12	10,9	58
LQ30	0,906	5,1	23591	160	2,38	6,6	781
LQ31	0,528	9,1	26578	169	2,27	5,5	732
LQ32	0,628	6,9	20607	211	2,05	6,6	783
LQ33	0,442	7,4	45414	195	1,52	43,1	787
LQ34	0,512	10,2	34566	84	1,90	4,7	430
LQ35	0,419	7,6	2079	72	3,10	23,0	801
LQ36	0,513	5,0	18972	45	2,50	4,5	657
LQ37	0,173	4,3	52986	46	1,26	4,4	124
LQ38	0,458	11,3	47319	73	1,66	20,2	491
LQ39	0,335	5,9	29566	126	1,67	3,0	425
LQ40	0,659	6,1	42166	155	1,38	3,2	303
Média	0,591	5,7	31158	251	2,19	13,4	525
Desvio Padrão	0,254	3,6	20093	137	0,62	9,6	261
Mediana	0,521	4,9	29092	240	2,15	10,9	511
Mínimo-Máximo	0,173 - 1,256	1,1 - 21,2	2079 - 77710	45 - 698	1,12 - 3,44	3,0 - 43,1	58 - 1269

“-” não detectado

APÊNDICE C – Continuação

Tabela C.2 – Resultados das concentrações (mg kg⁻¹) de K, Mn, Rb, S, Sr e Zn determinados por XRFS nos líquens da CUASO

Código da amostra	K	Mn	Rb	S	Sr	Zn
LQ1	1982	57,0	4,6	1239	40,0	50,2
LQ2	2100	43,5	9,1	2153	20,4	96,6
LQ3	2571	78,0	7,4	1081	25,6	140,9
LQ4	1497	81,9	8,9	1155	100,7	194,8
LQ5	1609	60,8	8,1	955	177,6	232,9
LQ6	1371	64,0	8,3	1088	76,6	159,7
LQ7	1739	92,8	9,0	1173	119,7	258,9
LQ8	1048	149,9	10,6	909	66,8	147,5
LQ9	1444	126,3	11,3	1055	100,5	326,2
LQ10	1942	100,1	8,6	2744	26,3	235,3
LQ11	1123	61,5	8,4	1446	17,2	90,7
LQ12	1576	83,3	8,2	1066	38,7	158,9
LQ13	1169	116,9	10,0	2731	27,6	140,4
LQ14	921	204,8	8,2	1366	32,8	117,0
LQ15	947	83,5	7,5	2247	40,6	183,8
LQ16	1055	44,5	5,0	640	160,5	35,4
LQ17	923	59,3	4,2	1601	21,5	103,1
LQ18	965	37,7	4,2	639	167,1	45,3
LQ19	842	159,6	3,7	1067	12,1	82,1
LQ20	1084	54,4	4,2	1083	20,0	44,0
LQ21	541	65,2	3,7	1839	15,3	88,5
LQ22	1672	46,8	5,5	933	156,8	78,8
LQ23	3473	89,2	21,6	2633	10,2	126,5
LQ24	1858	73,3	8,4	1888	10,5	81,4
LQ25	2731	62,9	12,7	1358	21,0	80,1
LQ26	1686	89,8	10,0	1106	18,6	107,8
LQ27	2995	92,1	16,3	1396	19,4	162,3
LQ28	322	49,5	12,6	2085	15,1	79,5
LQ29	1473	41,9	10,8	1491	36,2	76,7
LQ30	3085	62,5	6,6	2492	16,0	151,2
LQ31	3760	67,5	21,8	1922	73,0	116,9
LQ32	2809	58,2	12,7	1692	39,1	134,2
LQ33	3241	93,2	12,6	1591	121,9	95,3
LQ34	3532	47,7	16,0	2486	28,2	66,0
LQ35	4416	80,4	11,4	2717	7,8	161,6
LQ36	3656	62,4	9,5	3549	11,0	95,0
LQ37	1761	23,7	12,1	873	75,0	31,0
LQ38	3395	39,4	27,0	2630	58,8	45,1
LQ39	2376	36,2	9,7	1338	38,8	39,6
LQ40	2835	29,4	11,1	1732	86,2	86,3
Média	1988	74,7	10,2	1640	54,1	120,4
Desvio Padrão	1026	36,8	5,0	697	48,8	65,7
Mediana	1712	63,5	9,1	1421	34,5	99,8
Mínimo-Máximo	322 - 4416	23,7 - 204,8	3,7 - 27	639 - 3549	7,8 - 177,6	31 - 326,2

"- "não detectado

APÊNDICE D – Mapas de distribuição das concentrações de Cl, Cs, K, La, Mg, Mn, Rb, Sc, Se, e U nos líquens

Figura D.1 - Mapa da distribuição das concentrações de Cl nos líquens da CUASO

Figura D.2 - Mapa da distribuição das concentrações de Cs nos líquens da CUASO

Figura D.3 - Mapa da distribuição das concentrações de K nos líquens da CUASO

APÊNDICE D – Continuação

Figura D.4 - Mapa da distribuição das concentrações de La nos líquens da CUASO

Figura D.5 - Mapa da distribuição das concentrações de Mg nos líquens da CUASO

Figura D.6 - Mapa da distribuição das concentrações de Mn nos líquens da CUASO

APÊNDICE D – Continuação

Figura D.7 - Mapa da distribuição das concentrações de Rb nos líquens da CUASO

Figura D.8 - Mapa da distribuição das concentrações de Sc nos líquens da CUASO

Figura D.9 - Mapa da distribuição das concentrações de Se nos líquens da CUASO

APÊNDICE D – Continuação **Figura D.10** - Mapa da distribuição das concentrações de U nos líquens da CUASO

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFASSI, Z. B., **Activation analysis**. Florida: CRC Press, v.1, 1990.
- AMPETK Inc., What is XRFS? Disponível em: <<http://www.amptek.com/xrf/>> Acesso em: 10 de fevereiro de 2015.
- AZNAR, J. C.; RICHER-LAFLECHE, M.; CLUIS, D. Metal contamination in the lichen *Alectoria sarmentosa* near the copper smelter of Murdochville, Quebec. **Environmental Pollution**, v. 156, p.76-81, 2008.
- BAJPAI, R.; KARAKOTI, N.; UPRETI, D.K. Performance of a naturally growing Parmelioid lichen *Remototrachyna awasthii* against organic and inorganic pollutants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 5577-5592, 2013.
- BAPTISTA, M. S.; VASCONCELOS, M. T.S. D.; CABRAL, J.P.; FREITAS, M. C.; PACHECO, A. M. G. Cooper, nickel and lead in lichen and tree bark transplants over different periods of time. **Environmental Pollution**, v.151, p. 408-413, 2008.
- BARGAGLI, R.; NIMIS, P.L. Guidelines for the use of epiphytic lichens as biomonitors of atmospheric deposition of trace elements. In: NIMIS, P. L.; SCHEIDEGGER, C. WOLSELEY, P. A. (Eds) **Monitoring with lichens – monitoring lichens**, Netherlands: Springer, 2002, p. 295-299.
- BEKTESHI, L.; LAZO, P.; QARRI, F.; STAFILOV, T. Application of the normalization process in the survey of atmospheric deposition of heavy metals in Albania through moss biomonitoring. **Ecological Indicators**, v.56, p. 50-59, 2015.
- BLACKWELL, J.K.; TOBIN, J.M.; AVERY, S.V. Manganese toxicity towards *Saccharomyces cerevisiae*: Dependence on intracellular and extracellular magnesium concentrations, **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 49, p. 751-757, 1998.
- BOAMPONSEM, L. K.; ADAM, J. I.; DAMPARE, S. B.; NYARKO, B.J.B.; ESSUMANG, D. K. Assessment of atmospheric heavy metal deposition in the Tarkwa gold mining area of Ghana using epiphytic lichens. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v. 268, p.1492–1501, 2010.
- BODE, P., Neutron activation analysis: Principles and analytical characteristics. In GREENBERG, R.R.; BODE, P.; FERNANDES, E. A. de N. Neutron activation analysis: A primary method of measurement. **Spectrochimica Acta Part B**, v.66, p.183-241, 2011.

- BRAGA, A. L. F.; SALDIVA, P. H. N.; PEREIRA, L. A. A.; MENEZES, J. J. C.; CONCEIÇÃO, G.M.S.; LIN, C. A.; ZANOBETTI, A.; SCHWARTZ, J.; DOCKERY, D.W. Health effects of air pollution exposure on children and adolescents in São Paulo, Brazil. ***Pediatric Pulmonology***, v.31, p.106-113, 2001.
- BRANDÃO, G. P.; CAMPOS, R. C. de; LUNA, A. S.; CASTRO, E. V. R. de.; JESUS, H. C. de. Determination of arsenic in diesel, gasoline and naphtha by graphite furnace atomic absorption spectrometry using microemulsion medium for sample stabilization. ***Analytical and Bioanalytical Chemistry***, v. 385, p. 1562-1569, 2006.
- BROUDEAULT, C.; COXSON, D.; NERGERON, Y.; STEVENSON, S.; BOUCHARD, M. Do forests treated by partial cutting provide growth conditions similar to old-growth forests for epiphytic lichens?. ***Biological Conservation***, v. 159, p. 458-467, 2013.
- BRUNIALTI, G.; FRATI, L. Biomonitoring of nine elements by the lichen *Xanthoria parietina* in Adriatic Italy: A retrospective study over a 7-year time span. ***Science of the Total Environment*** v. 387, p. 289–300, 2007
- CAMPOS, de S. E. **História da Universidade de São Paulo**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2004.
- CARRERAS, H. A.; GUDINO, G.L.; PIGNATA, M.L. Comparative biomonitoring of atmospheric quality in five zones of Córdoba city (Argentina) employing the transplanted lichen *Usnea sp.* ***Environmental Pollution***, v.103, p. 317-325, 1998.
- CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Qualidade do ar no estado de São Paulo 2014 [recurso eletrônico] / São Paulo, 2014.
- CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Ficha de Informação Toxicológica 2014. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/dioxido_de_enxofre.pdf>. Acesso em: 10 de junho 2015
- CLAIR, S. B. St.; CLAIR, L. L. St.; MANGELSON, N. F.; WEBER, D. J. Influence of growth form on the accumulation of airborne copper by lichens. ***Atmospheric Environment***, v.36, p. 5637–5644, 2002.
- COCCARO, D. M. B. **Estudo da determinação de elementos-traço em líquens para monitoração ambiental**. 2001. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. Disponível em: <

http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Daniela%20Maria%20Bertero%20Coccaro_M.pdf > Acesso em: 10 jul. 2014.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução nº 3 de 28 de junho de 1990, Seção 1, páginas 15937-15939. Publicada no Diário Oficial da União, de 22 de agosto de 1990.

CONTI, M. E.; CECCHETTI, G. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment: a review. *Environmental Pollution*, v.114, p.471-492, 2001.

CPA – Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura, Clima dos Municípios Paulistanos. Disponível em: <http://www.cpa.unicamp.br/outrasinformacoes/clima_muni_565.html>. Acesso em: 20 de março 2014.

CURRIE, L. A. Detection and quantification limits: origins and historical overview. *Analytical Chimica Acta* v. 391, p. 127- 134, 1999.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities. *Analytical Chimica Acta* v. 391, p. 105- 126, 1999.

DANCEY, C.; REIDY, J. **Estatística sem matemática para psicologia: usando SPSS para windows**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

DE SOETE, D.; GILBELS, R.; HOSTE, J. **Neutron activation analysis**. New York: Wiley-Interscience, 1972.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/efb/clima.htm>>. Acesso em: 10 de março 2014

EPA - Environmental Protection Agency, Air pollution control general definitions regulation, 2010. Disponível em: <http://www.epa.gov/region1/topics/air/sips/ri/RI_General_Definitions.pdf>. Acesso em: 15 de abril 2015

FENGER, J. Air pollution in the last 50 years – From local to global. *Atmospheric Environment*, v.43, p.13-22, 2009.

FERRETTI, M.; BRAMBILLA, E.; BRUNIALTI, G.; FORNASIER, F.; MAZZALI, C.; GIORDANI, P.; NIMIS, P.L. Reliability of different sampling densities for estimating and mapping lichen diversity in biomonitoring studies. *Environmental Pollution*, v. 127, p.249-256, 2004.

- FIGUEIREDO, A. M. G.; NOGUEIRA C. A.; SAIKI, M.; MILIAN, F. M.; DOMINGOS, M. Assessment of atmospheric metallic pollution in the metropolitan region of S~ao Paulo, Brazil, employing *Tillandsia usneoides* L. as biomonitor. ***Environmental Pollution***, v. 145, p.279-292, 2007.
- FRIEDLANDER, G.; KENNEDY, J.W.; MILLER, J. M., ***Nuclear and radiochemistry***, 2nd edition, London: John Wiley & Sons, 1964, p. 6.
- FUGA, A.; SAIKI, M.; MARCELLI, M.P.; SALDIVA, P. H.N. Atmospheric pollutants monitoring by analysis of epiphytic lichens. ***Environmental Pollution***, v. 151, p. 334-340, 2008.
- GALLO, L.; CORAPI, A.; LOPPI, S.; LUCADAMO, L. Element concentrations in the lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf transplanted around a cement factory (S Italy). ***Ecological Indicators***, v. 46, p. 566-574, 2014.
- GARTY, J.; TOMER, S.; LEVIN, T.; LEHR, H. Lichens as biomonitors around a coal-fired power station in Israel. ***Environmental Research***, v.91, p. 186-198, 2003.
- GAUGLITZ, G.; VO-DINH, T., X-ray analysis. In GAUGLITZ, G, VO-DINH, T. (Eds). ***The handbook of spectroscopy***. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
- GERDOL, R., MARCHESINI, R.; IACUMIN, P.; BRANCALEONI, L. Monitoring temporal trends of air pollution in an urban area using mosses and lichens as biomonitors. ***Chemosphere***, v.108, p.388-395, 2014.
- GIORDANI, P. Is the diversity of epiphytic lichens a reliable indicator of air pollution? A case study from Italy. ***Environmental Pollution***, v.146, p.317- 323, 2007.
- GRUBE, M.; HAWKSWORTH, D. L. Trouble with lichen: the re-evaluation and re-interpretation of thallus form and fruit body types in the molecular era. ***Mycological Research***, v.111, p. 1116-1132, 2007.
- HAUCK, M.; JUNG, R.; RUNGE, M. Relevance of element content of bark for the distribution of epiphytic lichens in a montane spruce forest affected by forest dieback. ***Environmental Pollution***, v.112, p. 221-227, 2001.
- HONEGGER, R. Functional aspects of the lichens symbiosis. ***Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology***, v.42, p. 553-578, 1991.
- HORWITZ, W. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. ***Analytical Chemistry***, v.54, p. 67-76, 1982.

- HORWITZ, W.; ALBERT, R. The horwitz ratio (HorRat): A useful index a method performace with respect to precision. ***Journal of AOAC International***, v.89, p. 1095-1109, 2006.
- IAEA - International Atomic Energy Agency, WinQXAS Application, version1.3.0, 2001.
- IAEA - International Atomic Energy Agency. **Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory**. Relatório IEA-TECDOC 564. Vienna, 1990.
- IAEA - International Atomic Energy Agency. **Reference sheet. Reference material**. IAEA- 336 trace and minor elements in lichen, Austria, 1999.
- IAG/USP - Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas da Universidade de São Paulo, Estação Meteorológica. Disponível em: <<http://www.estacao.iag.usp.br/Boletins/2014.pdf>> Acesso em: 09 de março 2015.
- IBGE - Instituto Brasileira de Geografia e Estatística, Cidades, Históricos dos Municípios, População. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: 15 de abril 2015
- IBM, SPSS Statistics, version 22 (64-bit). International Business Machines Corporation (IBM Corp.), 2013.
- INCT - Institute of Nuclear Chemistry and Technology. **Polish certified reference material – INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs**, Poland p 1-4, 2002.
- INCT - Institute of Nuclear Chemistry and Technology. **Polish certified reference material – INCT-TL-1 Tea Leaves**, Poland p1- 4, 2002.
- INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. **Orientação sobre validação de métodos analíticos** (DOQ-CGCRE-008). Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/sidoq/arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf> 2010.
- INSTITUTO FLORESTAL. Dados geográficos. Disponível em: <http://www.iflorestal.sp.gov.br/ltirapina/dados_geograficos.html> Acesso em: 4 de maio 2015.
- IRISHLICHENS. Lichen Squamulose, *Normandia Pulchella*. Disponível em: <<http://www.irishlichens.ie/pages-lichen/l-95.html>> Acesso em: 27 de novembro 2014.

- JERAN, Z.; JACIMOVIC, R.; BATIC, F.; SMODIS, B.; WOLTERBEEK, W. Th. Atmospheric heavy metal pollution in Slovenia derived from results for epiphytic lichens. **Fresenius' Journal Analytical Chemistry**, v. 354, p. 681-687, 1996.
- JERAN, Z.; JACIMOVIC, R.; BATIC, F.; MAVSAR, R. Lichens as integrating air pollution monitors. **Environmental Pollution**, v. 120, p. 107–113, 2002.
- JORUSP. Um modelo de preservação ambiental. Jornal da USP, de 29 de junho a 5 de julho de 2015, nº 1070. Disponível em: <<http://espaber.uspnet.usp.br/jorusp/?p=42879>> Acesso em: 09 de setembro de 2015.
- KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soil and plants**. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- KHAIRUDIN, N. E.; SIONG, K.K.; SIONG, W. B. Determination of trace elements in epiphytic lichens from Bbandar Baru Bangi, Selangor using INAA method. **Advancing Nuclear Research and Energy Development**, AIP Conference Proceedings, v. 1584, p. 235-239, 2014
- KIRCHNER, G.; DAILLANT, O. The potential of lichens as long-term biomonitors of natural and artificial radionuclides. **Environmental Pollution**, v. 120, p. 145-150, 2002.
- KLOS, A.; RAJFUR, M.; WACLAWEK, M. Application of enrichment factor (EF) to the interpretation of results from the biomonitoring studies. **Ecological Chemistry and Engineering S**, v.18, p. 171-183, 2011.
- KONIECZKA, P.; NAMIESNIK, J. **Quality assurance and quality control in the analytical chemical laboratory**. Florida: CRC Press, 2009.
- KULARATNE, K. I. A.; FREITAS, C. R. Epiphytic lichens as biomonitor of airborne heavy metal pollution. **Environmetal and Experimental Botany**, v. 88, p. 24-32, 2013.
- LISINGER, T.P.J; JOSEPHS, R.D. Limitations of the application of Horwitz equation. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, p. 1125-1130, 2006.
- LNAI. Lichens of North America Information, Lichen Portrait Gallery. Disponível em: <www.lichen.com> Acesso em: 27 de novembro 2014.
- MALASPINA, P.; GIORDANI, P.; MODENESI, P.; ABELMOSCHI, M; L.; MAGI, E.; SOGGIA, F. Bioaccumulation capacity of two chemical varieties of the lichen *Pseudevernia furfuracea*. **Ecological Indicators**,v. 45, p.605-610, 2014.

- MARCELLI, M. P. History and current knowledge of brazilian lichenology. in MARCELLI, M. P.; SEAWARD, M. R. D. (Eds). ***Lichenology in Latin America: history, current knowledge and applications***. São Paulo. 1998, p. 25-45.
- MARGUÍ, E.; QUERALT, I.; HIDALGO, M., Application of X ray fluorescence spectrometry to determination and quantitation of metals in vegetal material. ***Trends in Analytical Chemistry***, v.28, p. 362-372, 2009.
- MARKERT, B. Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. ***Journal of Trace Element in Medicine and Biology***, v.21, S1, p. 77-82, 2007.
- MARKERT, B.; WUENSCHMANN, S.; FRAENZLE, S.; FIGUEIREDO, A.M.G.; RIBEIRO, A. P.; WANG, M. Bioindication of atmospheric trace metals - With special references to megacities. ***Environmental Pollution***, v.159, p.1991-1995, 2011.
- MAZZITELLI, M.A.M.S.; MOTA FILHO, O. F.; PEREIRA, C. E.; FIGUEIRA, R. Utilização de líquens no biomonitoramento da qualidade do ar. In: XAVIER FILHO, L.; LEGAZ, E. M.; CORDOBA, V. C.; PEREIRA, C.E. (Eds) ***Biologia de líquens***. Rio de Janeiro: Ambiental Cultural, 2006, p. 101-143.
- MELO Jr. G.; CARVALHO, B. F.; NOGUEIRA, M. L. S.; CARVALHO Jr. E. R.; COSTA, C. E.F.S.; RIBEIRO FILHO, J.C.; DUARTE, C. R. Baseline levels for selected elements in soils under semi-arid condition, northeast of Brazil. Geophysical Research Abstracts. In: European Geosciences Union, v. 8, 07331, 2006.
- MMA - Ministério do Meio Ambiente/Cidades Sustentáveis/Qualidade do Ar. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/qualidade-do-ar>> Acesso em: 27 de novembro de 2014.
- MONKS, P. S.; GRANIER, C.; FUZZI, S.; STOHL, A.; WILLIAMS, M. L.; AKIMOTO, H.; AMANN, M.; BAKLANOV, A.; BALTENSBERGER, U.; BEY, I.; BLAKE, N.; BALKE, R. S.; CARSLAW, K.; COOPER, O. R.; DETENER, F.; FOWLER, D.; FRAGKOU, E.; FROST, G. J.; GENEROSO, S.; GINOUX, P.; GREWE, V.; GUENTHER, A.; HANSSON, H. C.; HENNE, S.; HJORTH, J.; HOFZUMAHUS, A.; HUNTRIESER, H.; ISAKSEN, I. S. A.; JENKIN, M. E.; KAISER, J.; KANAKIDOU, M.; KLIMONT, Z.; KULMALA, M.; LAJ, P.; LAWRENCE, M. G.; LEE, J. D.; LIOUSSE, C.; MAIONE, M.; McFIGGANS, G.; METZGER, A.; MIEVILLE, A.; MOUSSIOPOULOS, N.; ORLANDO, J.J.; O'DOWD, C. D.; PALMER, P. I.; PARRISH, D.D.; PETZOLD, A.; PLATT, U.; POSCHL, U.; PRÉVÔT, A. S. H.; REEVES, C. E.; REIMANN, S.; RUDICH, Y.; SELLEGRI, K.; STEINBRECHER, R.; SIMPSON, D.; ten BRINK, H.

- THELOKE, J.; van der WERF, G. R.; VAUTARD, R.; VESTRENG, V.; VLACHOKOSTAS, Ch.; von GLASOW, R. Atmospheric composition change – global and regional air quality. ***Atmospheric Environment***, v.43, p. 5268-5350, 2009.
- NASCIMENTO FILHO, V. F. **Técnicas nucleares de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF) e por reflexão total (TXRF)**. Piracicaba: CENA-ESALQ/USP p. 1-32, 1999. (Apostila didática)
- NHM. Natural History Museum, University of Oslo, The Lichen Herbarium. Disponível em: <<http://nhm2.uio.no/lav/web/index.html>>. Acesso em: 27 de novembro 2014
- NMI, Neutron Scattering and Muon Spectroscopy (NMI3). Disponível em: <<http://nmi3.eu/neutron-research/techniques-for-/chemical-analysis.html>> Acesso em: 24 de janeiro de 2015.
- NOGUEIRA, C. A. **Avaliação da poluição atmosférica por metais na região metropolitana de São Paulo utilizando a bromélia *Tillandsia Usneoides* L. como biomonitor**. 2006. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-29052007-135539/pt-br.php>> Acesso em: 10 de novembro 2014.
- NORDBERG, G.F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. **Handbook on the toxicology of metals**. London: Elsevier, 2007.
- PACHECO, A.M.G.; FREITAS, M.C. Trace-elements enrichment in epiphytic lichens and tree bark at Pico Island, Azores, Portugal. ***Journal of the Air and Waste Management Association***, v. 59, p. 411-218, 2009.
- PACYNA, E. G.; PACYNA, J. M.; FUDALA, J.; STRZELECKA-JASTRZAB, E.; HLAWICZKA, S.; PANASIUK, D.; NITTER, S.; PREGGER, T.; PFEIFFER, H.; FRIEDRICH, R. Current and future emissions of selected heavy metals to the atmosphere from anthropogenic sources in Europe. ***Atmospheric Environmental***, v.41, p. 8557-8566, 2007.
- PAOLI, L.; CORSINI, A.; BIGAGLI, V.; VANNINI, J.; BRUSCOLI, C.; LOPPI, S. Long-term biological monitoring of environmental quality around a solid waste landfill assessed with lichens. ***Environmental Pollution***, v.161, p.70-75, 2012.
- PAOLI, L.; MUNZI, S.; FIORINI, E.; GAGGI, C.; LOPPI, S. Influence of angular exposure and proximity to vehicular traffic on the diversity of epiphytic lichens and the bioaccumulation of traffic-related elements. ***Environmental Science and Pollution Research***, v.20, p.250-259, 2013.

- PAOLI, L.; MUNZI, S.; SENKO, D.; SARDELLA, G.; LOPPI, S. Lichens as suitable indicators of the biological effects of atmospheric pollutants around a municipal solid waste incinerator (S Italy). ***Ecological Indicators***, v.52, p. 362-370, 2015.
- PMB - Prefeitura Municipal de Botucatu. Disponível em: <www.botucatu.sp.gov.br>. Acesso em: 4 de maio 2015.
- POPE C.A.; RENLUND, D. G.; KFOURY, A. G.; MAY, H. T.; HORNE, B. D. Relation of heart failure hospitalization to exposure to fine particulate air pollution. ***American Journal of Cardiology***, v.102, p.1230-134, 2008.
- POTTS, P. J.; WEBB, P.C., X ray fluorescence spectrometry. ***Journal of Geochemical Exploration***, v.44, p.251-296, 1992.
- PRUDÊNCIO, M.I. Biogeochemistry of trace and major elements in a surface environment (volcanic rock, soil, mosses, lichens) in the S. Miguel Island, Azores, Portugal. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 271, p. 431–437, 2007.
- PULLES, T.; DENIER van der GON, H.; APPELMAN, W.; VERHEUL, M. Emission factors for heavy metals from diesel and petrol used in European vehicles. ***Atmospheric Environment***, v. 61, p. 641-651, 2012.
- PURVIS, O. W.; PAWLIK-SKOWRONSKA, B. Lichens and metals. In: AVERY, S.V.; STRATFORD, M.; WEST, P. V. (Eds.) ***Stress in yeast and filamentous fungi***. British Mycological Society Symposia Series, v. 27, p.175-200, 2008.
- REIMANN, C.; HALLERAKER, J.H.; KASHULINA, G. Comparison of plant and precipitation chemistry in catchments with different levels of pollution on the Kola Peninsula, Russia. ***The Science of the Total Environment***, v. 243/244, p.169-191, 1999.
- RICHARDSON, D.H.S; NIEBOR, E. Lichens and pollution monitoring. ***Endeavour***, v.5 no.3, p.127-133, 1981.
- SAIKI, M.; FUGA, A.; ALVES, E. R.; VASCONCELLOS, M.B.A.; MARCELLI, M.P. Biomonitoring of the atmospheric pollution using lichen in the metropolitan area of São Paulo city, Brazil. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 271, n.1., p. 213-219, 2007.
- SAIKI M.; SANTOS, O.J; ALVES, E.R; GENEZINI, F.A; MARCELLI, M. P; SALVIVA, P.H.N. Correlation study of air pollution and cardio-respiratory diseases through NAA of an atmospheric pollutant biomonitor. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v.299, p.773-779, 2014.

- SCERBO, R.; POSSENTI, L.; LAMPUGNANI, L.; RISTORI, T.; BARALE, R. BARGHIGIANI, C., Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring trace element contamination and air quality assessment in Livorno Province (Tuscany, Italy). ***The Science of the Total Environment***, v. 241, p.91-106, 1999.
- SCERBO, R.; RISTORI, T.; POSSENTI, L.; LAMPUGNANI, L.; BARALE, R.; BARGHIGIANI, C. Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy). ***The Science of the Total Environmental***, v. 286, p.27-40, 2002.
- SCHAUER, J. J.; LOUGH, G. C.; SHAFER, M. M.; CHRISTENSEN, W. F.; ARNDT, M. F.; DEMINTER, J. T.; PARK, J. ***Characterization of metal emitted from motor vehicles***. Research Report – Health Effects Institute, n.133, p.1-98.2006.
- SEAWARD, M.R.D. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. ***Environmental Review***, v. 1, p.73-91, 1993.
- SERWAY, R. A.; JEWETT Jr., J. W., ***Princípios de física, óptica e física moderna***, Boston: Cengage Learning, v. 4, 3ª edição 2005.
- SLOOF, J. E.; WOLTERBEEK, H. Th. Substrate influence on epiphytic lichens. ***Enviromental Monitoring and Assessment*** v. 25, p. 225-234. 1993.
- SLOOF, J. E. ***Enviromental lichenology: Biomonitoring trace element air pollution***, 1993. Dissertation (ISBN 90-73861-12-8). Department of Radiochemistry of the Interfaculty, Reactor Institute of the Delft University of Technology, Delft, The Netherland. Disponível em: <<http://repository.tudelft.nl/view/ir/uuid%3Ae0fa7866-d57e-4deb-8f05-22fbe63bf11a/>> Acesso em: 10 de abril de 2014.
- SPIELMANN, A. A.; MARCELLI, M. P. Fungos liquenizados (liquens). Instituto de Botânica, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, São Paulo, 2006.
- SZCZEPANIAK, K.; BIZIUK, M. Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. ***Environmental Research***, v. 93, p. 221–230, 2003.
- THOMPSON, M. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. ***The Analyst Communication***, v. 125 p. 385-386, 2000.
- USP - Universidade de São Paulo, Mapa USP. Disponível em <http://www.usp.br/mapas/cidade_universitaria.html>. Acesso em: 10 de junho 2014

UTEP – The University of Texas at el Paso. Disponível em:
<<https://wiki.utep.edu/pages/viewpage.action?pageId=51217146>> Acesso em
10 de março de 2015.

WADLEIGHT, M. A. Lichens and atmospheric sulphur: what stable isotopes reveal. ***Environmental Pollution***, v. 126, p. 345-351, 2003.

WOLTERBEEK, B. Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives. ***Environmental Pollution***, v.120, p.11-21, 2002.

WOOD, R. How to validate analytical methods. ***Trends in Analytical Chemistry***, v. 18, p. 624-632, 1999.

ZHANG, Y, X.; CAO, J. J.; LI, M. L.; ARIMOTO, R.; CHENG, Y.; HUEBERT, B.; WANG, D. Characterization of Atmospheric Aerosol over XiAn in the South Margin of the Loess Plateau, China. ***Atmospheric Environment***, v. 36, p. 4189-4199, 2002