

JOANA MÚRIAS GOMES LAGE

**Biomonitorização da deposição atmosférica de elementos
químicos na zona industrial de Gijón, Espanha**

Orientadora: Doutora Susana Marta Lopes Almeida

Co-Orientador: Professor Mestre Jorge Costa

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Engenharia

Lisboa

2013

JOANA MÚRIAS GOMES LAGE

**Biomonitorização da deposição atmosférica de elementos
químicos na zona industrial de Gijón, Espanha**

Dissertação apresentada na Universidade Lusófona
de Humanidades e Tecnologias para obtenção do
grau de Mestre em Engenharia do Ambiente.

Orientadora: Doutora Susana Marta Almeida

Co-Orientador: Prof. Mestre Jorge Costa

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Engenharia

Lisboa

2013

The dose makes the poison

Paracelsus (1493-1541)

Dedico este trabalho à minha Avó Mizé, que, apesar de já não estar presente, sei que ficará orgulhosa por mais uma realização pessoal da neta.

Agradecimentos

Para a concretização de mais uma importante etapa na minha vida, muitas pessoas tiveram um papel fundamental, com o apoio dado, incentivo e colaboração.

Assim inicio por agradecer à minha orientadora Doutora Susana Marta Almeida, pela possibilidade de realizar uma dissertação com esta temática, pelos imensos conhecimentos que me transmitiu, bem como pela total disponibilidade e colaboração na realização deste trabalho.

Agradeço ao orientador Professor Jorge Costa, pela colaboração na realização desta dissertação, contribuindo para um melhor desenvolvimento do trabalho.

Ao Professor Miguel Bessa Pacheco, pela disponibilidade e colaboração para me ajudar a realizar parte desta dissertação, enriquecendo-me com novos conhecimentos na área de sistemas de informação geográfica.

Ao antigo Instituto Tecnológico e Nuclear, actual Campus Tecnológico e Nuclear do Instituto Superior Técnico, UTL, deixo um agradecimento pela aceitação da minha frequência para a realização de trabalho prático na Unidade de Reactores e Segurança Nuclear (URSN), sem o qual não teria sido possível a realização do presente estudo.

Agradeço ao grupo NANE, onde estive inserida, pela boa aceitação no grupo e amizade que se desenvolveu. Deste modo agradeço ao Nuno Canha, à Alexandra Silva, ao Timóteo Site, ao Tiago Ribeiro, à Catarina Galinha, à Isabel Dionísio, por todos os bons momentos e por todos os conhecimentos que me transmitiram. Neste mesmo grupo e amigas já de licenciatura, deixo um grande obrigada à Marina Silva e à Carla Ramos, por todos os momentos de partilha, trabalho e alegria, sempre com uma palavra de apoio e incentivo.

Aos meus colegas e amigos, desde licenciatura, mas com um enorme companheirismo durante os dois anos de Mestrado, agradeço à Joana Vieira e ao Ricardo Vinhais, por todos os momentos de animação, entreajuda, companheirismo e alegria que partilhámos nos bons e nos maus momentos desta etapa da nossa vida. Agradeço à minha turma de mestrado, que, apesar de heterogénea, conseguimos desenvolver um espírito de entreajuda enorme e bom.

Não menos importante, agradeço à Joana Bastos, à Rafaela Morgado, à Sofia Antunes, à Joana Lopes, à Débora Azeitona e à Nídia Freitas pelo apoio que desde sempre me deram, umas desde infância e outras desde a licenciatura, provando que estão ao meu lado a encorajar-me para qualquer etapa da minha vida.

Agradeço ao meu cunhado Gonçalo, pelo apoio e incentivo, sempre com a sua boa disposição para ajudar.

Agradeço ao meu namorado Rodrigo, por me acompanhar nas noites longas de trabalho, por me apoiar e incentivar todos os dias a ultrapassar todas as etapas e obstáculos.

Agradeço ao meu avô Gregório pela demonstração de carinho e preocupação para a concretização desta etapa. À avó Nita pelo apoio também dado.

À mana agradeço-lhe simplesmente por existir, por ser a minha companheira, pela enorme amizade e por estar sempre ao meu lado para o que eu precisar.

Por fim, mas de enorme importância, agradeço à Mãe e ao Pai por me terem dado a possibilidade de progredir no meu percurso académico, fazendo todos os possíveis para que este me traga boas recompensas de futuro. Agradeço-lhes todo o amor e amizade.

Resumo

Esta tese de mestrado teve como principal objectivo estudar a distribuição de elementos químicos presentes na atmosfera de uma zona industrial no norte de Espanha – Gijón, Astúrias - através da técnica de biomonitorização, na qual se utilizaram líquenes como biomonitores.

Líquenes epífitas *Parmelia sulcata* foram retirados de oliveiras de uma zona rural portuguesa não poluída - Montargil. Estes foram transplantados para Gijón e colocados numa grelha de 18km por 20km, envolvendo uma área industrial constituída por uma cimenteira, uma siderurgia e uma indústria termoeléctrica. O período de exposição foi de 5 meses, entre Abril e Setembro de 2010.

A caracterização elementar das amostras foi efectuada através da técnica Análise Instrumental de Activação Neutrónica (INAA) identificando-se assim o Al, As, Br, Cl, Cu, Fe, I, La, Na, Sb, Sc, Sm, V e Zn. Para determinar as respectivas concentrações recorreu-se ao método k_0 .

Posteriormente estudou-se a distribuição espacial dos elementos analisados através de um programa de modelação de sistema de informação geográfica (SIG), o ArcGIS 10.

Os resultados do presente estudo demonstraram que existem elementos com uma distribuição similar e que estão associados a um mesmo tipo de fonte. Assim, identificaram-se três principais fontes de emissão: o solo (identificado pelos elementos Al, La, Sc e Sm); o mar (identificado pelo Br, Cl, I e Na) e fontes antropogénicas (associadas ao As, Cu, Fe, Sb, V e Zn).

Palavras-chave: Biomonitorização, Líquenes, INAA, Distribuição geoespacial, SIG.

Abstract

The main purpose of this master thesis was to combine biomonitoring techniques with geographic information systems (GIS) in order to assess the impact of an industrial area from the North of Spain onto the air quality.

Samples of the epiphytic lichen *Parmelia sulcata* were collected from olive trees in an unpolluted Portuguese rural area (Montargil, Portugal) and transplanted to the north of Spain, in a grid of 18 km per 20 km, having an industrial area at its center: a cement mill, a power plant and a steelwork. Lichens were exposed during 5 months, starting in April and ending in September 2010. After exposure the technique Instrumental Neutron Activation Analysis, using the k_0 methodology, was used to determine the concentrations of the elements Al, As, Br, Cl, Cu, Fe, I, La, Na, Sb, Sc, Sm, V and Zn.

The spatial distribution pattern of the elements concentrations was modelled using the programme ArcGIS 10.

Results showed that some elements presented a similar spatial distribution. Three main types of patterns were identified indicating the existence of three principal types of sources: the soil identified by the elements Al, La, Sc and Sm; the sea identified by Br, Cl, I and Na, and the anthropogenic sources associated with As, Cu, Fe, Sb, V and Zn.

Key-words: Biomonitoring, Lichens, INAA, Geospacial distribution, GIS.

Índice

Agradecimentos	4
Resumo	6
Abstract	7
Índice	8
Índice de Figuras	11
Lista de Abreviaturas	14
1. Memória Descritiva	16
2. Âmbito do Estudo	18
3. Enquadramento Teórico	19
3.1. O ar atmosférico	19
3.2. Biomonitorização	21
3.2.1. Métodos de Biomonitorização	22
3.2.2. Biomonitorios	23
3.2.2.1. Características dos Biomonitorios.....	24
3.2.2.2. Musgos e Líquenes.....	25
3.2.2.3. Factores que Influenciam os Biomonitorios.....	26
3.2.3. Vantagens e Desvantagens da Biomonitorização	26
3.3. Líquenes.....	27
3.3.1. Reprodução de Líquenes	32
3.3.1.1. Reprodução Assexuada.....	32
3.3.1.1. Reprodução Sexuada.....	33
3.3.2. Utilização de líquenes em estudos de poluição atmosférica.....	33
3.3.3. Mecanismos de captação de elementos químicos.....	34
3.3.4. Mecanismos de deposição de partículas.....	34
3.4. Análise Elementar	35
3.4.1. Reactor Português de Investigação.....	35

3.4.2. Activação Neutrónica	37
3.4.2.1. Análise por Activação Neutrónica	38
3.4.2.1.1. Processos de decaimento ou desintegração radioactiva....	39
3.4.2.1.2. Neutrões e reacções nucleares.....	40
3.4.2.2. Espectro de radiação gama.....	41
3.4.2.3. Técnica Nuclear INAA	41
3.4.2.3.1. Método k_0	42
3.5. Distribuição Geoespacial.....	43
3.5.1. Sistema de Informação Geográfica	43
3.5.2. O ArcGIS.....	45
3.5.2.1. Método de Interpolação (IDW).....	45
4.Procedimentos e Metodologia.....	46
4.1. Caracterização do Local de Amostragem.....	46
4.1.1. Enquadramento Histórico e Cultural	47
4.1.2. Caracterização Geográfica e Climatológica.....	48
4.1.3. Ocupação da zona de estudo.....	49
4.2. Recolha e Transporte de Amostras	50
4.3. Transplante e Amostragem de Líquenes.....	50
4.4. Preparação e Irradiação de amostras	51
4.5. Pós-irradiação e Medição.....	54
4.6. Sistema Pneumático Rápido	55
5.Apresentação de Resultados	56
5.1. Controlo da qualidade	56
5.2. Determinação de elementos químicos através da técnica INAA.....	58
5.3. Mapeamento e determinação de fontes de emissão	58
6.Considerações Finais	83
7.Perspectivas Futuras	84
8. Referências Bibliográficas.....	85

Apêndices.....	I
Apêndice I – Referências de manuscritos e comunicações científicas.	I
Apêndice II – Manuscrito Almeida, S.M., Lage, J., Freitas, M.C., Pedro, A.I., Ribeiro, T., Silva, A.V., et al. (2012).....	II
Apêndice III – <i>Abstracts</i> de comunicações científicas.	XIV
Anexos	XVIII
Anexo I – Procedimento experimental de colheita e preparação de líquenes.....	XVIII
Anexo II – Procedimento experimental de liofilização	XX
Anexo III – Procedimento experimental de moagem de amostras.....	XXII
Anexo IV – Procedimento experimental de medição de amostras no amostrador automático de amostras	XXIV

Índice de Figuras

Figura 1 – Musgo	25
Figura 2 – Líquen.....	25
Figura 3 – Líquen constituído por fungo e fotobionte (alga).....	28
Figura 4 – Corte vertical de um líquen com a demonstração da sua constituição.	30
Figura 5 - Líquenes do tipo crostoso.	31
Figura 6 – Líquen do tipo foliar.....	31
Figura 7 – Líquen do tipo fruticular.....	31
Figura 8 – Vista superior da piscina do RPI.	36
Figura 9 – Esquema de um reactor tipo piscina.	36
Figura 10 - Grelha representativa do núcleo do RPI	37
Figura 11 - Processo de captura de neutrões e emissão de radiação gama.	37
Figura 12 - Representação <i>raster</i> da cobertura da Terra	44
Figura 13 - Uma área (linha vermelha) e a sua aproximação por um polígono (linha azul) ..	44
Figura 14 - Local de estudo, Gijón, Astúrias, Espanha.....	46
Figura 15 - Local de estudo e as respectivas indústrias.....	47
Figura 16 - Localização geográfica de Gijón	48
Figura 17 - Ocupação de solo na área de estudo.....	49
Figura 18 - Mapa de Portugal com a localização de Montargil	50
Figura 19 - Distribuição dos pontos de amostragem	51
Figura 20 - Representação esquemática da preparação de amostras para irradiação	52
Figura 21 - Amostras preparadas nos respectivos contentores.....	53
Figura 22 - Amostras embaladas preparadas para irradiar.....	53
Figura 23 – Detector de radiação gamma de HPGe medição de amostras.....	55
Figura 24 - Valores obtidos do padrão <i>Citrus Leaves</i> e IAEA-336 dos elementos químico em estudo.....	57
Figura 25 – Distribuição geoespacial da concentração do elemento bromo, de origem no mar.	60
Figura 26 – Distribuição geoespacial da concentração do elemento cloro, de origem no mar.	61
Figura 27 - Distribuição geoespacial da concentração do elemento iodo, de origem no mar.	62
Figura 28 - Distribuição geoespacial da concentração do elemento sódio, de origem no mar.	63

Figura 29- Gráficos de concentrações para os elementos Na, Br, I e Cl nos diferentes pontos de amostragem comparativamente com a linha correspondente ao valor médio das concentrações obtidas nos líquenes não expostos (linha encarnada).....	65
Figura 30- Distribuição geoespacial da concentração do elemento alumínio, de origem no solo.....	67
Figura 31- Distribuição geoespacial da concentração do elemento lantânio, de origem no solo.....	68
Figura 32- Distribuição geoespacial da concentração do elemento escândio, de origem no solo.....	69
Figura 33- Distribuição geoespacial da concentração do elemento samário, de origem no solo.....	70
Figura 34 – Gráficos de concentrações para os elementos Al, La, Sc e Sm, nos diferentes pontos de amostragem comparativamente com a linha correspondente ao valor médio das concentrações obtidas nos líquenes não expostos (linha encarnada).....	72
Figura 35- Distribuição geoespacial da concentração do elemento arsénio, de origem antropogénica.....	74
Figura 36- Distribuição geoespacial da concentração do elemento cobre, de origem antropogénica.....	75
Figura 37- Distribuição geoespacial da concentração do elemento ferro, de origem antropogénica.....	76
Figura 38- Distribuição geoespacial da concentração do elemento antimónio, de origem antropogénica.....	77
Figura 39- Distribuição geoespacial da concentração do elemento vanádio, de origem antropogénica.....	78
Figura 40- Distribuição geoespacial da concentração do elemento zinco, de origem antropogénica.....	79
Figura 41- Gráficos de concentrações para os elementos As, Cu, Fe, Sb, Zn e V nos diferentes pontos de amostragem comparativamente com a linha correspondente ao valor médio das concentrações obtidas nos líquenes não expostos (linha encarnada).	81

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Principais Processos de desintegração radioactiva.....	40
--	----

Lista de Abreviaturas

Al – Alumínio

APA - *American Psychological Association*

As – Arsénio

Ca – Cálcio

Cl – Cloro

Cu – Cobre

Br – Bromo

eV – Electrão Volt

Fe – Ferro

IAEA – *International Atomic Energy Agency* – Agência Internacional de Energia Atómica (IAEA-RM-336)

IDW – *Inverse Distance Weighting* – Ponderação da Distância Inversa

INAA – *Instrumental Neutron Activation Analysis* – Análise Instrumental por Activação de Neutrões

I – Iodo

ITN – Instituto Tecnológico e Nuclear

K – Potássio

KeV – Quilo electrão-Volts. $1 \text{ KeV} \approx 1,6 \times 10^{-16}$

Kg – Quilograma(s)

L – Litro(s)

La – Lantânio

MeV – Mega electrão Volt

Mn – Manganês

Na – Sódio

NAA - *Neutron Activation Analysis* – Análise por Activação de Neutrões

NANE – Grupo de Activação Neutrónica em Ambiente, Nutrição e Epidemiologia

NIST – *National Institute of Standards and Technology* – Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST-SRM-1572 Citrus Leaves)

RFCS - *Research Fund for Coal and Steel*

RPI - Reactor Português de Investigação

Sb – Antimónio

Sc – Escândio

SIG – Sistema(s) de Informação de Geográfica

Sm – Samário

SIPRA – Sistema Pneumático Rápido

T_{1/2} – Tempo de semi-vida

URSN – Unidade de Reactores e Segurança Nuclear

V – Vanádio

Zn – Zinco

Abreviaturas relacionadas com a área de estudo:

AMabo, **PS1**, **PS2**, **AMmin**, **AMSint**, **AMcoq** e **AMPort**, são designações internas, atribuídas aos locais de amostragem próximos ou incluídos da área industrial, envolvendo o porto, a cimenteira, a central termoelétrica e a siderurgia.

1. Memória Descritiva

A poluição atmosférica é uma temática que tem adquirido cada vez mais importância ao longo dos tempos, acompanhando o desenvolvimento da sociedade.

A interacção entre as actividades antropogénicas e o ambiente apresenta uma relação directa, sendo que o Homem é um dos principais responsáveis pela degradação contínua do ar atmosférico. Para esta contribuição são tidas em consideração diversas fontes de contaminação como veículos automóveis, emissões industriais, combustões domésticas, construções, pedreiras e explorações minerais, produção de cimento e cerâmicas, incêndios, agricultura e emissões fugitivas. Não obstante, é notável a influência de fontes naturais, como o mar, o solo, os vulcões e as emissões biogénicas (Almeida, 2004).

Deste modo, surge cada vez mais a necessidade de serem criados estudos teóricos e práticos que permitam caracterizar locais relativamente à qualidade do ar, o qual pode ter influência directa na saúde da população local e no meio ambiente.

Este trabalho está dividido em oito capítulos que permitem efectuar um enquadramento teórico da temática em estudo, um conhecimento acerca da técnica experimental a ser usada, os procedimentos a seguir para o tratamento dos materiais de estudo e análise, bem como os resultados e conclusões obtidas a partir destes e as referências bibliográficas utilizadas.

Deste modo os capítulos são:

- **Capítulo 2** – Âmbito de estudo: apresentação da temática abordada neste trabalho, juntamente com o objectivo geral a atingir e os objectivos específicos a que lhe estão associados.
- **Capítulo 3** – Enquadramento teórico: Neste capítulo é possível adquirir informação relativamente à técnica utilizada – biomonitorização - dando a conhecer no que esta consiste, as vantagens e as desvantagens. Associada à biomonitorização é apresentado o tipo de biomonitor usado, as suas características, bem como o

processo de reprodução, e vantagens/desvantagens do seu uso em estudos de poluição atmosférica.

Nesta secção é referida a Análise por Activação com Neutrões, técnica utilizada para a obtenção das concentrações elementares neste caso de estudo. Como tal, é mencionado o Reactor Português de Investigação (RPI) e uma explicação sobre esta técnica utilizada.

Uma vez que se pretende efectuar um mapeamento dos resultados obtidos de acordo com os elementos analisados, neste capítulo são focados alguns aspectos importantes relativamente ao *software* utilizado na distribuição geoespacial e a alguns conceitos associados.

- **Capítulo 4** – Procedimentos e Metodologias: Para a realização da parte experimental deste trabalho foi necessário estabelecer uma metodologia de trabalho. Para tal, este capítulo inicia-se pela caracterização do local de estudo, de modo a efectuar um enquadramento das características do local em causa. São também apresentadas as diversas etapas necessárias para o tratamento do material de estudo, os líquenes, onde são explicados os procedimentos aplicáveis. Posteriormente à fase de pré tratamento dos líquenes é apresentado todo o processo envolvido na análise elementar, desde a preparação das amostras para irradiar até à medição das mesmas.
- **Capítulo 5** – Apresentação de Resultados: Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos, com as respectivas análises. Os resultados obtidos serão ao nível de verificação do controlo da qualidade, a determinação dos elementos nas amostras de líquenes, bem como os mapas efectuados com os resultados das concentrações dos elementos obtidos. Como tal, é possível efectuar algumas conclusões relativamente aos resultados obtidos.
- **Capítulo 6** – Considerações Finais: Após realizadas todas as etapas do estudo, é neste capítulo que se fazem as conclusões relativas a diversos aspectos e parâmetros analisados no decorrer do trabalho.
- **Capítulo 7** – Perspectivas Futuras: Este capítulo finaliza esta dissertação com a apresentação de sugestões de estudos na área desta temática que seriam importantes a serem desenvolvidos num futuro próximo.
- **Capítulo 8** – Referências Bibliográficas: após as considerações do trabalho e apresentação de potenciais estudos a desenvolver, são apresentadas as referências bibliográficas de acordo com a norma da *American Psychological Association* (APA).

2. Âmbito do Estudo

O presente estudo tem como objectivo principal estudar a distribuição de elementos químicos na atmosfera na zona envolvente de uma das maiores siderurgias mundiais, localizada no norte de Espanha, recorrendo a biomonitores. O local alvo de estudo consiste numa zona urbana, de grande atracção turística, e simultaneamente com grande intensidade de actividade industrial.

Assim, neste trabalho propõe-se atingir os seguintes objectivos:

- Controlo de qualidade das técnicas analíticas a serem utilizadas;
- Análise química de líquenes expostos na zona envolvente de uma siderurgia através da técnica Análise de Activação com Neutrões;
- Mapeamento das concentrações de elementos químicos com recurso a Sistemas de Informação Geográfica (ArcGis 10);
- Identificação das principais fontes emissoras dos elementos em estudo.

Esta tese de mestrado foi desenvolvida no âmbito do projecto ASEMIS – *Assessment of emissions and impact of steel production processes*, financiado por *Research Fund for Coal and Steel (RFCS)*, onde os primeiros resultados foram já apresentados em diversas comunicações científicas (Apêndices I, II e III).

3. Enquadramento Teórico

3.1. O ar atmosférico

A poluição do ar a nível mundial é um problema de elevada preocupação actual. Desde a revolução industrial que a qualidade do ar tem sofrido alterações relacionadas com o impacte das actividades antropogénicas desenvolvidas nos diferentes países. A contaminação e a má qualidade do ar poderão proporcionar efeitos nefastos na saúde humana, constituindo então uma preocupação pública (Smodis et al, 2002).

Este problema surge desde o reinado de Edward I (1272-1307), de Inglaterra, o qual implementou a restrição do uso do carvão como combustível, em Londres, devido à emissão de gases nocivos. O rei sucessor, Edward II (1307-1327), no seguimento dos ideais do seu anterior, ordenou a tortura daqueles que poluísssem a atmosfera com fumo de carvão. Já Edward III adoptou uma posição mais moderada, aplicando taxas ao uso desse combustível. No século XVI, com o aumento da população e da desflorestação, a queima de carvão, que consiste num principal modo de entrada de mercúrio e metais pesados na atmosfera, tornou-se numa necessidade (Wilson, 1996).

Antes da Revolução Industrial, a poluição atmosférica era atribuída maioritariamente às indústrias metalúrgicas, cerâmicas e de transformação de produtos animais. No século XIX, os maiores problemas passaram a resultar dos fumos e cinzas provenientes da queima de carvão e fuel em caldeiras de centrais térmicas, locomotivas, barcos e aquecimentos domésticos. Durante esta época existia pouco controlo da poluição (Wilson, 1996).

O século XX trouxe uma maior consciencialização ambiental, a qual resultou na adopção de processos menos poluentes por parte das indústrias, passando assim o tráfego automóvel a destacar-se como uma das principais fontes emissoras. Nesta época, na tentativa de melhorar o problema de poluição associado às emissões gasosas das indústrias, o método adoptado pela primeira vez foi a dispersão da poluição em altura, realizada por chaminés, a qual já tinha sido defendido por Evelyn (1661). Mesmo na primeira metade deste século, muitos especialistas acreditavam que este método era adequado para manter um ambiente saudável. No fim da segunda metade do século, a população direccionou a sua preocupação para os principais efeitos da poluição do ar pelos acidentes ou incidentes de poluição atmosférica, como, por exemplo, o acidente na Bélgica, em Dezembro de 1930, onde poluentes atmosféricos se foram acumulando num vale, o que

contribuiu para a ocorrência de mortes de animais e de 60 pessoas na primeira semana (Wilson, 1996).

É importante constatar que o ar, apesar de ser o recurso mais abundante, é aquele pelo qual os seres vivos mais dependem, daí a importância de o preservar. Verifica-se então que para o funcionamento normal do organismo de um homem adulto são necessários diariamente 0,5kg de alimentos, 1,5L de água e aproximadamente 15kg de ar, sendo que na ausência deste último, por alguns minutos, não será possível sobreviver (Almeida, 2004).

A preocupação sobre os efeitos toxicológicos dos poluentes nos organismos vivos e a tomada de consciência dos problemas ambientais associados à contaminação do ar, água e solo, tornaram necessário, durante a última metade do século XX, a quantificação e qualificação desses poluentes no ambiente. Deste modo, surgiram as redes de amostragem para monitorização da qualidade do ar. No entanto, estas não aparentaram ser eficazes, uma vez que existiam em pequena quantidade, não conseguindo efectuar uma representação eficaz da variabilidade temporal ou espacial dos poluentes. Tal ineficácia deveu-se ao facto de a informação de elementos químicos poluentes ser obtida geralmente pelo modelo de dispersão ou por medições de campo das emissões, as quais requerem que as amostras sejam sujeitas a medições de longo prazo e em vários locais de amostragem, o que não era possível de ocorrer. Este reduzido número de estações deve-se ao facto dos instrumentos de monitorização serem dispendiosos, necessitarem de energia eléctrica para o seu funcionamento, limitando a sua localização, e de requererem protecção contra furtos ou vandalismo (Reis, 2001).

Na prática, controlar a poluição atmosférica é um processo muito complexo uma vez que envolve a identificação de fontes e emissões, avaliação de métodos analíticos, avaliação de riscos, controlo de emissões críticas e avaliação de necessidades económicas (Wolterbeek et al., 2010).

Atendendo aos problemas mencionados no parágrafo anterior, surge como possível recurso uma outra técnica, a qual utiliza organismos vivos (biomonitores) para a monitorização ambiental. Esta técnica, designada por biomonitorização, é a aplicada neste caso de estudo.

Actualmente, a utilização de seres vivos como indicadores da estabilidade ambiental tem sido largamente reconhecida. Ao longo das últimas décadas plantas, animais, fungos e bactérias têm sido empregues como bioindicadores e biomonitores para estudos de poluição do ar, solo e água (Wolterbeek et al., 2003). Ao longo dos anos, em diversos países tem sido comprovado experimentalmente que a aplicação da técnica de biomonitorização com

seres vivos para a avaliação da deposição de elementos atmosféricos é bem sucedida e rentável (Wolterbeek et al., 2003; Sarmento, 2012).

A utilização de biomonitores a longo prazo pode tornar-se útil na determinação de tendências e correlações entre os principais elementos do ar (Garty, 1997). Deste modo, deve ser ponderada a sua aplicação em estudos de monitorização em áreas completamente desprovidas de qualquer sistema de detecção de impactos ambientais.

Posto isto, verifica-se que o uso de biomonitores neste estudo - líquenes - é útil para a avaliação do risco para a saúde humana e pode ser uma poderosa ferramenta para administradores envolvidos em planeamento ambiental (Garty, 2001).

3.2. Biomonitorização

A observação e o estudo do impacto de factores externos ao ecossistema e os desenvolvimentos daí decorrentes num período longo podem ser realizados com a aplicação dos métodos de bioindicação e biomonitorização. Ambos são métodos promissores e económicos, sendo então viáveis para estudos de monitorização ambiental em áreas vastas. É importante distinguir bioindicação de biomonitorização. De acordo com o desenvolvimento de definições relativas a estes termos ao longo destes 20 anos, actualmente é definindo bioindicação como um método de abordagem qualitativa para a determinação de substâncias químicas no ambiente, e biomonitorização como uma abordagem quantitativa do mesmo (Market, 2008).

Neste âmbito é importante clarificar que, segundo Market (2007), um bioindicador é um organismo (ou parte de um organismo ou uma comunidade de organismos) que contém informação relativa à qualidade do ambiente (ou parte deste). De acordo com o mesmo, um biomonitor corresponde a um organismo (ou parte de um organismo ou uma comunidade de organismos) que contém informação sobre aspectos quantitativos da qualidade do ambiente (ou parte deste). Um facto importante é que, um biomonitor é sempre um bioindicador, mas um bioindicador não satisfaz necessariamente os requisitos de biomonitor (Market, 2008).

De modo geral, conclui-se que a bioindicação utiliza organismos para a identificação e determinação qualitativa de factores ambientais (de origem antropogénica) num determinado instante, produzindo o retrato instantâneo de uma determinada situação ambiental, enquanto que na biomonitorização os organismos são usados para a determinação quantitativa de contaminantes, numa observação contínua, no espaço ou no tempo (Figueira, 2002).

Aos biomonitores podem ser aplicados dois tipos de medição, nomeadamente através da determinação directa no organismo do poluente ambiental que se pretende analisar, pela sua concentração nos tecidos; ou através da determinação da resposta do organismo às variações ambientais, por parâmetros morfológicos, fisiológicos (trocas gasosas, degradação de pigmentos, alterações da actividade enzimática) ou ecológicos (alterações da densidade populacional ou da composição das comunidades) (Figueira, 2002). É ainda possível afirmar que um estudo de biomonitorização tem como principal objectivo identificar tendências na resposta dos organismos às alterações do ambiente ao longo do espaço (e.x.: o aumento da distância à fonte de contaminação, orografia, geologia, etc) e do tempo (período de exposição e características climáticas) (Market et al., 2011).

Neste estudo, tal como já foi referido anteriormente, os biomonitores utilizados foram líquenes, os quais consistem em seres resultantes de uma simbiose líquénica entre um microbionte (fungo) e um ou mais fotobiontes (algas e/ou cianobactérias) (Nash III, 1996; Garty, 2001).

Os primeiros estudos com bioindicadores foram realizados na Europa por Nylander na época de 1866 tendo como propósito o desaparecimento da flora líquénica em resultado da poluição atmosférica derivada da queima do carvão (Nimis, 1990). Apesar de se ter iniciado na década de 60, foi na época de 70 que este tipo de estudos se generalizou. Assim, foram desenvolvidos trabalhos na área de distribuição geográfica de populações líquénicas relacionadas com a poluição do ar; relação entre a intensidade de deposição atmosférica com a quantificação da concentração de poluentes nos organismos; e na análise de alterações morfológicas, anatómicas e fisiológicas relacionadas com a degradação da qualidade do ar (Figueira, 2002).

A evolução do método de biomonitorização deveu-se à sua eficácia enquanto método complementar à monitorização mecânica. Atendendo a conclusões de diversos autores, a maior vantagem deste método consiste em permitir recorrer a uma maior densidade de amostras a um menor custo. Assim, esta técnica tem sido desenvolvida no campo ambiental direccionado para problemas de poluição atmosférica e aquática. Relativamente a ambientes terrestres, foram os líquenes e plantas os biomonitores mais utilizados nos estudos (Nimis, 1990)

3.2.1. Métodos de Biomonitorização

Antes da realização da componente prática de um trabalho de biomonitorização, deve ser efectuada uma análise do local em estudo relativamente à espécie de biomonitor a utilizar. Tal análise é necessária para determinar se o local apresenta aspectos negativos

em termos de poluição ambiental, essencialmente qualidade do ar, os quais possam afectar a qualidade do biomonitor nativo, ou até proporcionar a inexistência do mesmo. Perante uma situação como esta, o processo mais efectivo consiste na recolha de biomonitores de um outro local considerado não poluído, ou com melhores condições ambientais, seguido da sua transplantação de um modo padronizado na área de investigação por um período de tempo definido. Após este tempo de exposição são registadas as alterações provocadas nos organismos ou os seus xenobióticos são retirados e analisados (Smodis et al., 2004). A este método é atribuída a designação de biomonitorização activa. No entanto, existem estudos que não precisam de recorrer a este tipo de método uma vez que os locais de estudo apresentam biomonitores nativos, sendo então analisados localmente as suas reacções. A este método, oposto ao anterior, atribui-se o nome de biomonitorização passiva (Smodis, 2004; Figueira, 2002).

3.2.2.Biomonitores

Os biomonitores são organismos ou comunidades de organismos que apresentam alterações no seu ciclo de vida ou no seu estado fisiológico, nomeadamente na estrutura morfológica, histológica e celular, nos processos bioquímicos e metabólicos, comportamento ou estrutura da população, entre outros, aquando da presença de elementos ou compostos. São estas alterações que fornecem informação quantitativa sobre os aspectos da qualidade do ambiente ou mudanças no mesmo (Conti et al., 2011). Estes organismos podem ser classificados de sensitivos ou acumulativos, sendo a diferença entre eles a seguinte (Conti et al., 2001):

- Biomonitores sensitivos: são utilizados como integrantes do *stress* causado pelos contaminantes e como sistemas de alarme preventivo. A sua análise é baseada na alteração de aspectos bioquímicos, como as alterações na actividade enzimática, na fotossíntese e taxas de respiração.
- Biomonitores acumulativos: possuem a capacidade de acumular contaminantes nos seus tecidos e são usados para avaliação integrada da concentração desses elementos químicos no ambiente.

Num processo de biomonitorização a selecção do biomonitor é importante. Para a realização de um bom estudo adequado ao objectivo, é necessário o conhecimento da ecologia, fisiologia e biogeografia da espécie. Tal deve-se ao facto da ocorrência de alterações bioquímicas e fisiológicas, bem como da influência das condições ecológicas na acumulação de elementos. Não obstante, ainda devem ser identificados os mecanismos que podem influenciar o organismo (biomonitor) na sua resposta (Figueira, 2002).

3.2.2.1. Características dos Biomonitores

Os biomonitores apresentam determinadas características comuns, independentemente das suas diferenças fisiológicas, nomeadamente (Sloof, 1993; Conti et al., 2001):

- 1) Vasta distribuição geográfica;
- 2) Abundância, escassa mobilidade, representativos da área;
- 3) Facilidade na sua recolha;
- 4) Correlação simples com a quantidade de contaminante no organismo e a quantidade no meio ambiente envolvente.

O sucesso do desenvolvimento de um programa de biomonitorização depende em grande medida do biomonitor utilizado, uma vez que a grande variabilidade inerente ao organismo vivo pode condicionar o nível de confiança dos resultados obtidos. Para ser apropriado para a aplicação como biomonitor, são necessários requerimentos específicos num organismo.

Os critérios fundamentais, segundo Sloof (1993) são:

- A resposta do organismo a determinadas quantidades de elementos químicos a serem monitorizados tem de ser conhecida;
- O organismo tem de existir em todas as épocas do ano;
- O organismo tem de ser tolerante a poluentes a determinados níveis.
- Capacidade de acumulação diferenciada do poluente, relacionada com a intensidade de exposição ao factor ambiental;
- A absorção dos elementos químicos não deve ser influenciada por mecanismos de regulação biológica;
- O biomonitor deve mostrar as concentrações médias durante um determinado período como resultado do período em que esteve exposto;
- O organismo deve possuir concentrações “background” baixas;
- A montagem e a preparação da amostra devem ser fáceis e rápidas;
- A acumulação deve levar a níveis de concentração que possam ser tecnicamente possíveis de analisar.

De acordo com outros autores, o biomonitor deve ainda ser de fácil identificação taxonómica e de uma espécie suficientemente estudada, em relação à fisiologia, ecologia e morfologia (Martin et al., 1982; Witting, 1993).

Perante todas estas características verificadas em diversos organismos examinados, constata-se que os biomonitores usados com mais frequência em estudos de biomonitorização consistem nos musgos e nos líquenes (Wolterbeek, 2002; Smoldis, 2007).

3.2.2.2. Musgos e Líquenes

Os musgos e os líquenes (figuras 1 e 2) pertencem a grupos criptogâmicos não relacionáveis e distintos. No entanto, estes apresentam diversas características comuns. Ambos surgem em quase todo o ecossistema terrestre e conseguem colonizar áreas de condições extremas, isto devido à sua característica de grande resistência. Estes organismos não dispõem de sistemas de raiz ou de protecção de cutículas cerosas (Klos et al., 2011) e são formados durante longos períodos de tempo, dependendo, em grande escala, da deposição atmosférica de nutrientes. Estes seres apresentam uma constituição elementar, que de um modo integrado, reflecte os gases dissolvidos e/ou as partículas na atmosfera (Bargagli, 1998).



Figura 1 – Musgo (fonte própria)



Figura 2 – Líquen (fonte própria)

Os líquenes e os musgos, apesar de algumas desvantagens que apresentam, são considerados por alguns autores como boas ferramentas de monitorização da poluição do ar (Garty et al., 1996; Szczepaniak et al., 2003). No entanto, verifica-se que a sua eficácia é superior quando usados em simultâneo, uma vez que diferem na captação e retenção dos seus elementos químicos.

É possível depararmo-nos com algumas dificuldades aquando da utilização de líquenes e musgos como biomonitores. No que respeita aos líquenes, deve-se à dificuldade em encontrar espécies de composição similar uma vez que existem diferentes tipos de líquenes - crostosos, foliares e fruticulares. Quanto aos musgos, a sua escolha pode não ser

aconselhável uma vez que a sua composição é susceptível a alterações devido à área onde os mesmos se desenvolvem (Adamo et al., 2003).

3.2.2.3. Factores que Influenciam os Biomonitores

A acumulação de elementos em líquenes depende de inúmeros factores, tais como a disponibilidade de elementos químicos, as características do próprio líquen, o tipo de espécie, a idade, o estado de saúde e o tipo de reprodução. Existem ainda outros factores fundamentais, tais como a temperatura, as características do substrato, a humidade, a altitude, a orografia, entre outras (Baker, 1983).

De acordo com um estudo de Adamo et al. (2003), o qual colocou o musgo da espécie *Sphagnum capillifolium* e o líquen *Pseudevernia furfuracea* expostos durante 17 semanas seguidas, constatou que, de acordo com os resultados obtidos, o musgo era mais eficiente como acumulador que o líquen, uma vez que a capacidade de acumulação do musgo não é condicionada pelas condições meteorológicas e que a capacidade de acumulação do líquen melhora em condições húmidas. No entanto, apesar destas observações verifica-se que a selecção de um biomonitor depende de diversos factores, sendo que a disposição geográfica dos países constitui um desses factores. Nos países do norte da Europa existe maior disponibilidade de aglomerados de musgos de tamanho apropriado ao uso em estudos de biomonitorização, enquanto que nos países do sul, cujo clima é mais seco, os musgos já apresentam menores dimensões, tornando a preparação e a manipulação mais complexa e difícil.

Segundo diversos autores (Kral et al., 1989; Jeran et al., 1996), a altitude pode influenciar de forma significativa a concentração de alguns elementos químicos. De acordo com estudos por estes realizados, nos quais utilizaram a *Hypogymnia physodes*, foi verificado que a concentração de chumbo (Pb) aumenta linearmente com o aumento da altitude, enquanto que a concentração de cádmio (Cd) só apresenta esse comportamento entre os 900m e os 1100m de altitude.

3.2.3. Vantagens e Desvantagens da Biomonitorização

O objectivo da monitorização consiste em determinar as tendências espaciais e temporais em níveis e efeitos dos poluentes que são depositados ou transportados a nível local, regional ou continental (Wolterbeek et al., 2002).

A maior vantagem da biomonitorização está relacionada com a fácil amostragem e com o grau de acumulação de elementos (Sloof, 1993). Não obstante ao anteriormente mencionado, a biomonitorização permite a medição de uma exposição integrada sobre um determinado período de tempo (Steinnes, 1995; Sloof, 1993). Para além das vantagens em

termos de custo, os organismos biológicos permitem ainda uma interpretação biológica do impacte ambiental (Bargagli, 1997). Tal acontece uma vez que ao determinar instrumentalmente a concentração de um poluente no ambiente, não se conhece de imediato o seu impacte, enquanto que a resposta dos biomonitores integra a interacção entre os factores ambientais e os poluentes de um modo semelhante ao que acontece nos restantes componentes do ecossistema (Figueira, 2002)

Relativamente aos resultados obtidos no método de biomonitorização, estes podem apresentar alguma dificuldade de interpretação. Tal facto pode decorrer da falta de especificidade da resposta quando submetidos a diversos poluentes e à ausência de procedimentos padronizados (só recentemente começaram a ser desenvolvidas e harmonizadas abordagens padrão), bem como dificuldades de interpretação quando se pretende avaliar a contaminação com base em regulamentações, cujas unidades de medida foram definidas em função dos sistemas de monitorização físico-química (Reis, 2001). Por todos estes motivos, a biomonitorização é portanto entendida como uma ferramenta complementar aos sistemas físicos ao invés de um substituto dos mesmos (Figueira 2002).

Contudo, o valor desta técnica é reconhecido por agências nacionais de diversos países como Itália, Alemanha, Reino Unido, onde existem propostas de protocolos de biomonitorização aplicados em programas nacionais (Whitfield, 2001).

Este trabalho utiliza os líquenes como biomonitores. Como tal, no ponto 3.3. seguinte, do presente capítulo, será dado a conhecer de um modo mais específico as características e funcionalidades dos líquenes.

3.3. Líquenes

Os líquenes surgiram à cerca de 400 milhões de anos e estima-se que existem aproximadamente 20.000 espécies de líquenes no planeta (Nash III, 1996). Estes organismos são seres simbióticos e compostos por um fungo (microbionte) e uma ou mais partes fotossintéticas, que podem ser algas e/ou cianobactérias (fotobionte) (figura 3) (Nash III, 1996; Garty et al., 2002).

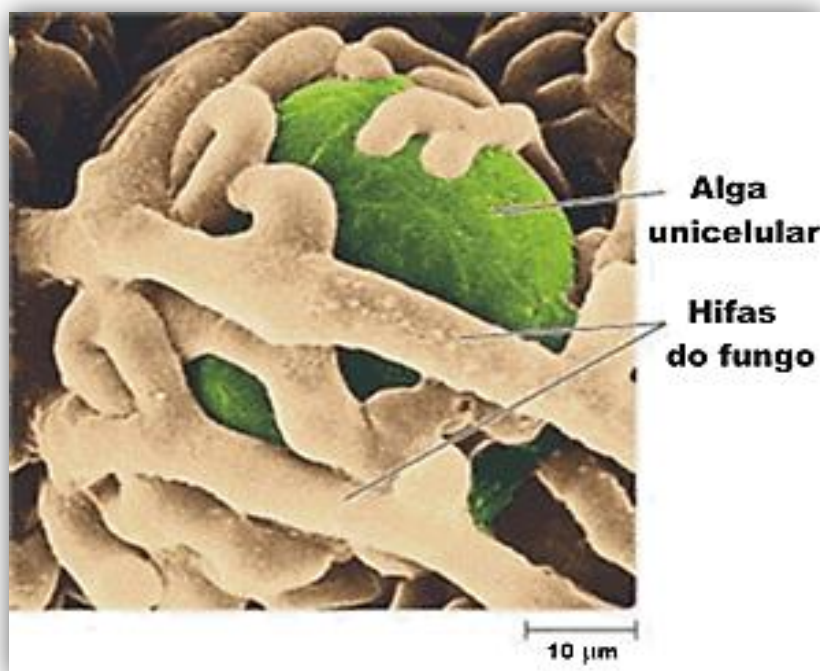


Figura 3 – Líquen constituído por fungo e fotobionte (alga) (SóBiologia, 2008)

Embora as associações entre dois organismos sejam bem conhecidas, é menos conhecido que em alguns líquenes se verifiquem simbioses que envolvem três ou mais organismos (Nash III, 1996). Aproximadamente quarenta tipos de algas e cianobactérias têm sido relatados como fotobiontes em líquenes (Tschermak-Woess, 1988; Büdel, 1992). Três géneros, nomeadamente *Trebouxia*, *Trentepohlia* e *Nostoc* são os fotobiontes mais frequentes (Nash III, 1996). A *Trebouxia* e a *Trentepohlia* têm estrutura eucariótica e pertencem ao grupo das algas verdes, enquanto que o género *Nostoc* pertence ao grupo das bactérias fotossintéticas (cianobactérias) (Nash III, 1996). A grande maioria dos fotobiontes eucariontes pertence às algas verdes (filó Clorofita).

Em geral, os líquenes existem como organismos individuais, mesmo sendo uma simbiose envolvendo dois ou mais organismos. Numa perspectiva genética e evolucionária os líquenes decerto não podem ser vistos de uma maneira individual e este facto tem maiores implicações em muitas áreas de investigação, tal como os estudos de desenvolvimento e de reprodução. Numa perspectiva ecológica, o líquen pode ser até mais complexo, como uma associação entre uma alga verde livre ou uma cianobactéria livre e esporos de fungos não simbióticos. Como consequência, alguns autores encaram os líquenes como mini ecossistemas (Farrar, 1976).

O nome atribuído aos líquenes deriva do fungo parceiro a que está associado. Existe uma relação de benefício entre a alga e o fungo, uma vez que este último recebe alimento, nomeadamente açúcares produzidos pela alga através da fotossíntese, e esta recebe protecção do fungo, o qual constitui a camada exterior e cerca de 90% da biomassa (Tyler, 1989). Esta simbiose liquénica envolve tipicamente a integração fisiológica fechada, em que o micobionte usualmente dominante é, obviamente, o organismo heterotrófico devido à nutrição provida pelo fotobionte, enquanto que o fotobionte é autotrófico.

A protecção dada pelo fungo ao fotobionte é direccionada principalmente para as alterações meteorológicas, permitindo assim que a alga se desenvolva e cresça. A recolha de açúcares anteriormente mencionada é realizada através de hifas designadas por haustorias, as quais entram em contacto com as paredes da alga. Para facilitar esta recolha de nutrientes, o fungo produz uma substância que aumenta a permeabilidade destas paredes celulares de modo a que a alga perca, por difusão, até 80% do açúcar total produzido (Nash III 1996).

No que consta à produção de nutrientes, é possível afirmar que em líquenes com algas verdes, os fotobiontes produzem hidratos de carbono na forma de álcoois açucarados e em líquenes com cianobactérias, estes produzem-nos na forma de glucose (Nash III 1996).

Na generalidade, a bibliografia refere os líquenes como uma clássica situação de mutualismo, onde todas as partes ganham benefícios da associação. Por outro lado, os líquenes são vistos como um exemplo de parasitismo controlado. Tal acontece visto ser considerado que o fungo parece obter mais benefícios e que o fotobionte cresce mais lentamente no líquen do que se estivesse em liberdade (Ahmadjian, 1993).

Os líquenes, morfologicamente, são compostos por diferentes constituintes, sendo, no entanto, o talo liquénico o mais evidente, o qual é resultado da simbiose entre dois ou mais organismos. O talo assim gerado apresenta uma forma diferente da dos talos de cada bionte (alga verde ou cianobactérias) quando se desenvolvem isoladamente. Este componente, juntamente com o sistema reprodutivo, constituem a maior parte do líquen. As hifas fúngicas existentes ramificam-se e posteriormente fundem-se numa malha. A camada superior é usualmente constituída por um conjunto de hifas bem agregadas, designando-se por córtex (figura 4). Na zona inferior ao córtex está afixada a camada da alga onde habitam os fotobiontes sendo esta última seguida, na parte inferior, pela medula. A medula consiste numa área formada por hifas soltas, as quais armazenam os nutrientes. Resumidamente, esta é a estrutura que normalmente os líquenes apresentam. No entanto, em alguns tipos de

líquenes, como os fruticulosos e os foliáceos, é possível observar a existência de um sub-córtex. (Ahmadjian, 1993; Nash, 1996).

Os líquenes não dispõem de raízes ou de cutículas bem desenvolvidas. Como tal, para adquirirem nutrientes, estes dependem da deposição dos mesmos existentes na atmosfera. Este processo é facilitado pela rugosidade e pela estrutura da sua camada superficial, as quais facilitam a intercepção e retenção de partículas.

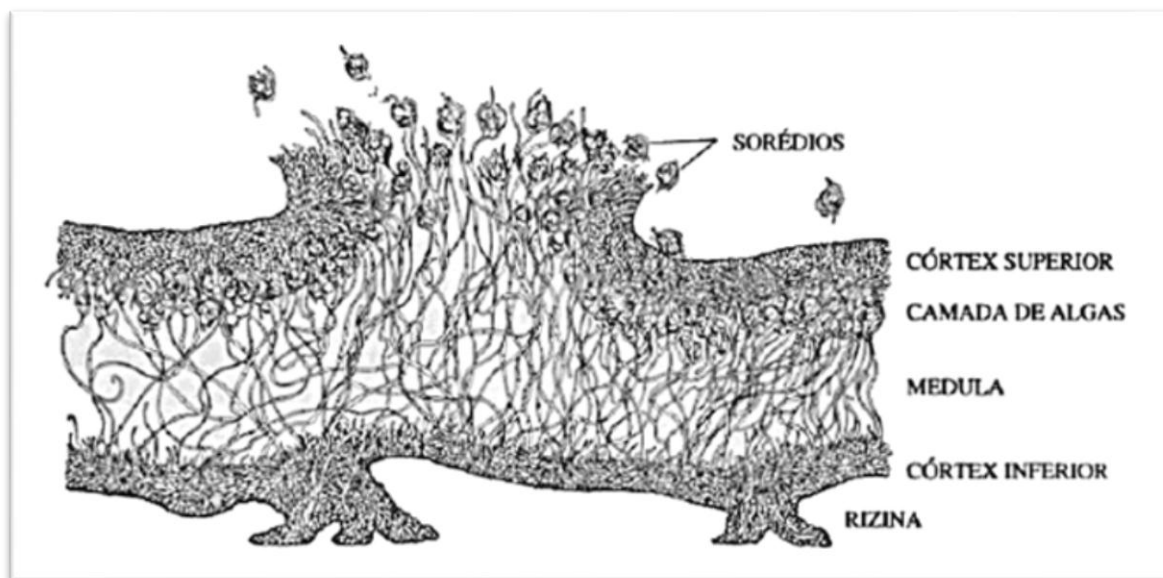


Figura 4 – Corte vertical de um líquen com a demonstração da sua constituição (Biologia, 2011).

De acordo com a forma de crescimento, os líquenes podem ser classificados de diferentes modos (NASH III, 1996):

- Crustáceos: apresentam uma estrutura bastante variada. Formam crostas apresentando um aspecto de mancha sobre o substrato; a estrutura laminar e dorsoventral é desprovida de córtex inferior, aderindo-se fortemente ao substrato por toda a medula. A organização do talo pode ser homeómero ou heterómero. Estão fortemente aderidos ao substrato com a sua pequena superfície e não podem ser removidos sem serem destruídos (figura 5);
- Foliáceos: apresentam aspecto de pequenas folhas irregulares, com uma estrutura laminar dorsoventral e não se prende ao substrato por toda a superfície. O talo foliáceo é homeómero (líquen gelatinoso) ou heterómero. Têm uma organização dorso-ventral com uma superfície superior e inferior bem distinta. O talo é dividido em

lóbulo, que apresentam vários graus de ramificação. Desenvolvem-se num grande número de tamanhos de talos e de diversidade (figura 6).

–Fruticuloso: são líquenes ramificados, cilíndricos ou achatados com uma estrutura laminar que se assemelha a um arbusto. Estes líquenes possuem um talo parecido com um tufo de cabelos e os lóbulos são lisos ou cilíndricos. Estão sempre pendentes na superfície do substrato. Alguns grupos têm um arranjo dorsoventral, mas a maioria possui um talo radial simétrico. As partes ramificadas dos lóbulos variam consideravelmente conforme os diferentes grupos sistemáticos. Os tamanhos têm uma ampla variação, desde os que crescem 2 mm até vários metros de altura (figura 7);



Figura 5- Líquenes do tipo crustáceos (Gaspar, 2011).



Figura 6 – Líquen do tipo foliáceo (Gaspar, 2011).



Figura 7 – Líquen do tipo fruticuloso (Gaspar, 2011).

Verifica-se que os líquenes do tipo crustáceos são os mais abundantes, enquanto que os foliáceos e fruticulosos existem em menor percentagem.

O crescimento dos líquenes é muito lento, quando comparado ao da generalidade das plantas. No entanto, existe uma grande variação na velocidade de crescimento entre

espécies e também entre diferentes idades do organismo, podendo o crescimento radial variar entre 0,2 a 28mm por ano. O crescimento também depende das condições ambientais onde o talo líquénico se desenvolve, e onde a disponibilidade de água e de luz têm um papel essencial (Ahmadjian,1993).

Em condições climáticas secas os líquenes contêm cerca de 15 a 30% de água e, como tal, não apresentam actividade metabólica. Quando são hidratados, o processo de hidratação é muito rápido e a actividade inicia-se de imediato. Para se hidratar, o líquen não precisa de água líquida disponível, apenas necessita de humidade relativa elevada, como por exemplo em condições de nevoeiro ou orvalho. Estas propriedades permitem que estes organismos possam resistir a períodos de seca prolongados, voltando rapidamente à actividade após a re-hidratação do talo (Figueira, 2002).

3.3.1. Reprodução de Líquenes

A maioria dos líquenes tem um ciclo de vida assexuado e um sexuado. Na zona interior do ser, usualmente apenas o micobionte expressa a parte sexuada e até certo ponto a reprodução assexuada (Nash III,1996).

3.3.1.1. Reprodução Assexuada

O processo mais simples de reprodução assexuada consiste na fragmentação do talo, o que é relativamente fácil de acontecer quando este se encontra seco, pois torna-se bastante quebradiço.

No entanto, para a reprodução vegetativa deste tipo de biomonitor existem estruturas específicas desenvolvidas pelo líquen, tais como os serédios, os isídios e os blastídios, designados de propágulos simbióticos, sendo estes explicados de seguida (Figueira, 2002):

- Serédios: são porções da medula contendo células do fotobionte envoltas por hifas do microbionte as quais emergem do talo formando estruturas com aspecto pulverulento, os sorálios. Estes podem distribuir-se por todo o talo, nas zonas onde o córtex superior apresenta fendas, ou em zonas específicas. A distribuição e forma dos sorálios têm variações importantes entre espécies, constituindo um carácter importante para a identificação dos líquenes.
- Isídios: são extensões do talo com alga e fungo, apresentando várias formas simples ou ramificadas (digiforme, foliar e coralóide). Estas estruturas podem ser facilmente

destacadas do talo quando tocadas por animais, outra vegetação, água ou rajada de vento.

- Blatídios: são rebentos que surgem no córtex inferior ou superior, idênticos aos serédios. A sua função e estrutura pode variar durante a ontogénese do líquen.

3.3.1.2. Reprodução Sexuada

A reprodução sexuada é efectuada através da produção de esporos em corpos frutíferos, tal como nos restantes fungos. Os corpos fruticulares mais comuns são os apotécios que se apresentam sob a forma de discos ou taças. Existem também os peritécios, os quais têm forma de pêra e são fechados, tendo apenas uma abertura no topo, por onde se efectua a dispersão (Ahmadjian, 1993; Purvis, 2000).

Apesar de nunca se ter observado nos líquenes, a reprodução sexuada deve ser semelhante à observada noutros fungos, levando à formação dos esporos (ascósporos) que se localizam dentro de células em forma de saco (ascos). O tamanho, a forma, estrutura e cor dos ascósporos varia muito entre espécies, sendo uma importante característica de distinção taxonómica. A dispersão dos esporos acontece após a ruptura da parede dos ascos, existindo assim a necessidade de se encontrar uma alga compatível durante a germinação, de modo a formar um novo líquen. Em algumas espécies encontram-se algas nos corpos fruticulares e ocorre a dispersão simultânea dos esporos e das algas, mas este fenómeno é raro (Ahmadjian, 1993; Figueira, 2002).

3.3.2. Utilização de líquenes em estudos de poluição atmosférica

Os líquenes foram reconhecidos como potenciais indicadores de poluição atmosférica por volta de 1960, em Inglaterra. Como tal, devido à sua sensibilidade a diferentes poluentes gasosos, particularmente o dióxido de enxofre, os líquenes foram utilizados com grande proeminência em estudos de poluição atmosférica a nível mundial. Para além da sua sensibilidade, estes foram utilizados também devido à sua conhecida capacidade de acumulação de oligoelementos e de elementos radioactivos.

Nestes estudos de poluição do ar, as características destes biomonitores estudadas e avaliadas consistem na morfologia, fisiologia e parâmetros da população.

Inicialmente os líquenes tinham sido utilizados apenas numa perspectiva de avaliação qualitativa, com a observação de alterações ocorridas na população e de efeitos morfológicos como indicadores de poluição. Nas últimas décadas, têm sido efectuadas medições dos conteúdos químicos dos líquenes, bem como dos processos fisiológicos mais sensíveis, os quais indicam também a presença de poluentes.

Aquando da presença de um ambiente alterado, e como resposta à presença de poluentes, a reacção do líquen consiste na alteração do seu estado, entrando num estado de *stress*. Verifica-se a ocorrência de degradação de clorofila, alterações nos processos de fotossíntese e respiração, alterações na fixação de nitrogénio, perda da membrada, acumulação de elementos tóxicos, possíveis alterações na sua reflectância, alterações na morfologia, estrutura e reprodução.

3.3.3. Mecanismos de captação de elementos químicos

Os mecanismos de captação de elementos, de acordo com diferentes autores (Pucket, 1988; Tyler, 1989; Brown et al., 1991), são os seguintes:

- 1) Troca extracelular de iões – Estudos sobre a captação de elementos químicos por líquenes enfatiza o facto de esta captação ser um processo de troca de catiões a nível extracelular. Estes locais de trocas extracelulares correspondem ao interior das paredes celulares e à superfície da membrana celular (Brown, 1976; Richardson et al., 1985). Este processo é física e quimicamente regulado, rápido e reversível.
- 2) Captação Intracelular - Este processo requer a passagem dos elementos através da membrana plasmática pelo recurso a um adequado sistema de transporte. Este processo é mais lento que o anteriormente referido e a taxa de absorção permanece aproximadamente linear para um período mais longo do que a apresentada para o processo de captação extracelular.
- 3) Aprisionamento de partículas - contribui significativamente para os níveis dos elementos encontrados nos líquenes (Richardson et al., 1985). As partículas são acumuladas pelo aprisionamento sobre o líquen e dentro deste, sendo que posteriormente poderão ser solubilizadas por produtos secundários do líquen.

3.3.4. Mecanismos de deposição de partículas

A deposição das partículas atmosféricas no ecossistema pode ser efectuada por via de três processos, nomeadamente:

- Deposição húmida – Resulta da incorporação de partículas atmosféricas com consequente precipitação sob a forma de chuva ou neve.
- Deposição seca – Pode ser entendida, de modo, geral como todos os processos que removem partículas em suspensão na atmosfera devido ao impacto com as superfícies. Este processo de deposição, apesar de para as plantas e solos ser um processo bastante mais moroso comparativamente com os restantes, actua quase de modo contínuo e afecta todas as superfícies expostas (Marques, 2008).

- Deposição oculta – Os gases poluentes têm a capacidade de se dissolver nas gotículas de água do nevoeiro e das nuvens. A condensação aquosa pode ocorrer sobre as partículas finas e estas partículas coalescerem ou dissolverem-se no nevoeiro ou nuvens. A estabilidade da atmosfera e a persistência das gotículas possibilitam o desenvolvimento da fase de equilíbrio de gás/líquido, facto este que permite conhecer as massas de ar e concentrações no ambiente. Não obstante, constata-se que estimativas da velocidade de deposição dos poluentes nas gotículas permitem calcular fluxos de deposição. No entanto, torna-se difícil de prever e medir a intercepção de gotículas de nevoeiro ou de nuvens por parte de plantas ou outras superfícies receptoras (Marques, 2008).

Para todos estes tipos de deposição é correcto afirmar que as características da topografia e da vegetação exercem uma grande influência nos mesmos. Perante estes diferentes processos de deposição, verifica-se que o modo de deposição seca, em oposição ao de deposição húmida é o mais sensível às características da vegetação (Marques, 2008).

Deste modo, em locais de chuva e de quedas de neve, estes fenómenos permitem determinar a magnitude da deposição húmida. No que se refere à deposição seca, esta é eliminada durante os períodos subsequentes a ocorrências de precipitações, as quais “limpam” o ar. Quanto ao modo de deposição oculta esta depende da intercepção da paisagem com a base das nuvens. Tal situação pode ocorrer em locais de grande altitude ou em áreas de menores altitudes. Deste modo, a exposição do ecossistema aos factores influentes determina o modo de dispersão e a sua respectiva magnitude (Marques, 2008).

3.4. Análise Elementar

Para a realização deste trabalho, o qual envolve análise elementar através da técnica INAA, foi necessário desenvolver actividades no Reactor Português de Investigação.

3.4.1. Reactor Português de Investigação

O Reactor Português de Investigação (RPI) (figura 8 e 9) localizado no Instituto Superior Técnico/Instituto Tecnológico Nuclear (IST/ ITN) é o único do tipo piscina em toda a Península Ibérica. Reactor do “tipo piscina” significa que o seu núcleo se encontra suspenso por uma ponte móvel numa piscina de água (possibilitando o seu uso e deslocação entre dois compartimentos existentes na mesma), com uma potência máxima (nominal) de 1MW. O papel da água da piscina é o de moderador, o qual consiste na redução da velocidade dos neutrões produzidos nas cisões, actuando como agente refrigerante, reflector de neutrões e protector radiológico (Faustino, 1997).



Figura 8 – Vista superior da piscina do RPI (Galinha, 2011).

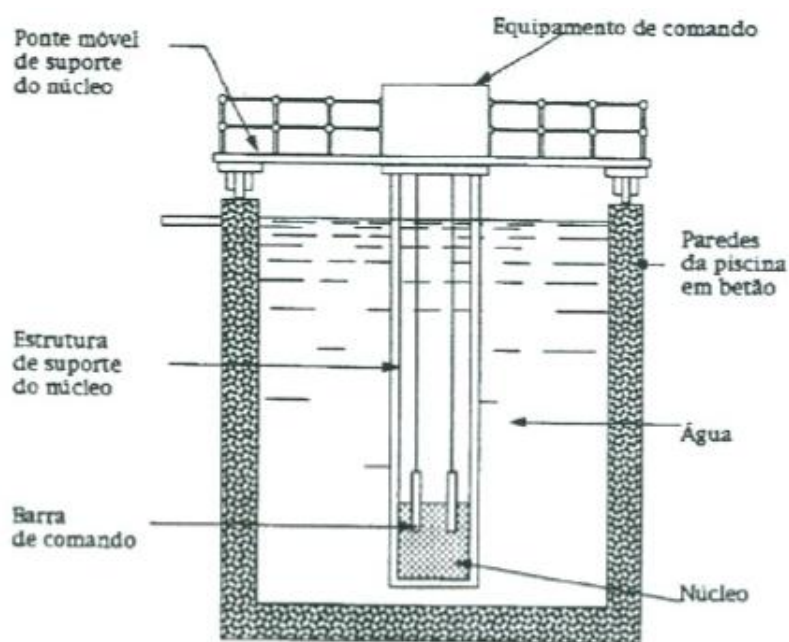


Figura 9 – esquema - Esquema de um reactor tipo piscina (Galinha, 2011).

O combustível utilizado no RPI é o urânio pouco enriquecido (19,8% ^{235}U), colocado no núcleo sob a forma de barras. Este núcleo é constituído por uma grelha de 6 linhas por 9 colunas, com um total de 54 posições (figura 10), sendo que 13 das posições estão ocupadas por elementos de combustível (Faustino, 1997). Na realização deste trabalho, a posição utilizada foi a 56, uma vez que corresponde à de irradiação de material biológico. Todas as operações envolvidas nas irradiações e na utilização do reator são controlados por uma sala de comandos que dispõe de mecanismos de controlo, painéis informativos e os terminais dos dispositivos de protecção radiológica.

69	68	67	66	65	FC	DA	DA	DA	Coluna Térmica
59	58	57	56	55	DA	N7	N3	C5	
49	48	47	46	Be-N	Be-N	N6	C4	N1	
39	38	37	36			C3	N4	C2	
29	28	27	26	Be-S	Be-S	N5	C1	N2	
19	18	17	16			DA	Be	Be	

Figura 10 - Grelha representativa do núcleo do RPI (Galinha, 2011).

3.4.2. Activação Neutrónica

A activação neutrónica é o processo pelo qual a radiação de neutrões induz radioactividade em materiais. Esta ocorre quando núcleos atómicos capturam neutrões livres, tornando-se mais pesados e passando para estados excitados. A instabilidade em determinado radionuclido traduz-se na existência de excesso de neutrões ou de protões e neutrões. Neste tipo de processos, os neutrões são absorvidos pelo núcleo de isótopos naturais do elemento-alvo, tornando-o radioactivo, ou seja, tornando-o instável por conter excesso de partículas (figura 11) (Faustino, 1997).

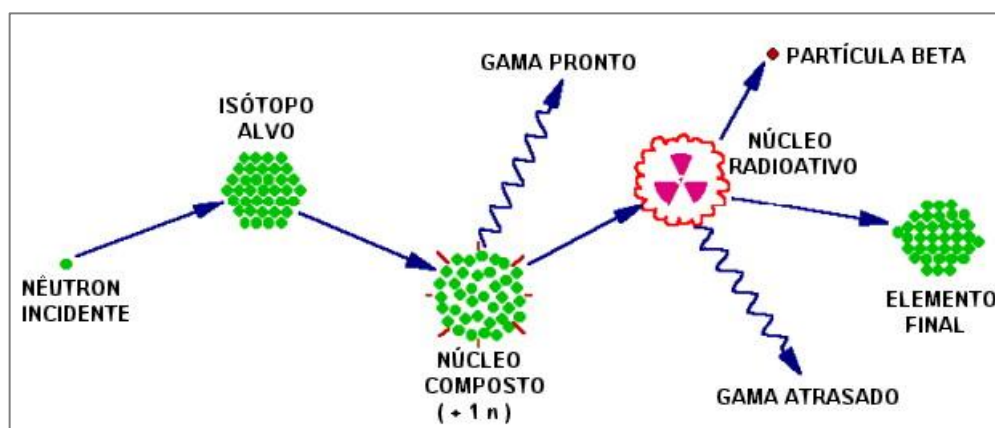


Figura 11 - Processo de captura de neutrões e emissão de radiação gama (Galinha, 2011).

Os radionuclidos instáveis, por sua vez, tendem a transformarem-se noutros radionuclidos com maior estabilidade. Tal acontecimento ocorre através de processos em que a proporção do número de protões e neutrões dos núcleos é alterada, designando-se o mesmo por processo de decaimento ou desintegração radioactiva (Freitas et al., 2007; Marque et al., 2011; Almeida, 2004).

3.4.2.1. Análise por Activação Neutrónica

A análise de activação com neutrões (NAA) foi descoberta em 1936 quando Hevesy e Levi constataram que amostras contendo certos elementos de terras raras ficavam altamente radioactivas quando expostas a uma fonte de neutrões. Dessa observação, eles reconheceram o potencial das reacções nucleares para a determinação de elementos em amostras (Yavar, 2011; Mesquita, 2004, 21 de Dezembro).

Em geral, a irradiação no processo de activação neutrónica recorre ao uso de neutrões térmicos. A radioactividade resultante é medida por espectrometria dos raios gama emitidos por cada radioisótopo. Uma vez que cada isótopo produzido no processo de activação possui características de emissão próprias (tempo de semi-vida ($T_{1/2}$) e energia das partículas ou radiação gama emitidas) é possível efectuar determinações quantitativas da concentração por comparação com padrões (Freitas et al., 2007; Marque et al., 2011; Almeida, 2004).

A NAA é um método de análise qualitativo e quantitativo, não destrutivo que permite, em alguns casos, determinar um número alargado de elementos maioritários e elementos vestigiais, em diferentes tipos de amostras (material biológico, aerossóis, material geológico, entre outros) (Galinha, 2011; Kubešová, 2012).

Este método, que pode ser efectuado com ou sem separação química, consegue determinar em simultâneo 25 a 30 elementos químicos de baixas concentrações, na ordem dos $\mu\text{g.kg}^{-1}$ - g.kg^{-1} (Ribeiro, 2011).

Dependendo do elemento radioactivo, o $T_{1/2}$ pode variar de fracções de segundos até vários anos (Faustino, 1997). Como tal, para uma análise multielementar completa todos os $T_{1/2}$ devem ser tidos em consideração, sendo estes períodos de decaimento de (Mesquita, 2004, 21 de Dezembro):

- Curta duração (2 min-15 horas);
- Intermédia duração (0,5-5 dias);
- Longa duração (maior que 5 dias)

Para muitos elementos e aplicações, a NAA geralmente oferece sensibilidade superior a outros métodos. Esta técnica permite determinar concentrações muito baixas, como na ordem de partes por bilião (ppb). Não obstante, devido à sua precisão e confiabilidade, a NAA é reconhecida como um método de referência aquando do desenvolvimento de novos procedimentos ou quando outros métodos fornecem resultados duvidosos.

Para realizar uma análise por NAA é necessário reunir os seguintes requisitos (Kubešová, 2012):

- Fonte de neutrões (reactor nuclear);
- Equipamento para medir a radioactividade gama (Detector de Ge ultra puro ou Ge-Li, acoplado a um analisador tipo multicanal);
- Conhecimento detalhado das reacções induzidas por neutrões ao interagirem com os núcleos dos átomos da amostra.

Este tipo de análise baseia-se na reacção nuclear entre os neutrões e o núcleo alvo.

3.4.2.1.1. Processo de decaimento ou desintegração radioactiva

Os processos de decaimento radioactivo são estabelecidos por leis, onde intervêm as constantes de desintegração, λ , que são inversamente proporcionais aos tempos de semi-vida ($T_{1/2}$) característicos de cada decaimento. Esta constante de desintegração representa a probabilidade, por unidade de tempo, de um núcleo de um determinado radionuclido se desintegrar. Como tal, constata-se que o $T_{1/2}$ é longo para radionuclidos pouco instáveis (probabilidade de desintegração baixa) e curto para radionuclidos muito instáveis (elevada probabilidade de desintegração) (Faustinho, 1997; Almeida, 2004).

É na diferenciação de cada tempo de semi-vida que se efectua a determinação dos vários elementos químicos, através da selecção adequada do tempo de irradiação da amostra e do tempo decorrido entre o fim da irradiação com neutrões e o início da aquisição do espectro de radiação gama (Almeida, 2004).

As características qualitativas dos radionuclidos são a energia da radiação gama emitida e os seus tempos de semi-vida, e a característica quantitativa corresponde ao pico de absorção total presente num espectro de radiação gama (quantidade de impulsos provenientes da interacção completa da radiação gama com a camada electrónica do elemento constituinte do detector (Almeida, 2004; Galinha, 2011).

Os principais processos de desintegração radioactiva estão apresentados na tabela seguinte (tabela 1) (Faustino, 1997).

Tabela 1 – Principais Processos de desintegração radioactiva.

Causa de Instabilidade	Transformação Nuclear	Tipo de Radiação Emitida
Excesso de prótons e neutrões	Desintegração Alfa (2 prótons e 2 neutrões são ejectados em bloco)	Partículas α
Excesso de neutrões	Desintegração Beta Menos (β^-) (um neutrão converte-se num próton, que fica no núcleo e num electrão, que é ejectado)	Partículas β
Excesso de prótons	Desintegração Beta Mais (β^+) (um próton converte-se num neutrão, que fica no núcleo, e num positrão, que é ejectado)	Partículas β^+ ou positrões
	Captura Electrónica (o núcleo captura um electrão orbital, o qual se combina com um próton, formando-se um neutrão)	Radiação X
Excesso de Energia	Reorganização dos Nucleões (transição para níveis de energia inferior; acompanha todos os processos anteriores)	Radiação γ

3.4.2.1.2. Neutrões e Reacções Nucleares

Os neutrões, por não terem carga eléctrica, interactivam com a matéria de um modo distinto das restantes radiações. A interacção dos neutrões com os electrões deixa de ser significativa quando comparado com a facilidade com que se induzem as reacções nucleares mais diversas: reacções do tipo (n, γ), (n, α), (n,p) de cisão (processo de fissão nuclear, de geração de energia através da desintegração de um átomo de um elemento pesado), entre outras (Galinha, 2011)

Desta interacção dos neutrões é induzida radioactividade no meio material com que estes interactivam, permitindo a formação de radionuclídeos radioactivos, os quais dissipam a sua energia no meio material circundante (Galinha, 2011).

Os neutrões, pela ausência de carga, não podem ser acelerados mas a sua velocidade pode ser moderada (e, consequentemente, a sua energia cinética também)

variando desde 10^{-3} a 10^7 eV. De acordo com este valor energético, os neutrões podem ser classificados da seguinte forma (Faustino, 1997):

- a) **Neutrões Térmicos** – São neutrões de baixa velocidade, pelo que são conhecidos por neutrões lentos. Adoptou-se a convenção de que possuem uma energia inferior a 1eV. Estes neutrões atingem o equilíbrio com o meio através da utilização de um moderador (grafite, água, água pesada) que retarda os neutrões de cisão.
- b) **Neutrões Epitérmicos** – são neutrões que se encontram na designada região de moderação de neutrões, onde a sua energia varia entre 1eV e 0,1eV.
- c) **Neutrões Rápidos** – são neutrões instantâneos produzidos pela cisão de um núcleo pesado. Possuem energias superiores a 0,1MeV.

A cada um destes tipos de neutrões corresponde um espectro de neutrões típico e processos de interacção com a matéria característicos ou predominantes.

3.4.2.2. Espectro de radiação gama

A técnica utilizada no decorrer do estudo, a análise por activação neutrónica (NAA), utiliza a espectrometria gama como ferramenta para a análise simultânea de elementos. Esta radiação gama é emitida pelo decaimento de muitos isótopos radioactivos após irradiação, a qual, com uma energia característica, permite identificar o elemento químico ao qual o isótopo pertence. A medição da radiação gama emitida é, por isso, utilizada para identificar e quantificar o elemento.

Recorrendo ao uso de um detector de germânio hiperpuro obtém-se como resultado um espectro de radiação gama. Assim torna-se possível identificar e quantificar a massa de um elemento presente na amostra, com base nos picos de absorção total presentes no espectro.

3.4.2.3. Técnica Nuclear INAA

A análise instrumental por activação neutrónica (INAA) corresponde a uma versão da NAA sem exigência de separação química para a identificação e quantificação dos elementos presentes numa amostra.

A utilização do INAA apresenta diversas vantagens (Almeida, 2004; Galinha, 2011; Kubešová, 2012), como:

- Multielementariedade (permite a determinação simultânea de uma série de elementos sem que haja necessidade de se recorrer à separação química);
- As amostras não necessitam de qualquer pré-tratamento antes de analisadas;
- Carácter não destrutivo da técnica (evita a ocorrência de perdas do elemento alvo, bem como de possíveis contaminações da amostra);
- Alta sensibilidade, precisão e exactidão.

Apesar de todos os factores favoráveis apresentados anteriormente, esta técnica também apresenta algumas desvantagens, nomeadamente:

- Necessidade de elevado grau de especialização dos utilizadores;
- Dependência de grandes instalações de irradiação neutrónica;
- O tempo necessário para análise, em alguns casos, pode representar uma desvantagem quando comparado com outros métodos (quando são utilizados isótopos com tempo de semi-vida longo – dias, meses ou anos – apenas são visíveis após o decaimento total, ou quase total, dos isótopos de semi-vida média – horas ou poucos dias).

3.4.2.3.1. Método k_0

O método utilizado para a quantificação dos elementos designa-se por método do factor k_0 (De Corte, 1987). Foi na época de 1975 que F. De Corte e A. Simonits iniciaram o desenvolvimento deste método semi-absoluto. Contrariamente ao método relativo, este método não necessita de padrões e os dados nucleares, normalmente associados a incertezas elevadas. Eles são substituídos por constantes nucleares compostas – factores k_0 – que foram experimentalmente determinadas com uma elevada exactidão. Perante isto, o único dado nuclear necessário é o $T_{1/2}$ proveniente da literatura (Almeida, 2004).

Este método recorre apenas ao uso de um elemento – o comparador – o qual é irradiado em simultâneo com a amostra. É devido à existência deste comparador que, posteriormente, se consegue determinar a concentração de um dado elemento na amostra. Neste trabalho o comparador usado foi o ouro (Au), isto porque os seus parâmetros nucleares são conhecidos e porque o seu $T_{1/2}$ e o facto de só apresentar uma única risca gama são aspectos favoráveis que o tornam um isótopo de referência (Almeida, 2004).

Os valores dos factores k_0 anteriormente mencionados foram determinados em relação ao comparador (ouro) para cada elemento X por dois institutos diferentes: Instituto de Ciências Nucleares, da Bélgica e Instituto Central de Investigação Física, da Hungria. Para determinar estes valores, as irradiações do elemento X foram efectuadas em

simultâneo com o ouro, conhecendo previamente as concentrações dos dois. Posteriormente, só foram recomendados valores de factores $k_{0,Au}(X)$ caso os valores experimentais coincidissem a mais de 99%. A partir do momento em que são aprovados e conhecidos estes valores, é possível determinar as concentrações dos elementos nas amostras analisadas (Almeida, 2004).

Embora este método tenha a vantagem de não necessitar de padrões multi-elementares, neste estudo foram usados dois padrões conhecidos, o *NIST-SRM-1572 Citrus Leaves* (National Bureau of Standards, 1982) e o líquen *IAEA-RM-336*, apenas para o controlo da qualidade.

3.5. Distribuição Geoespacial

Um dos objectivos deste trabalho consiste na determinação da distribuição das concentrações dos elementos químicos em estudo pela área definida. Para tal foi utilizado um Sistema de Informação Geográfica, o ArcGIS 10, mais especificamente o ArcMap e o ArcScene.

3.5.1. Sistema de Informação Geográfica

Os Sistemas de Informação Geográfica (SIG) incluem *hardware*, *software*, dados e capital humano. Estes sistemas têm como vantagem permitir observar, compreender, inquirir, interpretar e visualizar dados de diversas formas simultaneamente. Através da visualização dos resultados com este tipo de sistemas é possível verificar relações, padrões e tendências espaciais dos dados em causa.

Existem diversos modelos de dados aplicáveis aos SIG, podendo estes últimos funcionar como bases de dados com informação geográfica (dados alfanuméricos) a qual se encontra associada por um identificador comum aos objectos gráficos de um mapa digital. O SIG separa a informação em diferentes camadas temáticas e armazena-as independentemente permitindo trabalhar com elas de modo rápido e simples. Tal facto contribui para que o utilizador consiga relacionar a informação existente através da posição e topologia com o intuito de criar nova informação.

Os modelos mais usuais são os modelos vectorial e *raster*. Estes são dois modos de representação de dados geográficos em formato digital (ESRI, 2010).

Numa representação *raster*, o espaço geográfico é dividido numa matriz rectangular de células, que são geralmente quadrados (figura 12). Toda a variação geográfica é

expressa pela atribuição de propriedades ou atributos a essas células, as quais podem ser designadas de *pixels* (abreviatura de *picture elements*).

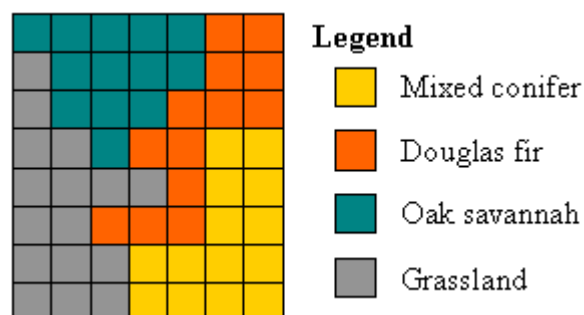


Figura 12 - Representação *raster* da cobertura da Terra (Esri, 2010)

No método vectorial, no qual existe uma representação vectorial, verifica-se que todas as linhas são capturadas, como pontos conectados por linhas rectas. De acordo com este método, uma área é capturada como uma série de pontos ou vértices ligados por linhas rectas (figura 13). Em alguns *softwares* SIG é possível que pontos sejam ligados por linhas curvas ao invés de linhas rectas.

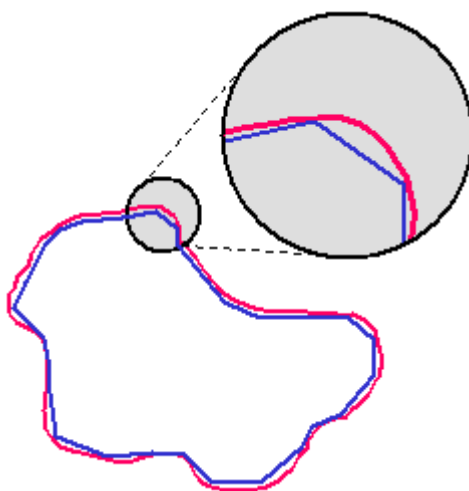


Figura 13- Uma área (linha vermelha) e a sua aproximação por um polígono (linha azul) (Esri, 2010).

Em suma, um SIG pode contribuir para a resposta a diversas questões e/ou problemas, exprimindo resultados de fácil análise e gestão e pode ser representado pelas suas cinco componentes essenciais: a entrada e integração dos dados; a interface com o utilizador; as funções de processamento gráfico e de imagem; a visualização e impressão; o armazenamento e recuperação de dados (organização sob a forma de uma base de dados geográficos) (Childs, 2004).

3.5.2. O ArcGIS

O ArcGIS consiste numa colecção de produtos de *software* criado pelo Instituto de Investigação de Sistemas Ambientais (Esri) - a líder na área dos *software* SIG - o que inclui *desktop*, *server*, *mobile*, *hostes* e produtores SIG online (ESRI, 2011, 6 de Janeiro).

Para a realização deste trabalho foram utilizados o ArcMap e o ArcScene. É através do ArcMap que se consegue criar mapas e aceder a maioria das funcionalidades do ArcGIS. É possível adicionar e editar os dados, simbolizar camadas de mapas e criar apresentações de mapas para impressão. Para trabalhar adequadamente no ArcMap é necessário recorrer ao ArcCatalog, o qual, apesar de também poder ser usado de forma independente do ArcMap, pode ser usado de forma mais fácil através do ArcMap pela “Catalog Window”. O ArcCatalog consiste num sistema de organização de ficheiros de mapas.

3.5.2.1. Método de Interpolação (IDW)

Com a utilização de *softwares* de SIG cada vez mais sofisticados, é possível utilizar técnicas de mapeamento melhoradas, as quais nos conduzem a uma avaliação mais precisa da qualidade dos atributos mapeados. Para tal recorre-se a métodos de interpolação, nos quais os valores dos infinitos números de pontos, em toda a superfície de estudo, são derivados de um conjunto limitado de amostras de valores, sendo estes últimos baseados em medições directas.

Neste trabalho optou-se por utilizar o método de interpolação IDW (*Inverse Distance Weighting*). Este método de interpolação é uma ferramenta de análise espacial que assume que cada amostra de ponto tem uma influência local que diminui com a distância, considerando que os pontos mais próximos, para o processamento da célula, influem mais fortemente que aqueles mais afastados. O uso do interpolador IDW é recomendado quando a variável a ser mapeada diminui com a distância na localização amostrada (Childs, 2004).

4.Procedimentos e Metodologia

4.1. Caracterização do Local de Amostragem

O local de amostragem abordado neste estudo está situado na costa norte de Espanha. A área de estudo definida consiste num rectângulo de 18 km por 20 km (NW ângulo 43°34'53"N, 5°51'07"W; SE ângulo 43°25'24"N, 5°36'04"W), apresentando nesta área abrangida uma siderurgia (figuras 14 e 15). Neste local existem, para além da siderurgia, uma cimenteira, uma central termoelétrica e um porto, os quais representam as principais fontes de poluição antropogénica. Apesar de conter uma zona industrial, esta zona apresenta na sua envolvente a área urbana de Gijón, que alberga 275.699 habitantes.



Figura 14 - Local de estudo, Gijón, Astúrias, Espanha (fonte própria).

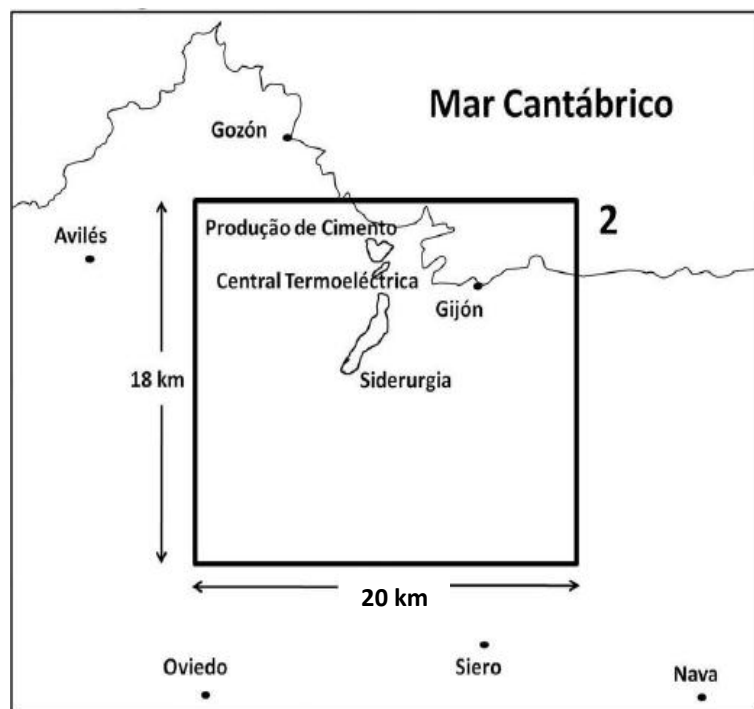


Figura 15- Local de estudo e as respectivas indústrias (adaptado Ribeiro, 2011).

4.1.1. Enquadramento Histórico e Cultural

A cidade de Gijón tem na sua história um marco de domínio romano, consistindo numa das principais povoações fortificadas do norte de Espanha (anterior ao ano 490 a.C.). Durante a Idade Média, manteve-se uma ocupação do território pelas igrejas românicas nos séculos XII e XIII, o que potenciou uma gradual expansão urbana que se viu travada a finais do século XIV, quando Gijón se tornou palco de conflitos civis e políticos o que conduziu à destruição quase total da cidade (Gijón Turismo, 2010a).

A partir da metade do século XIX, com o desenvolvimento industrial, a cidade de Gijón tornou-se no centro industrial das Astúrias. Esta era detentora do potente Porto de *El Musel*, os estaleiros e as abundantes instalações fabris (Gijón Turismo, 2010a).

Desde então assistiu-se a um crescimento gradual da cidade, resultado da modernização da povoação e dos excelentes recursos naturais disponíveis. Ao ser um potente sector de serviços e ao ter uma boa oferta cultural e desportiva, esta cidade começou a atrair um crescente número de visitantes (Gijón Turismo, 2010a).

Actualmente o centro urbano ocupa uma superfície aproximada de 13,9 km², o que representa 7,6% da superfície do Concelho. 90% da população localiza-se no centro, o que na sua totalidade representa aproximadamente 280.000 habitantes, e 10 % da restante população distribui-se pelas 25 freguesias do Concelho. Estas freguesias direccionam-se

para diferentes actividades, sendo que algumas são mais caracterizadas por ser (Gijón Turismo, 2010a):

- Zona com grandes instalações industriais;
- Zona residencial e prestadora de serviços e de espaços de lazer;
- Zona agrícola.

4.1.2. Caracterização Geográfica e Climatológica

Em termos geográficos, Gijón está situado no centro da costa asturiana rodeado pelos concelhos Carreño, Llanera, Siero, Sariego e Villaviciosa (Figura 16), entre os 43°2'30" e 43°34'18" de latitude Norte e os 1°52'29 " e 2°8'0" de longitude Oeste do meridiano de Madrid (Gijón Turismo, 2010b).



Figura 16- Localização geográfica de Gijón (Gijón Turismo, 2010b).

Em termos de caracterização climatológica, o clima é considerado temperado, uma vez que sofre variações, influenciado pela sua localização na zona costeira e pelas características do relevo. A temperatura média anual é de 15°C, ocorrendo suaves variações entre as médias anuais máximas e mínimas (Gijón Turismo, 2010c).

Relativamente à pluviosidade, esta apresenta valores no intervalo dos 800 - 1.000 mm/ano, com uma distribuição bastante regular, o que se reflecte na ausência de períodos muito secos e a inexistência de fortes concentrações de precipitações em determinadas épocas do ano. Contrariamente, na zona Sul-Oriental do concelho, em que as quotas de

altitude são mais elevadas, as temperaturas são mais baixas e as precipitações mais elevadas.

4.1.3. Ocupação da zona de estudo

Para a zona em estudo é possível conhecer que tipo de ocupação do solo é efectuada. Deste modo, a figura que segue é representativa do mesmo.

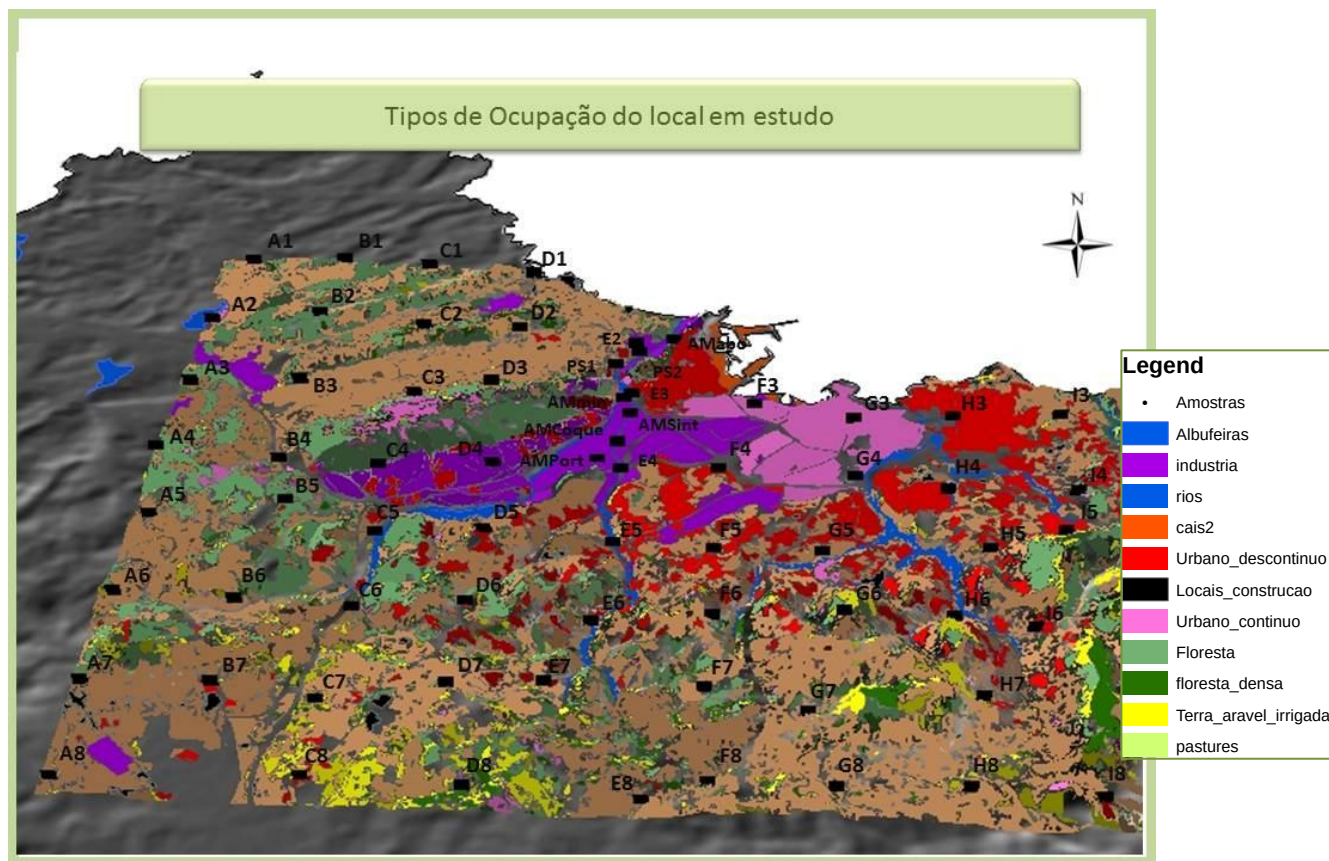


Figura 17 - Ocupação de solo na área de estudo (fonte própria).

Através da imagem anterior é notável a vasta área industrial, a qual se direcciona como principal preocupação em termos de poluição atmosférica. Para além de uma grande zona industrial, também se destaca a zona urbana intensa, com uma forte componente turística devido à sua localização junto da linha de costa com o mar Cantábrico.

Na restante área destaca-se a paisagem vegetal, que se caracteriza por um predomínio absoluto das pradarias, sobretudo na parte central do concelho. Nas maiores elevações do terreno, dominam as manchas florestais. A área interior apresenta uma disposição em forma de “anfiteatro” cujos limites exteriores alcançam altitudes entre os 200 metros (*Monte Areo*) e os 500-600 metros (*Pico San Martín* e *Peña de los Cuatro Jueces*).

Ao longo desta área verifica-se a existência de uma rede hidrográfica relativamente densa mas de correntes curtas, articulando-se basicamente em duas bacias: a do *Piles-Peña Francia* e a do *Aboño-Pinzales*.

Junto dos pontos B6 e C6 é conhecida a existência de um aterro sanitário.

4.2. Recolha e Transporte de Amostras

Para a aplicação de métodos de biomonitorização, é possível que, numa respectiva área de estudo e respectivo local de amostragem, já se verifique a existência natural *in situ* de líquenes. No entanto, uma vez que nem todos os locais os disponibilizam devido às actividades antropogénicas desenvolvidas, e ao elevado nível de poluição que não permite a existência dos mesmos líquenes “saudáveis”, estes têm de ser transplantados para esses mesmos locais.

Este processo de transplantação envolve o transporte dos líquenes do local de onde estes se desenvolveram naturalmente para o local de amostragem. No presente estudo de caso, não era visível a presença destes biomonitores na zona de amostragem devido à extrema actividade industrial e poluição do ar. Como tal, foi necessário efectuar um processo de transplantação no qual os líquenes foram recolhidos na zona de Montargil, em Portugal (figura 18) e transplantados para a zona de estudo. Este local de recolha foi o seleccionado uma vez que era aquele que reunia as melhores características em termos de condições para o desenvolvimento deste tipo de biomonitor, consistindo numa área rural portuguesa considerada “limpa” de poluição atmosférica (Freitas et al., 2000).



Figura 18- Mapa de Portugal com a localização de Montargil (Google Earth, 2010)

4.3. Transplante e Amostragem de Líquenes

No processo de transplantação dos líquenes epífitas - *Parmelia sulcata* - foram recolhidas amostras desta espécie em Oliveiras a cerca de 1,5m acima do solo, em Montargil, (39°03'24"N e 8°10'36"O) em Abril de 2010.

Antes da exposição, foram separados de modo aleatório 10 líquenes que funcionaram como referência. Aparte destes, foram transplantadas 61 amostras, cada uma com uma massa média de 3,3g de líquenes (ainda ligados aos respectivos substratos de casca de oliveira), suspensos por um fio de *nylon* a cerca de 1,5m acima do solo, numa grelha de dimensões de 2,5km x 2,5km, dentro de um rectângulo de 18km de largura e 20km de comprimento (A1 a I8, Figura 19). Para além dos anteriores, junto da zona próxima das quatro fontes principais da área de estudo foi colocada uma maior densidade de líquenes expostos, traduzindo-se em 7 amostras (1 a 7, Figura 19).

A figura 19 representa a disposição das amostras no terreno em estudo.

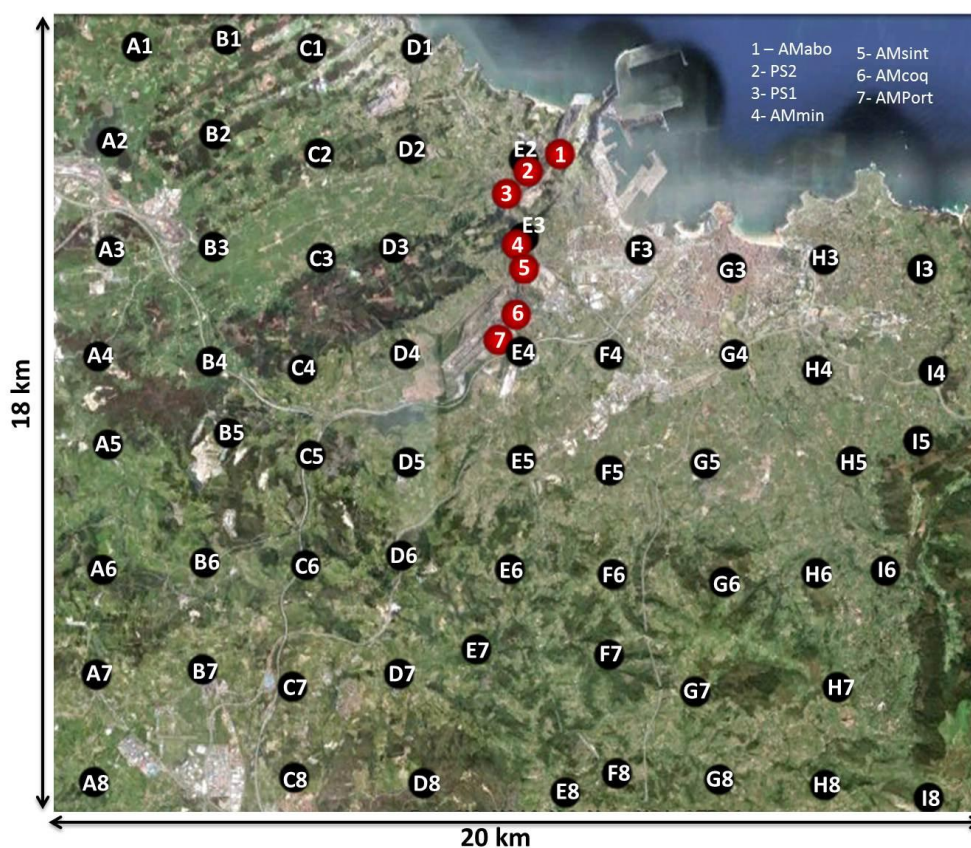


Figura 19- Distribuição dos pontos de amostragem (Almeida, 2012).

O período de exposição destas amostras foi de 5 meses, no período decorrente de 27 de Abril de 2010 a 14 de Setembro do mesmo ano.

4.4. Preparação e Irradiação de amostras

A grelha em estudo é constituída por 68 pontos de amostragem cuja localização geográfica é representada na figura 19 do presente documento. Para cada ponto da grelha foram transplantadas três réplicas, constituindo um total de 204 amostras para irradiar.

Após o período de exposição as amostras foram recolhidas de acordo com determinados procedimentos específicos internos da instituição (Anexos I, II, III e IV) de tratamento de amostras biológicas. Assim, em trabalho de campo, procedeu-se à colheita dos líquenes expostos, efectuando um registo fotográfico dos diferentes locais e a identificação das amostras em caderno de registo adequado. Já em laboratório as amostras foram sujeitas a um processo de limpeza, lavagem e secagem, bem como uma posterior liofilização e moagem para homogeneização do material.

Depois de moídos (já na forma de pó) os líquenes foram preparados para seguirem para irradiação. Cada amostra foi colocada dentro de um contentor ultra-puro de polietileno (C1). O contentor foi pesado vazio e cheio, sendo calculado o valor da diferença, o qual corresponde à massa de amostra a ser irradiada, sendo aproximadamente de 100 a 150 mg. Cada dois contentores C1 foram colocados num outro contentor maior tipo A. Foi formada uma coluna com três contentores tipo A empilhados contendo em cada uma das extremidade um ouro que funciona como comparador na técnica INAA.

Em cada irradiação quatro colunas foram colocadas lado a lado. Dois dos contentores C1 transportaram materiais de referência *IAEA-336 lichen* e *Citrus Leaves 1572* por forma a controlar a qualidade do procedimento.

A figura seguinte (figura 20) ilustra o esquema efectuado para a preparação de amostras para irradiação e as figuras 21 e 22 correspondem a imagens reais da preparação das amostras e do seu embalamento.



Figura 20- Representação esquemática da preparação de amostras para irradiação (fonte própria).



Figura 21- Amostras preparadas nos respectivos contentores (fonte própria).

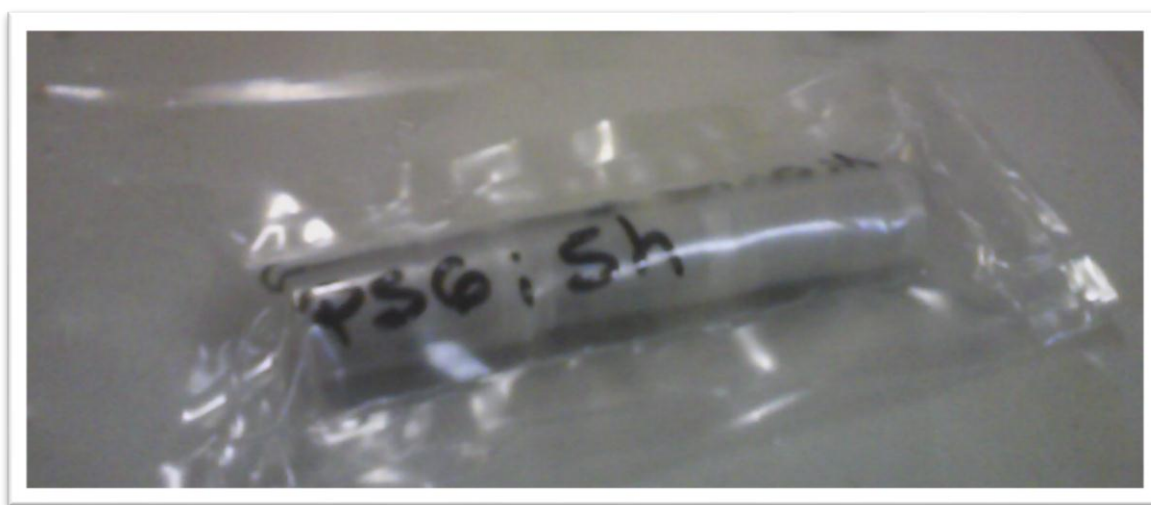


Figura 22 - Amostras embaladas preparadas para irradiar (fonte própria).

Nesta preparação é importante que durante todo o processo o manipulador mantenha as luvas colocadas de modo a efectuar o menor contacto e respectiva contaminação da amostra. Outro aspecto importante a ser mencionado consiste na identificação das amostras. Uma vez que os tubos tipo C1, onde está contida a amostra moída, não podem ser identificados, de modo a evitar qualquer contaminação da mesma, apenas no tubo tipo A é que esta identificação é efectuada. Como tal, é importante existir sempre um registo da disposição esquemática da colocação das amostras de modo a não alterar os dados obtidos pela troca das mesmas.

No final de todo o processo, quando as amostras já estão preparadas e devidamente colocadas nas suas embalagens, constituindo quatro colunas distintas, estas estão prontas a irradiar. As amostras foram irradiadas na posição 56 do reactor, durante 5h. Esta posição tem as seguintes características: fluxo de neutrões epitérmicos: $2,2E+16m^{-2} s^{-1}$; f:180; α : -0,036 e temperatura: 312k.

4.5. Pós-irradiação e Medição

Dois dias após a irradiação as amostras foram desmontadas. Este processo consistiu em retirar as amostras da embalagem e dos respectivos contentores tipo A para serem colocadas individualmente em contentores tipo A não irradiados devidamente identificados com o nome das mesmas.

O procedimento a seguir consiste em:

1. Após irradiação deixar as amostras a decair durante dois dias;
2. Desmontar as amostras na sala da química quente com a devida protecção;
3. Colocar as amostras irradiadas em bases e recipientes de polipropileno e fechá-los adequadamente;
4. Colocar os recipientes no trocador automático de amostras (figura 23) associado a um detector de germânio;
5. Obtenção de espectros de radiação gama;

Todas as amostras foram medidas num detector de germânio coaxial com resolução 1,8keV para 1,33MeV e com uma eficiência relativa 30%. O tempo morto foi mantido abaixo de 15%.

Após o ponto 5, está concluída a primeira medição onde foram determinados os elementos As, Br, La, Sm. Quatro semanas depois da primeira medição efectuou-se uma segunda medição onde foram determinados os elementos Fe, Sb, Sc, Sm e Zn.

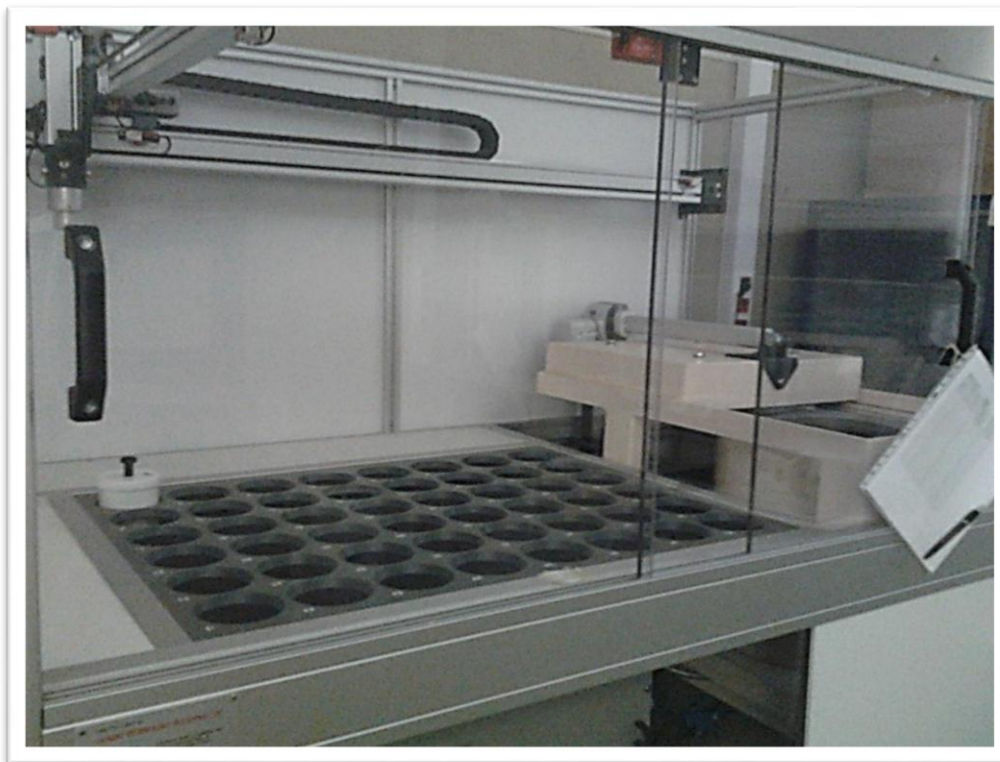


Figura 23 – Detecor de radiação gamma de HPGe para medição de amostras (fonte própria).

4.6. Sistema Pneumático Rápido

Anteriormente à data de realização deste trabalho foi efectuado uma outra dissertação de mestrado titulada por “Mapeamento de elementos químicos em zona industrial através da utilização de biomonitores” (Ribeiro, 2011). Neste trabalho, para as mesmas amostras, foram estudados elementos que possuem radionuclídeos com tempo de semi-vida curto. Neste caso recorreu-se a um sistema pneumático rápido onde o tempo entre a irradiação e a medição é muito reduzido (5 minutos e 1 hora).

Os elementos determinados nesta tese foram Al, Cl, Cu, I, Mn, Na e V.

No presente trabalho estes elementos serão também utilizados por forma a facilitar a interpretação dos resultados e identificação de fontes.

5. Apresentação de Resultados

Os resultados deste trabalho são referentes ao controlo de qualidade através do uso de materiais de referência *IAEA-RM-336 Lichen* e *NIST-SRM-1572 Citrus Leaves*; à determinação de elementos químicos determinados por análise elementar; à distribuição geoespacial desses mesmos elementos pela zona em estudo e à determinação de possíveis fontes dos elementos.

5.1. Controlo da qualidade

Um dos objectivos deste trabalho está relacionado com o controlo da qualidade da técnica utilizada. Apesar de o método aplicado não necessitar da utilização de amostras de padrões multielementares, neste estudo, para controlar a qualidade dos resultados, foram utilizados dois materiais de referência, o *IAEA-RM-336 Lichen* (International Atomic Energy Agency. 1999) e o *NIST-SRM-1572 Citrus Leaves* (National Bureau of Standards, 1982), cujos resultados foram comparados com os respectivos valores certificados ou indicativos.

Uma vez que foram efectuadas 10 irradiações, foram usadas 10 amostras de *IAEA-RM-336 Lichen* e 10 amostras de *NIST-SRM-1572 Citrus Leaves*.

Os resultados obtidos referentes a estes padrões são apresentados pelos gráficos da figura seguinte:

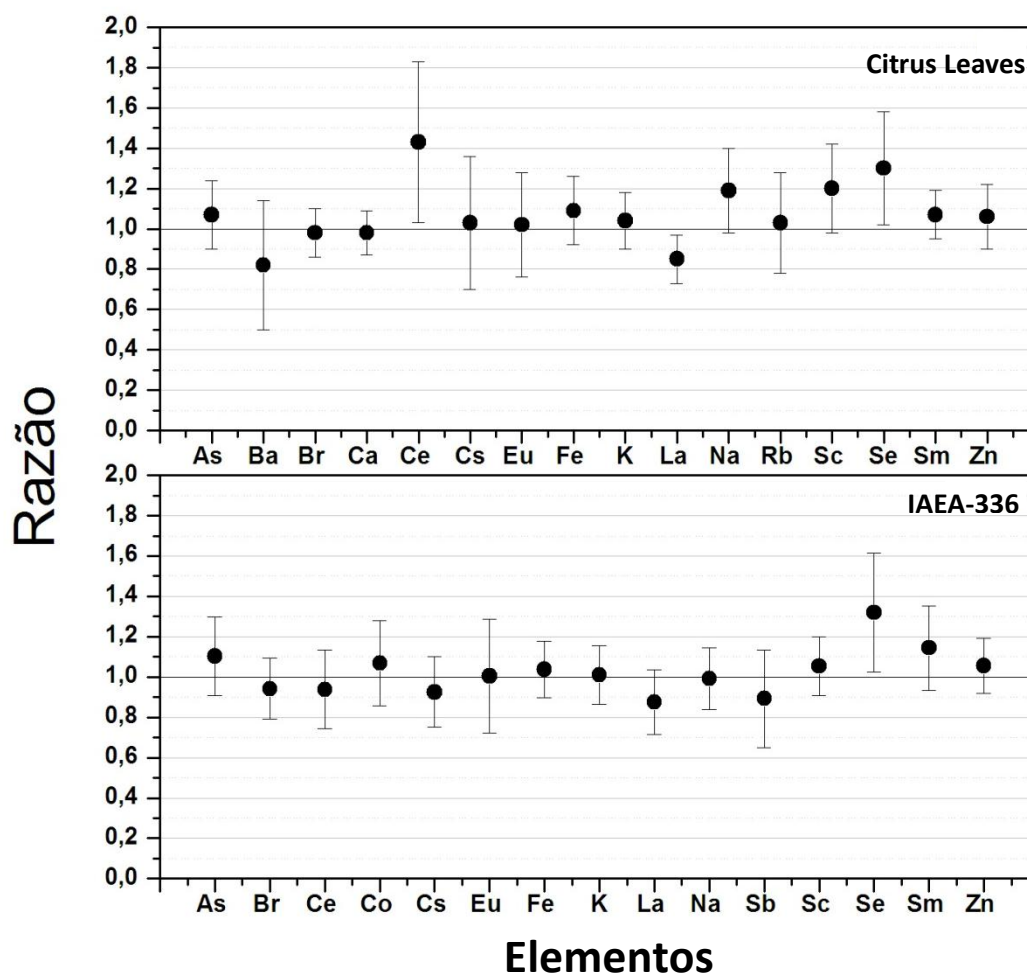


Figura 24- Valores obtidos do padrão *Citrus Leaves* e *IAEA-336* dos elementos químico em estudo.

Para a determinação das concentrações dos elementos químicos nas amostras dos padrões foi utilizado o *software* k_0 , tal como para as amostras de líquenes. Perante a determinação das concentrações dos materiais de referência, foi efectuado o cálculo da razão entre o valor medido e o valor certificado ou indicativo.

Ao observar-se o gráfico referente aos padrões, constata-se que, com excepção dos elementos Ce e Se para o padrão *NIST-SRM-1572 Citrus Leaves* e do elemento Se para o *IAEA-RM-336 Lichen*, todos os elementos apresentam uma concordância com os valores certificados ou indicativos.

Em geral, os resultados transmitiram confiabilidade relativamente aos dados a obter para as amostras de líquenes, através da técnica INAA.

5.2. Determinação de elementos químicos através da técnica INAA

Após sucessivas irradiações foi possível determinar a concentração dos elementos químicos que existiam nas amostras de líquenes estudados pelo método k_0 -INAA. Assim foram determinados os elementos As, Br, Fe, La, Sb, Sc e Sm. Foram estudados estes elementos, visto que, comparando com o trabalho realizado no estudo mencionado anteriormente, estes radionuclídeos têm um tempo de semi-vida superior (horas ou dias). No entanto, uma vez que existe informação disponível dos elementos de tempo de semi-vida curto, foi considerado interessante inseri-los neste estudo, abrangendo assim um leque superior de elementos detectados na zona em causa. Deste modo, os elementos envolvidos na totalidade são: Al, As, Br, Cl, Cu, Fe, I, La, Na, Sb, Sc, Sm, V e Zn.

5.3. Mapeamento e determinação de fontes de emissão

Depois de analisar os elementos alvo de estudo, é importante processar os dados dos mesmos. Neste processamento foram contemplados os objectivos: a) comparar as concentrações dos elementos pelos diferentes pontos de amostragem com o respectivo valor de referência obtidos para os líquenes não expostos; b) verificar associações entre elementos e possíveis fontes de origem.

Para melhor compreender a distribuição de cada elemento pela malha de rede em estudo, foi analisada a sua distribuição geoespacial. Obtiveram-se diversos mapas que associam a interpolação das concentrações dos diferentes com as características locais (relevo, estradas, rios, mar e solo).

Uma vez que cada fonte emissora emite um determinado número e tipo de elementos e com uma razão muito específica entre eles, pode dizer-se que cada fonte tem uma assinatura específica que lhe confere uma espécie de impressão digital. Por isso, a distribuição geográfica dos elementos está relacionada com as suas fontes e condições de dispersão.

Assim, após uma visualização geral de todos os mapas obtidos para os diversos elementos e atendendo à distribuição das suas concentrações é possível atribuir-lhes fontes de origem. Uma vez que elementos apresentam características semelhantes e que os seus mapas de distribuição geoespacial apresentam semelhanças, estes podem ser agrupados por diferentes tipos de fontes.

Como tal, foi possível definir três diferentes grupos para três tipos de fontes distintas, nomeadamente:

- a) Origem natural, provenientes do mar: Br, Cl, I e Na (figuras 25, 26, 27 e 28):

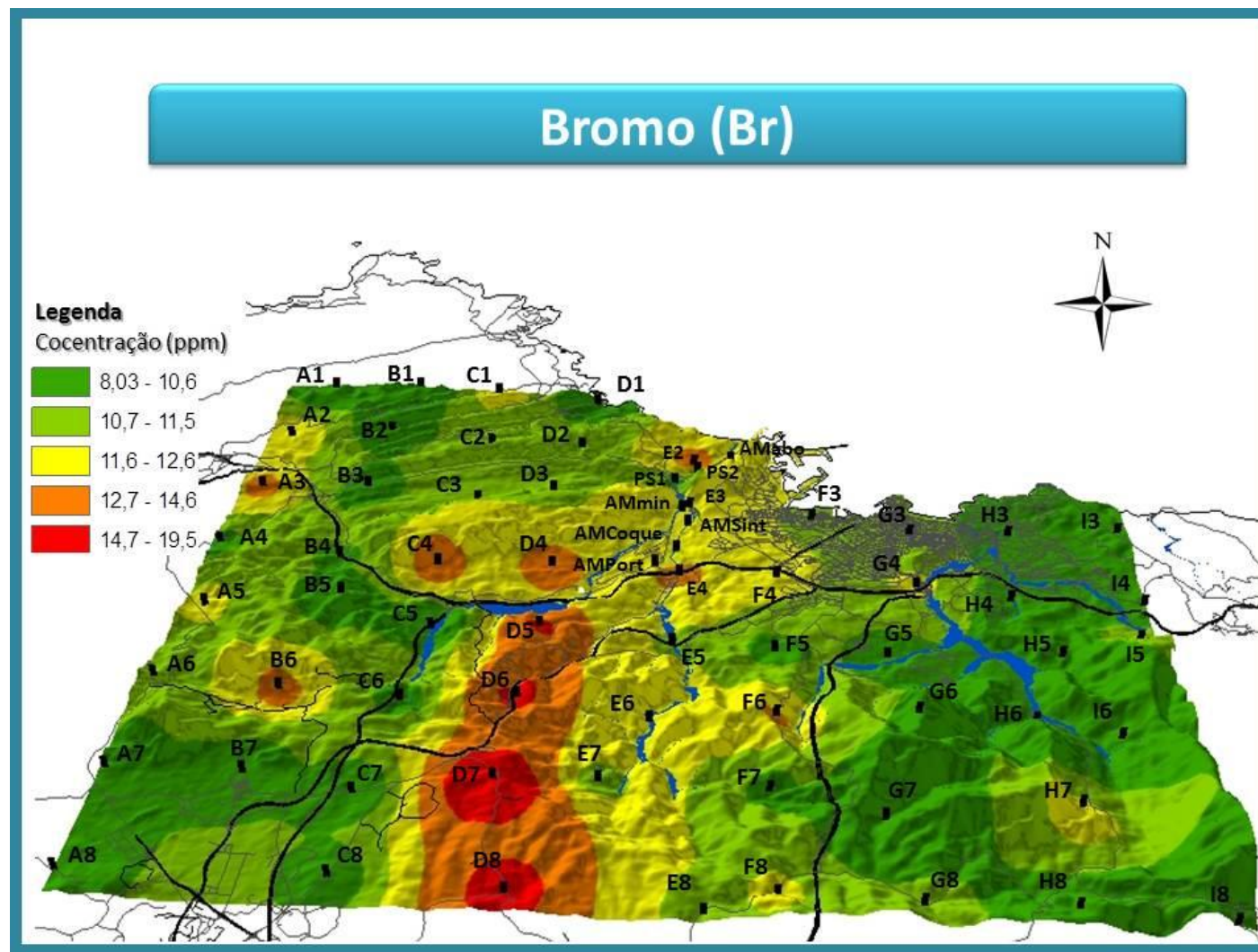


Figura 25 – Distribuição geoespacial da concentração do elemento bromo, de origem no mar.

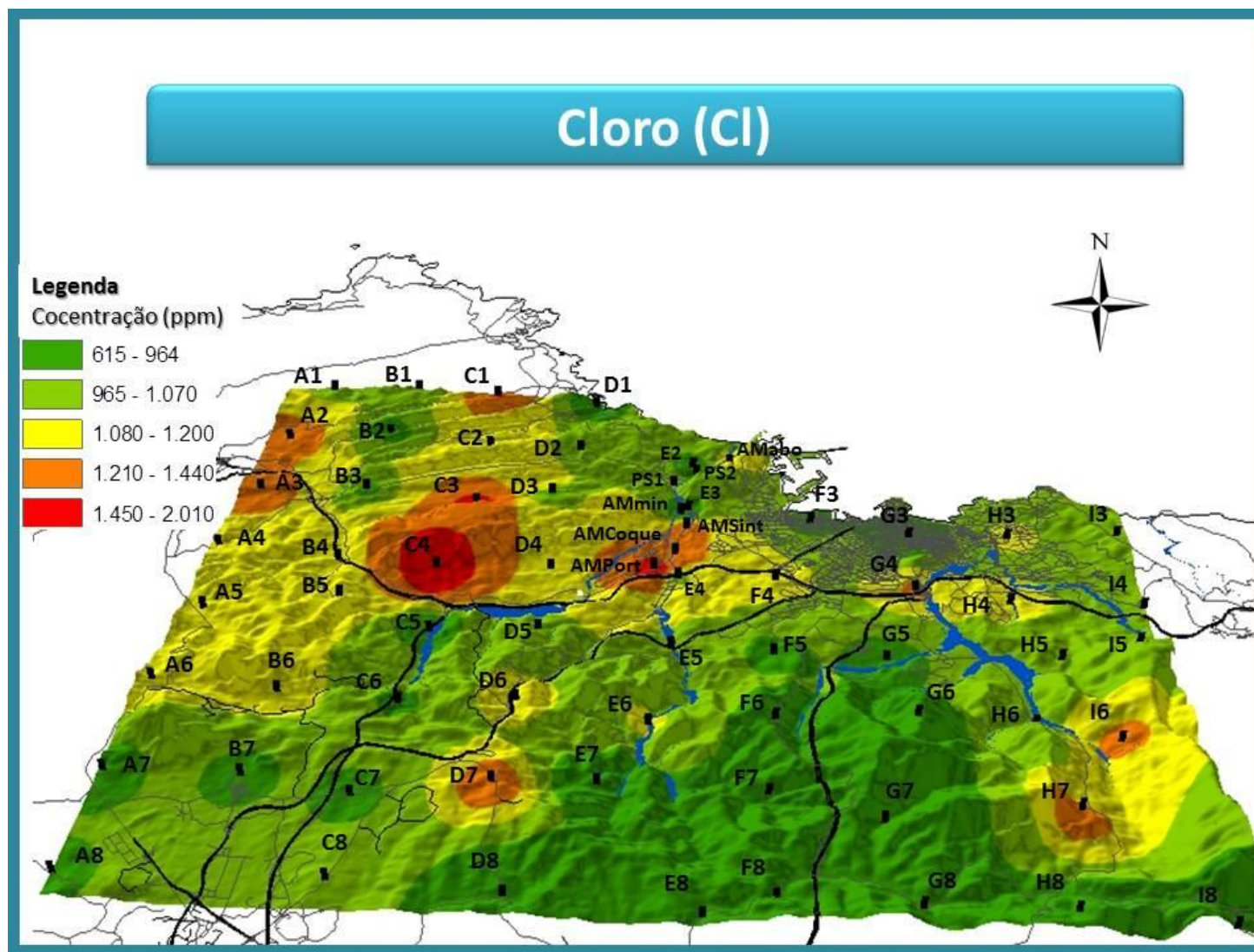


Figura 26 – Distribuição geoespacial da concentração do elemento cloro, de origem no mar.

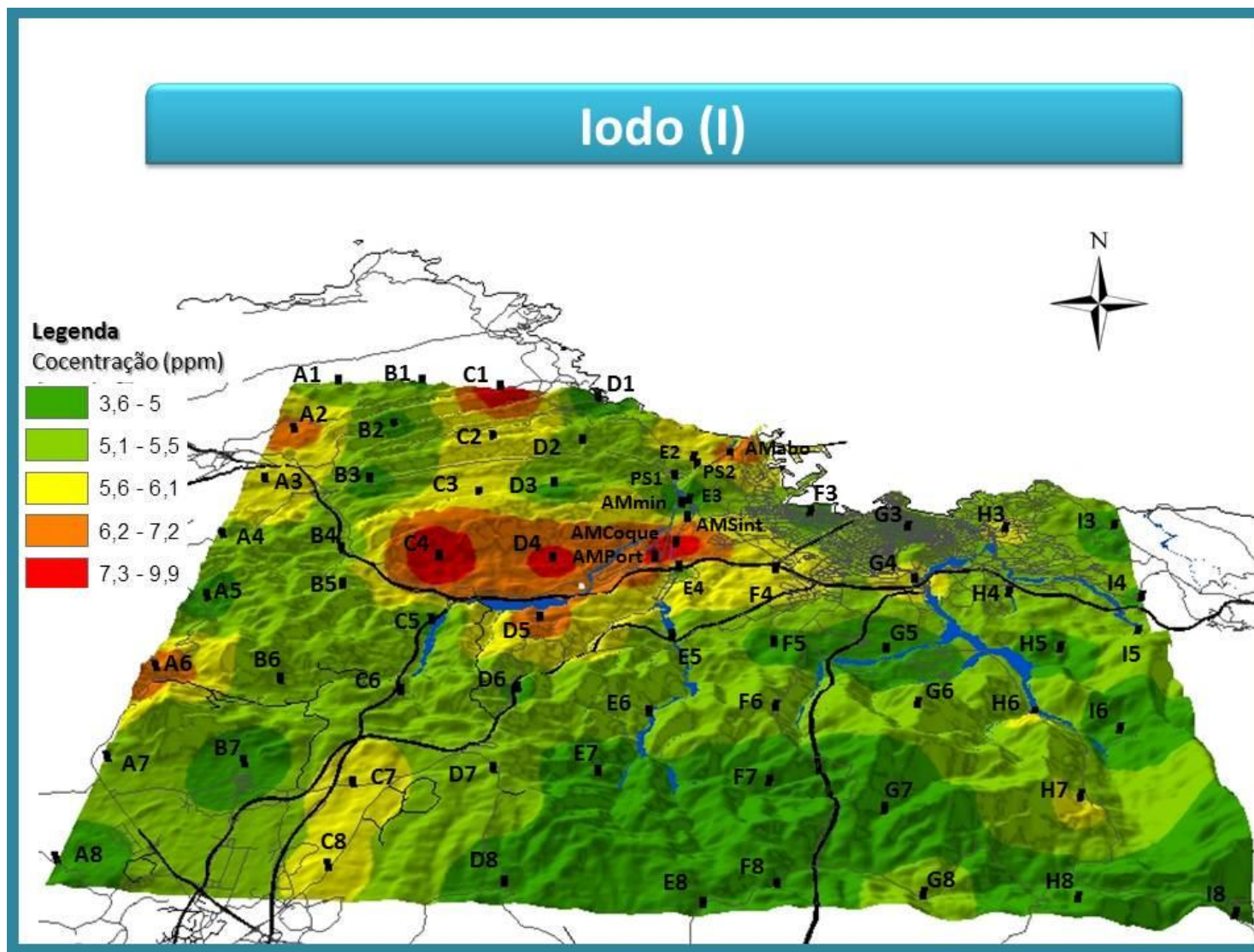


Figura 27- Distribuição geoespacial da concentração do elemento iodo, de origem no mar.

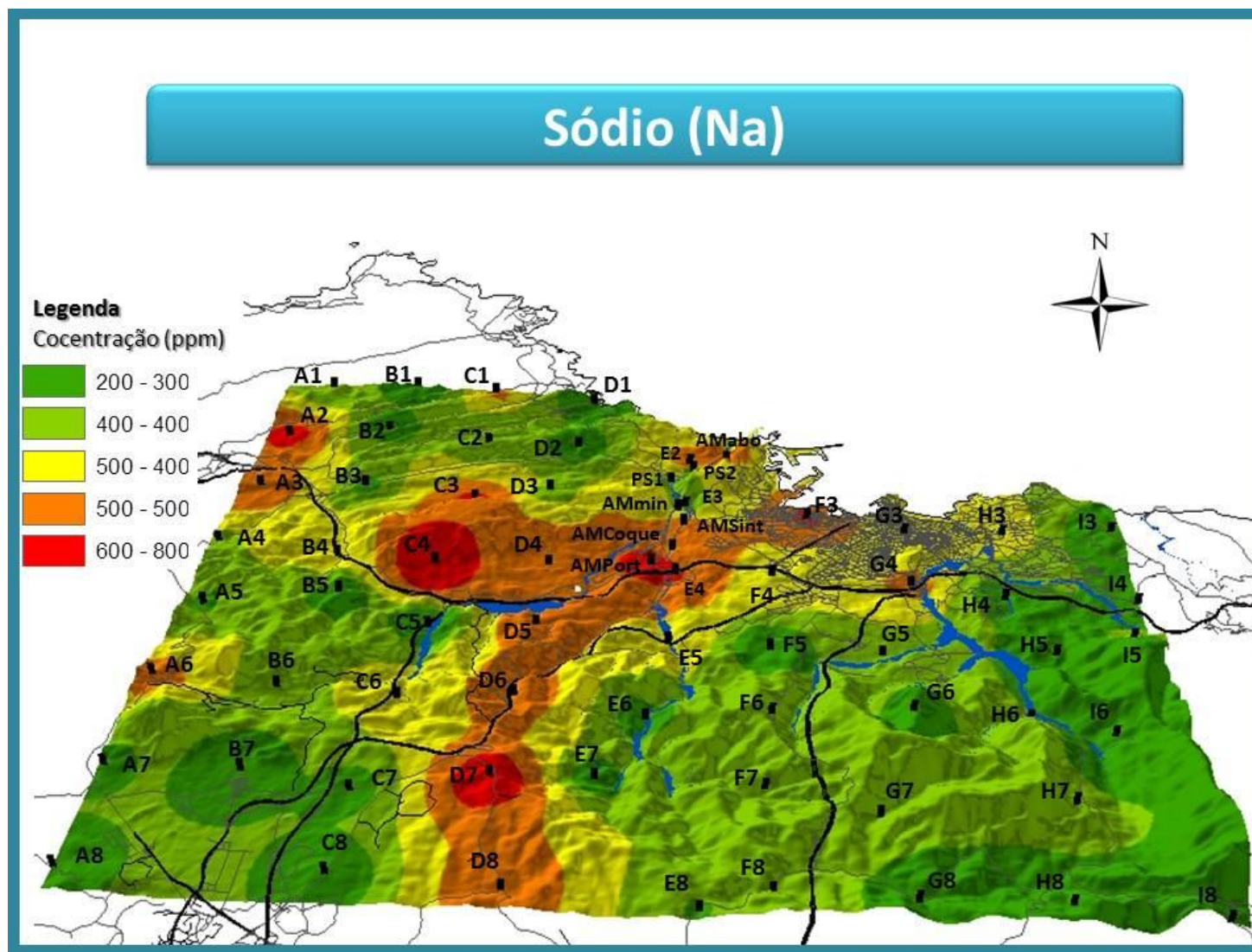


Figura 28- Distribuição geoespacial da concentração do elemento sódio, de origem no mar.

Os elementos químicos Br, Cl, I e Na têm uma origem natural, provindo do mar, principalmente do mar da Cantábria.

Verifica-se através dos mapas de distribuição espacial que existe uma semelhança de pontos de incidência para concentrações mais elevadas dos mesmos, nomeadamente para o C4, D4 e AMPort. A incidência das concentrações nestes locais para estes elementos também poderá estar relacionada com a morfologia do terreno, uma vez que estes pontos de amostragem estão num vale formado pelo declive/relevo do terreno, favorecendo a direcção da deslocação dos mesmos no sentido do mar para esta zona.

Apesar de o Br ter origem natural, a sua existência também poderá ter um contributo antropogénico, nomeadamente através da indústria e de veículos.

Para melhor compreensão dos resultados das concentrações obtidas, segue-se a figura 29, a qual demonstra as concentrações (ppm) obtidas para os diversos pontos de amostragem. Nestes gráficos é apresentada a linha correspondente ao valor médio das concentrações obtidas nos líquenes não expostos (considerada a linha de valor de referência) com as respectivas linhas de desvio-padrão. Esta média de concentração de referência permite-nos conhecer o enriquecimento dos elementos nos líquenes devido à sua exposição num local diferente do local de origem. Este enriquecimento irá reflectir o grau de contaminação do local em estudo e contribuir para a identificação de fontes emissoras.

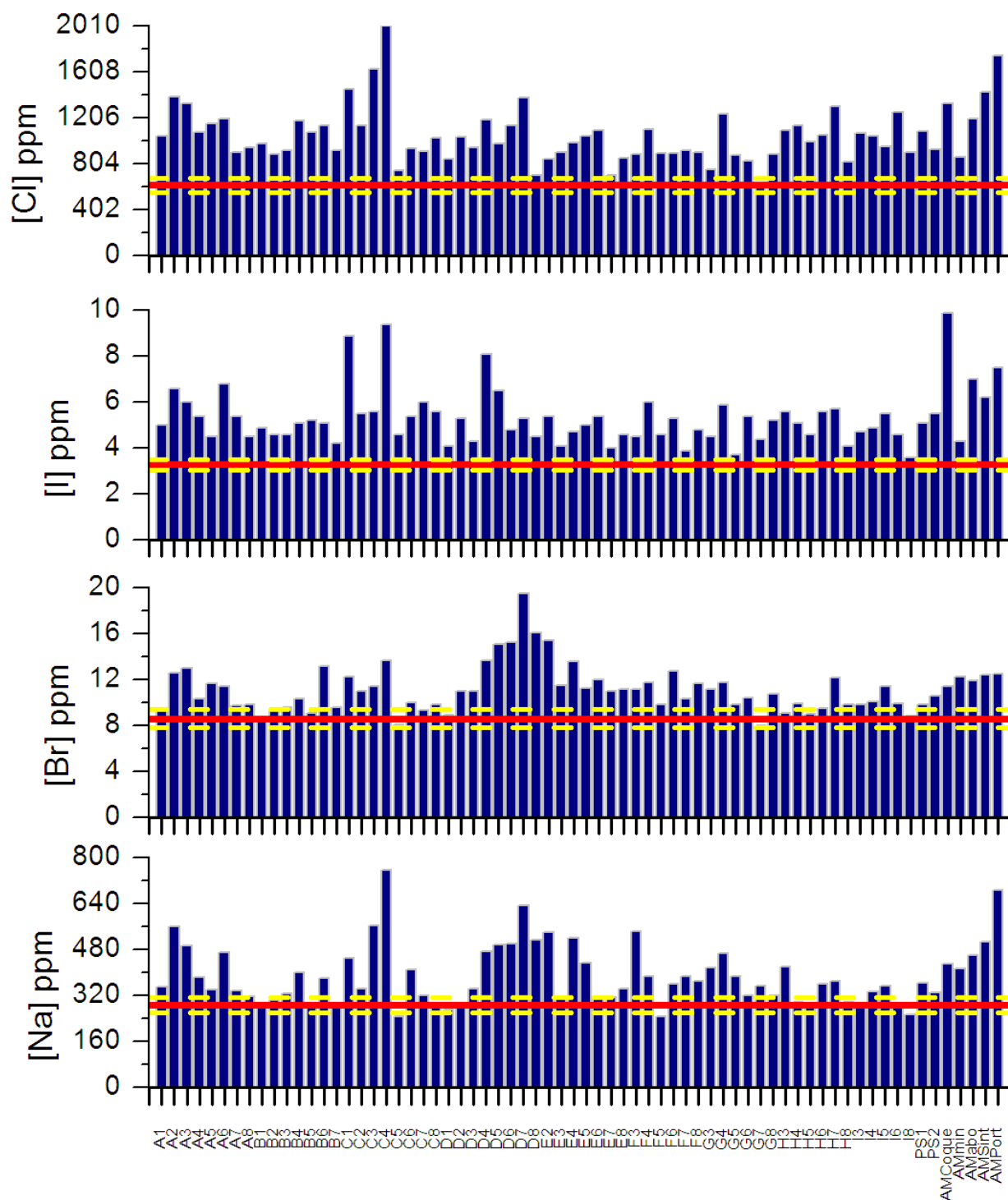


Figura 29- Gráficos de concentrações para os elementos Na, Br, I e Cl nos diferentes pontos de amostragem comparativamente com a linha correspondente ao valor médio das concentrações obtidas nos líquenes não expostos (linha encarnada).

É possível verificar nos gráficos anteriores que as concentrações dos elementos estão na sua generalidade superiores à linha de concentrações de referência, indicando que a concentração destes elementos na atmosfera do local de estudo é superior em relação ao local de origem.

b) Origem natural, do solo: Al, La, Sc e Sm (figuras 30, 31, 32 e 33):

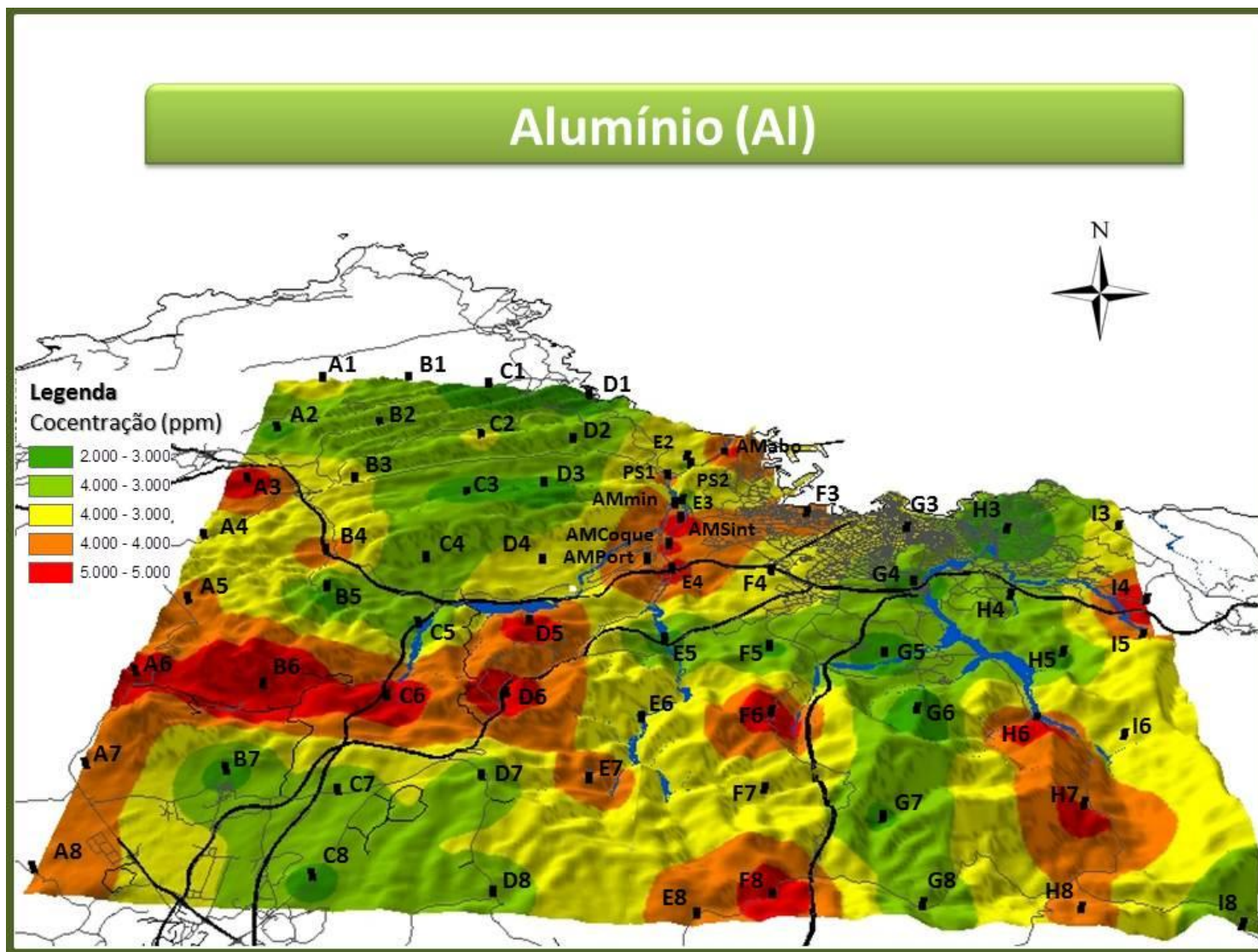


Figura 30- Distribuição geoespacial da concentração do elemento alumínio, de origem no solo.

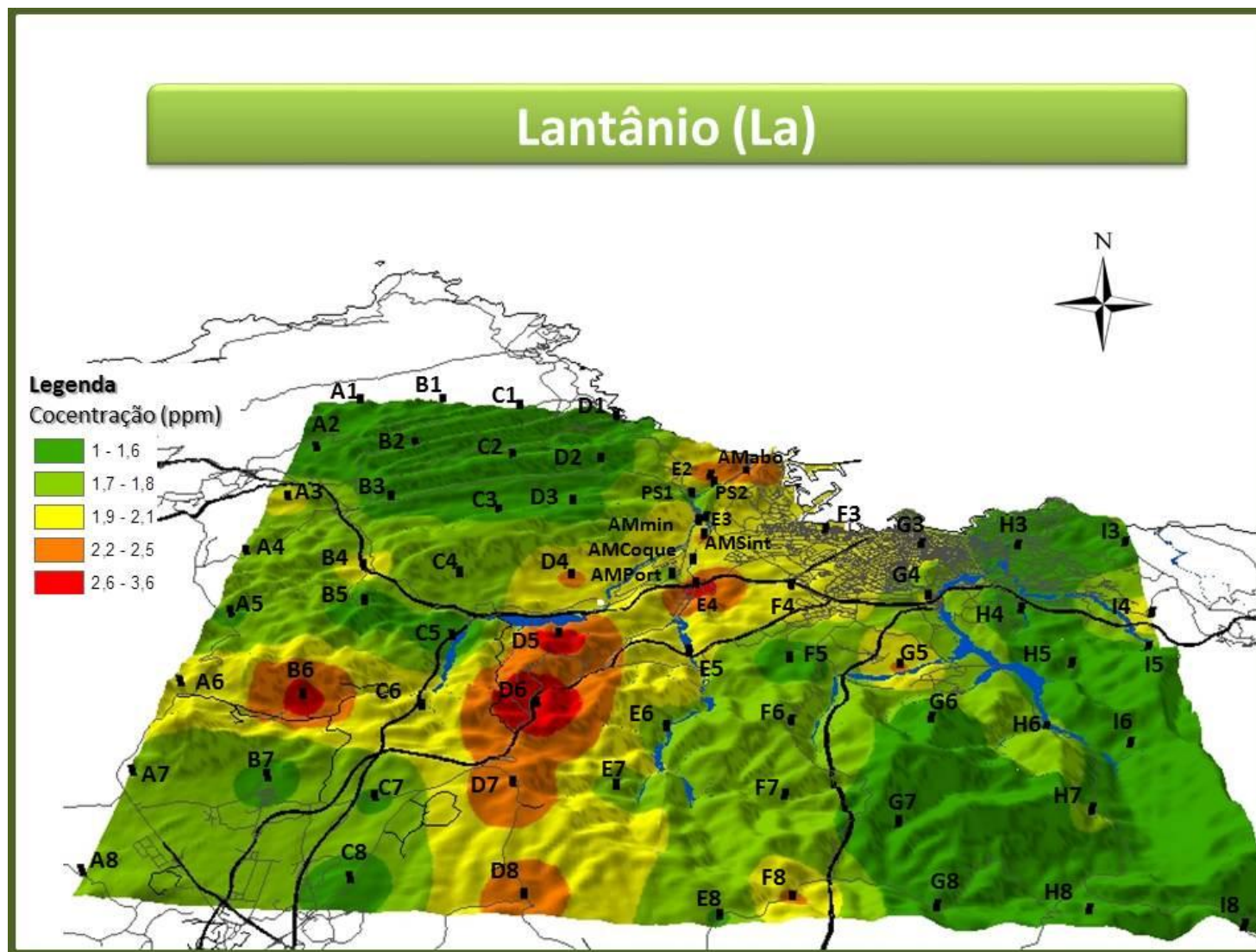


Figura 31- Distribuição geoespacial da concentração do elemento lantânio, de origem no solo.



Figura 32- Distribuição geoespacial da concentração do elemento escândio, de origem no solo.

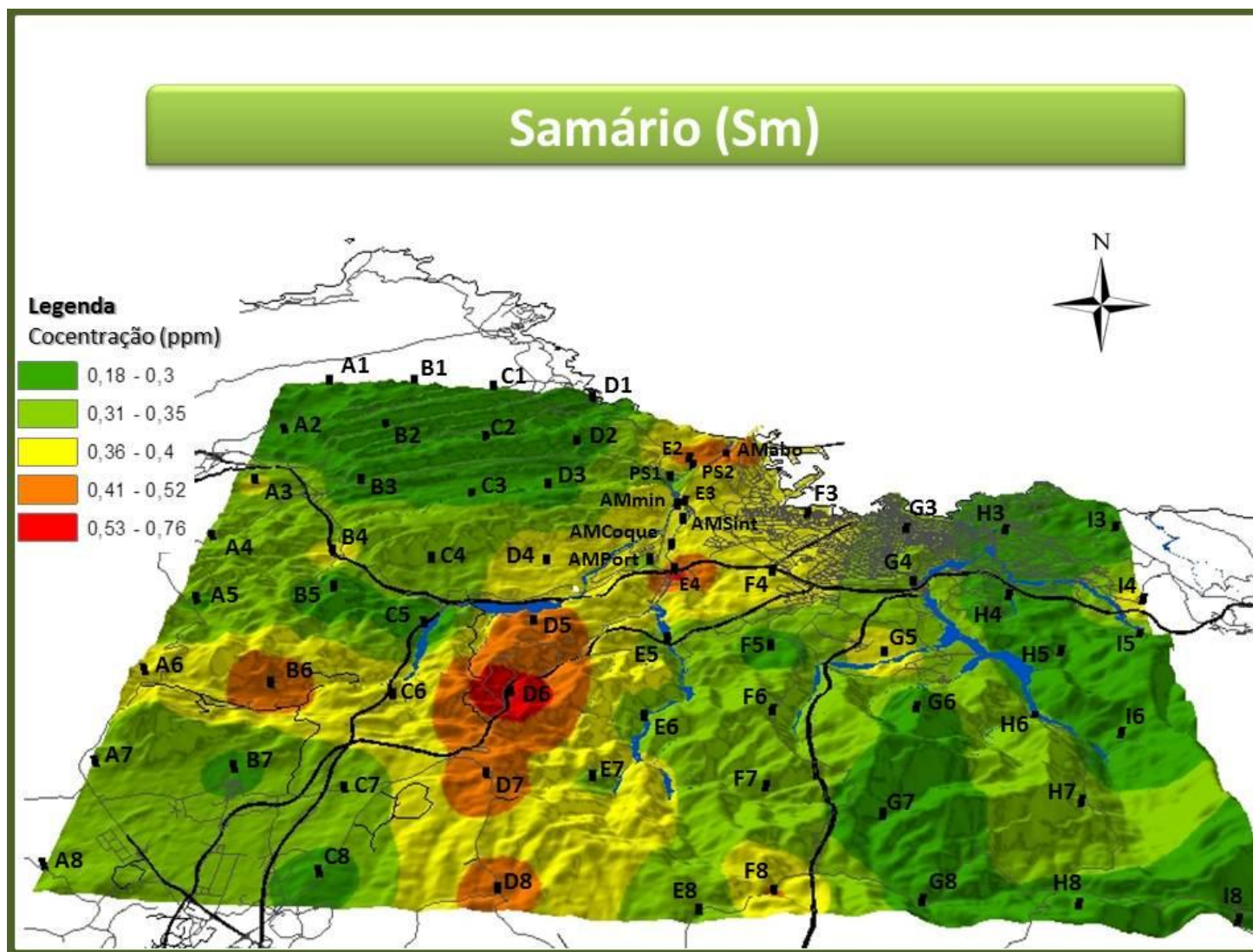


Figura 33- Distribuição geoespacial da concentração do elemento samário, de origem no solo.

Perante a distribuição espacial deste grupo de elementos verifica-se que estes têm uma distribuição muito semelhante, sendo possível concluir que poderão ser de origem natural, provavelmente o solo.

Observando os mapas, é de realçar a existência de dois pontos de amostragem predominantes com concentrações mais elevadas, para quase todos os elementos, o B6 e o D6. É possível que a zona em redor do ponto D6 apresente níveis de concentração mais elevados devido à existência de um aterro sanitário nas proximidades. A circulação de veículos pesados que dá origem à ressuspensão de poeiras e as movimentações de terras características deste tipo de actividade promovem o aumento da concentração de partículas na atmosfera com origem no solo.

Neste grupo, o alumínio apresenta um mapa geoespacial um pouco diferente dos restantes, com mais zonas de níveis de concentração elevada pelo espaço em estudo. Para este facto, para além do possível contributo do aterro, estes valores podem corresponder à influência de uma fábrica de alumínio a qual se encontra localizada fora da malha de amostragem, não sendo abrangida neste mapa.

A figura seguinte (figura 34) apresenta os valores de concentração pelos diversos pontos de amostragem, onde são retratadas as concentrações medidas nos líquenes expostos, comparativamente com a média das concentrações verificadas nos líquenes não expostos.

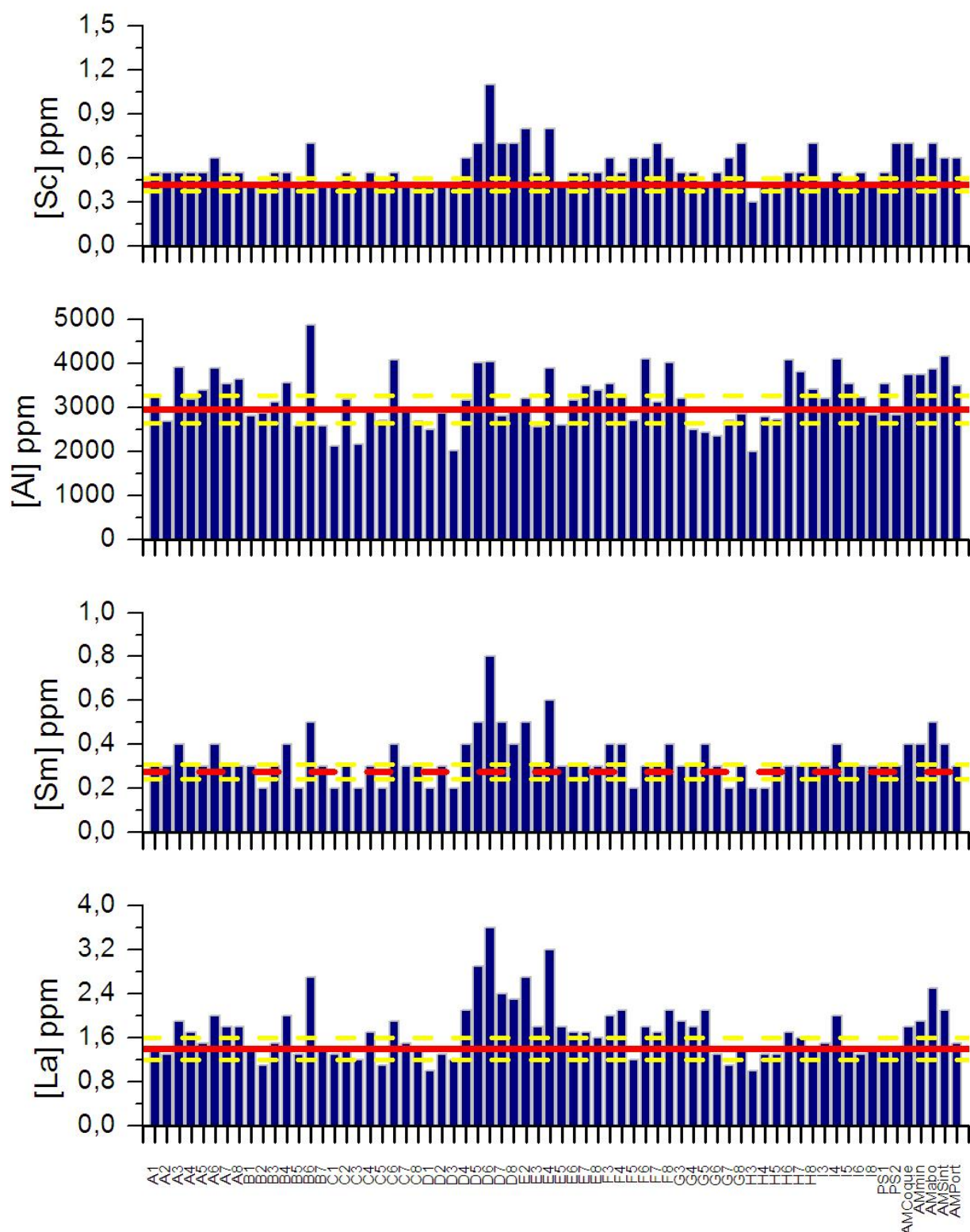


Figura 34 – Gráficos de concentrações para os elementos Al, La, Sc e Sm, nos diferentes pontos de amostragem comparativamente com a linha correspondente ao valor médio das concentrações obtidas nos líquenes não expostos (linha encarnada).

Nestes gráficos verifica-se que em alguns pontos de amostragem os valores das concentrações não ultrapassam a linha de referência. Isto demonstra que não existe um enriquecimento significativo para estes elementos confirmando a origem natural, o solo.

c) Origem Antropogénica: As, Cu, Fe, Sb, V e Zn (figuras 35,36,37,38,39 e 40):

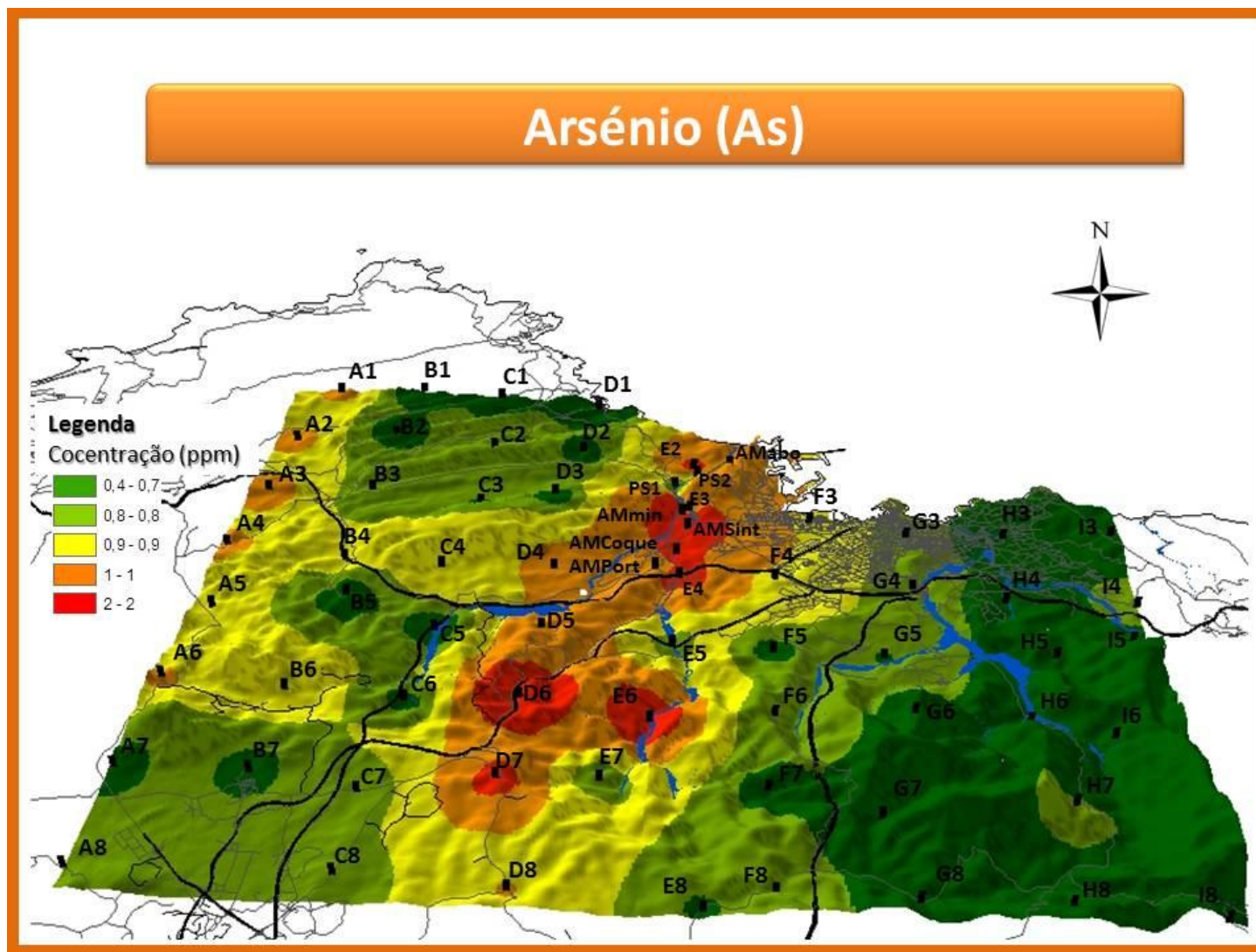


Figura 35- Distribuição geoespacial da concentração do elemento arsénio, de origem antropogénica.

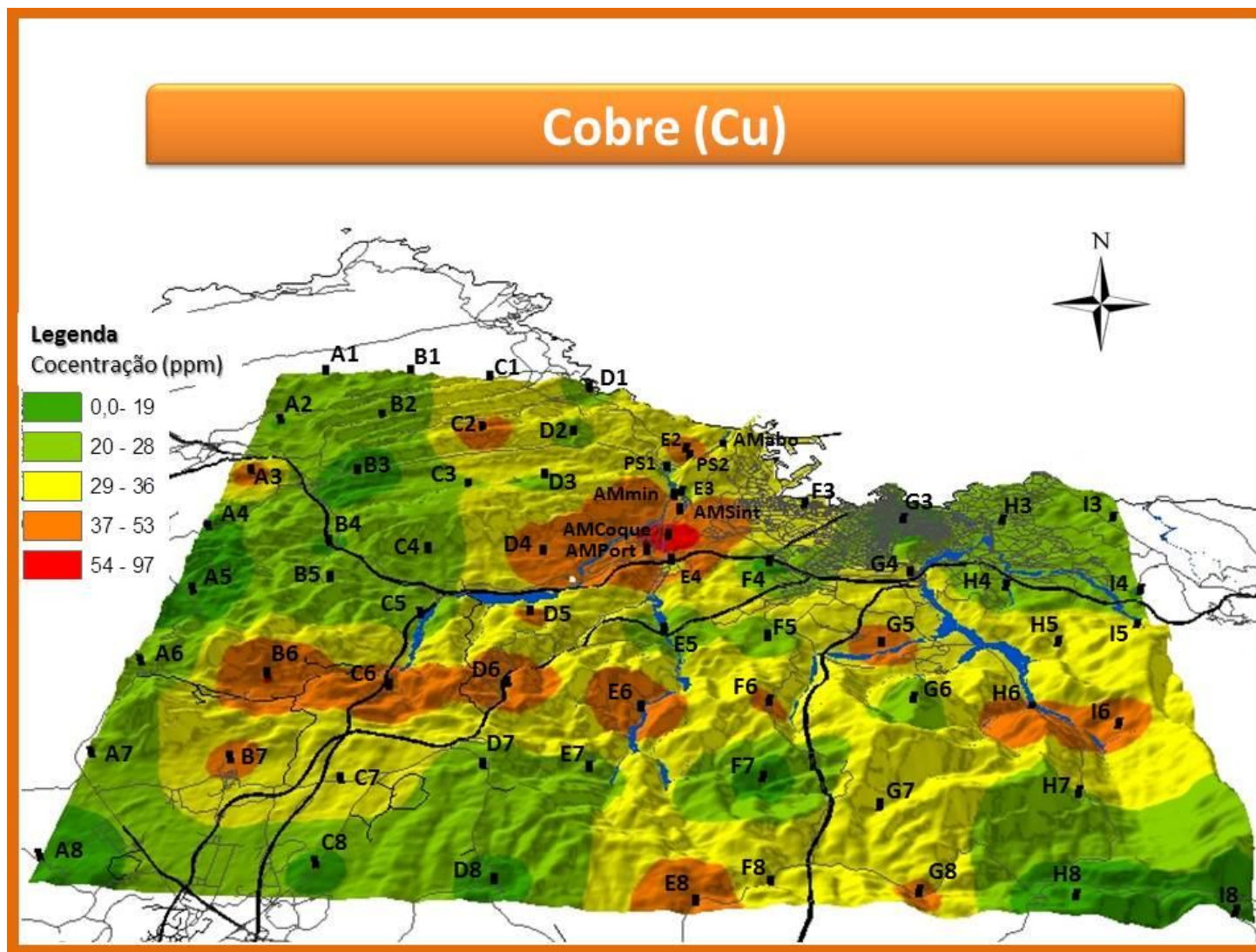


Figura 36- Distribuição geoespacial da concentração do elemento cobre, de origem antropogénica.

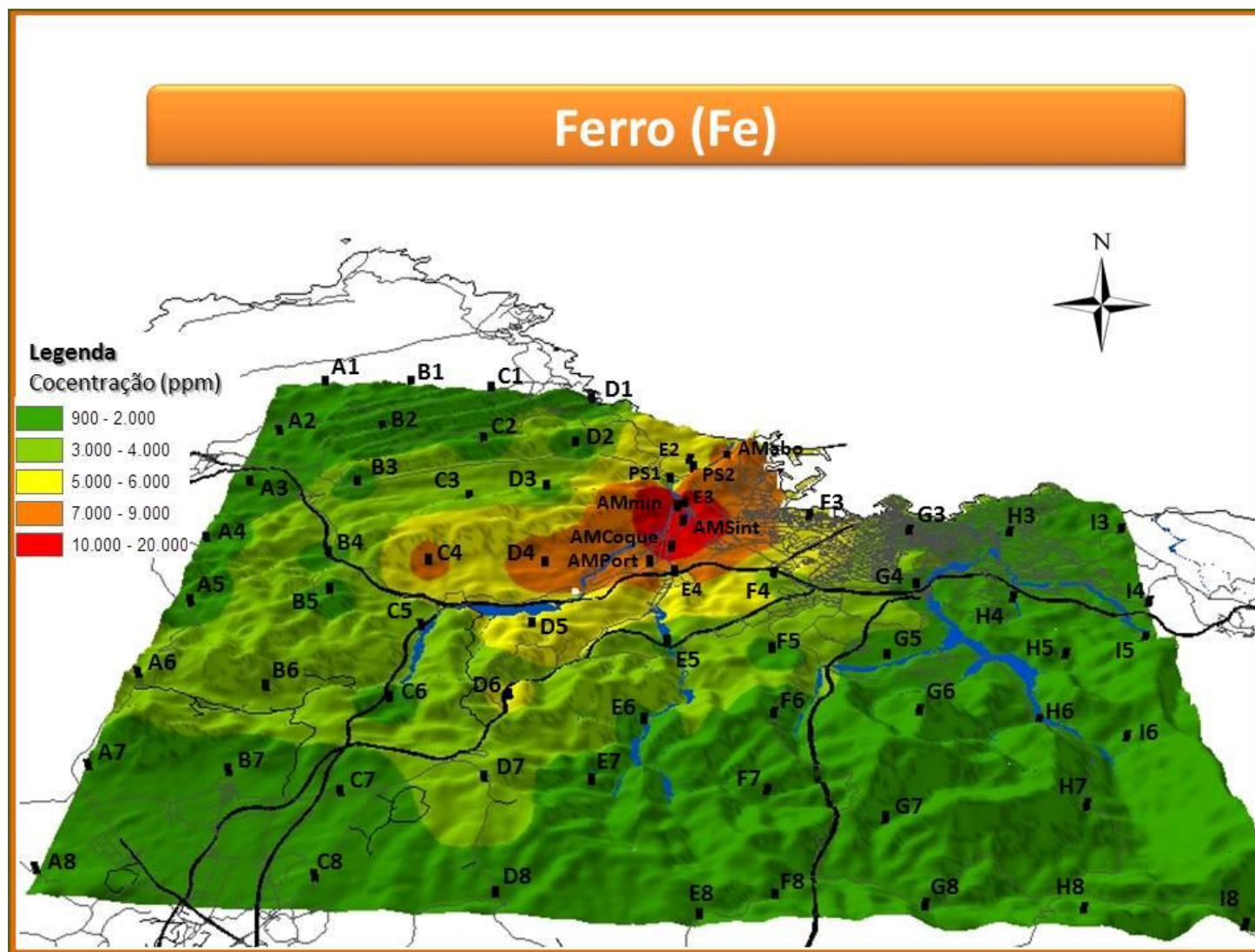


Figura 37- Distribuição geoespacial da concentração do elemento ferro, de origem antropogénica.

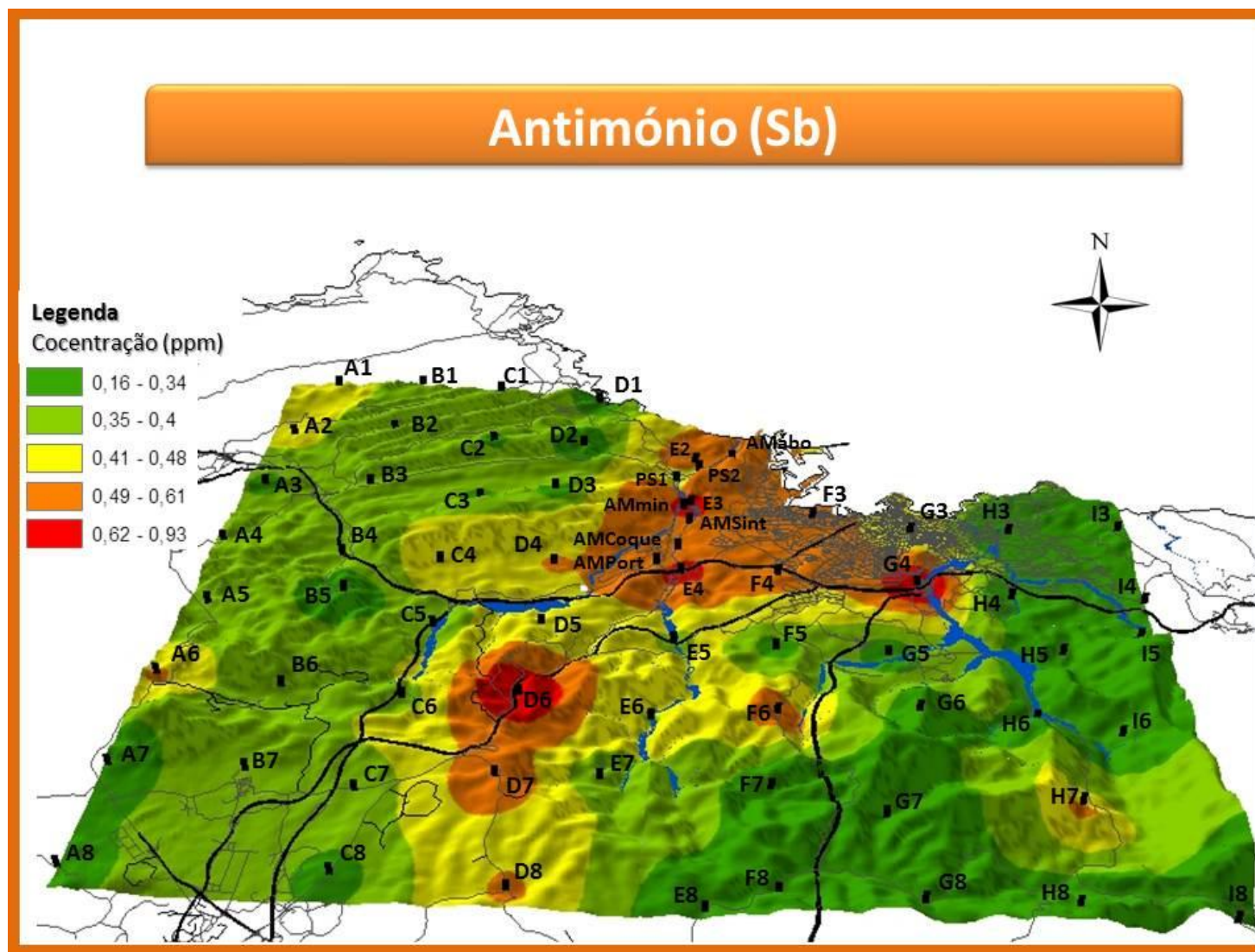


Figura 38- Distribuição geoespacial da concentração do elemento antimónio, de origem antropogénica.

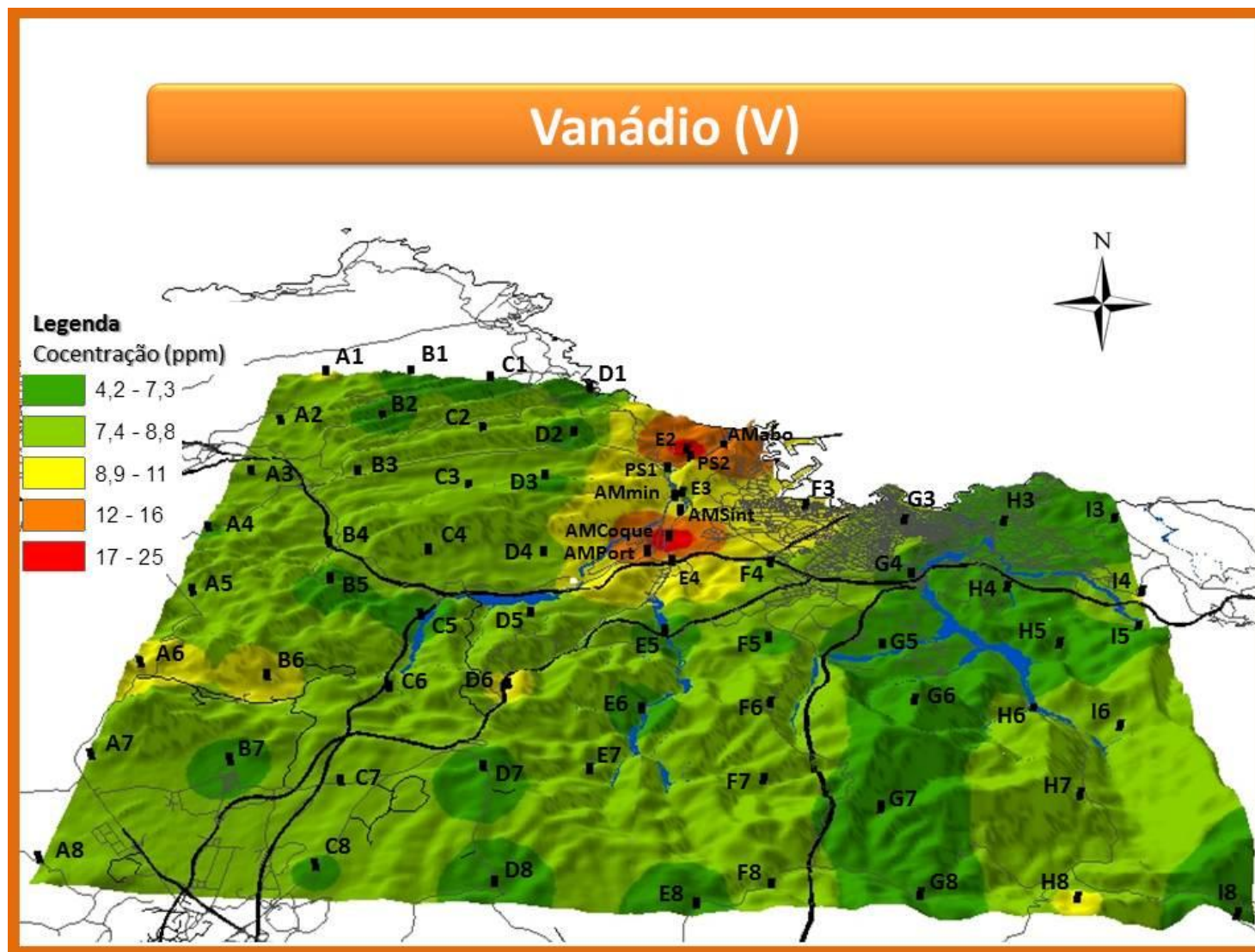


Figura 39- Distribuição geoespacial da concentração do elemento vanádio, de origem antropogénica.

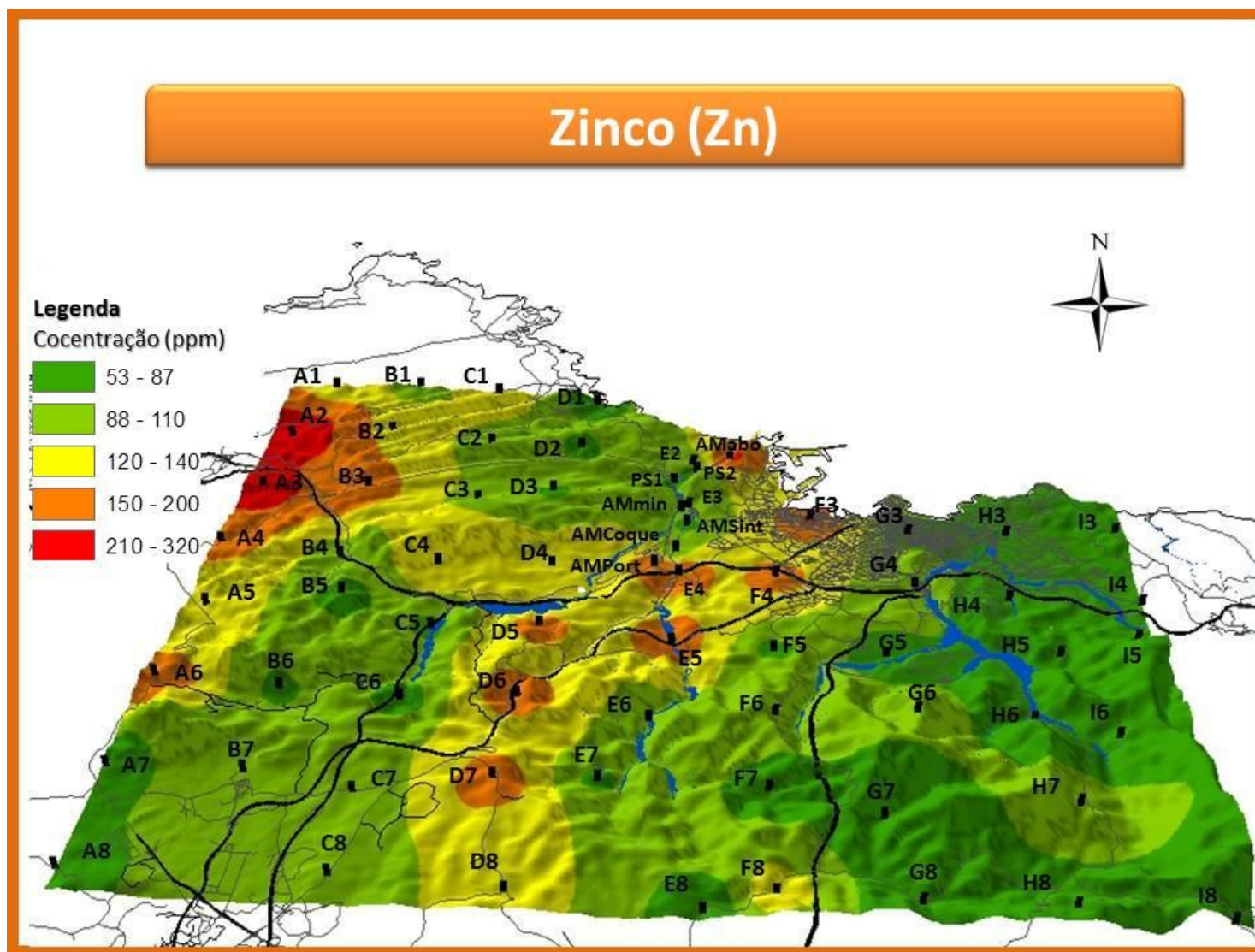


Figura 40- Distribuição geoespacial da concentração do elemento zinco, de origem antropogénica.

Todos os elementos envolvidos neste grupo de mapas são de origem antropogénica. Verifica-se que a zona dos pontos críticos - a zona industrial - é aquela que apresenta comumente manchas de concentrações mais elevadas. É de destacar que o ponto AMCoque e a zona em seu redor apresentam valores elevados nos diversos mapas.

A informação das concentrações destes elementos nos líquenes expostos, comparativamente aos não expostos, pode ser melhor compreendida na imagem seguinte (figura 41) a qual reúne os gráficos que retratam esta mesma informação.

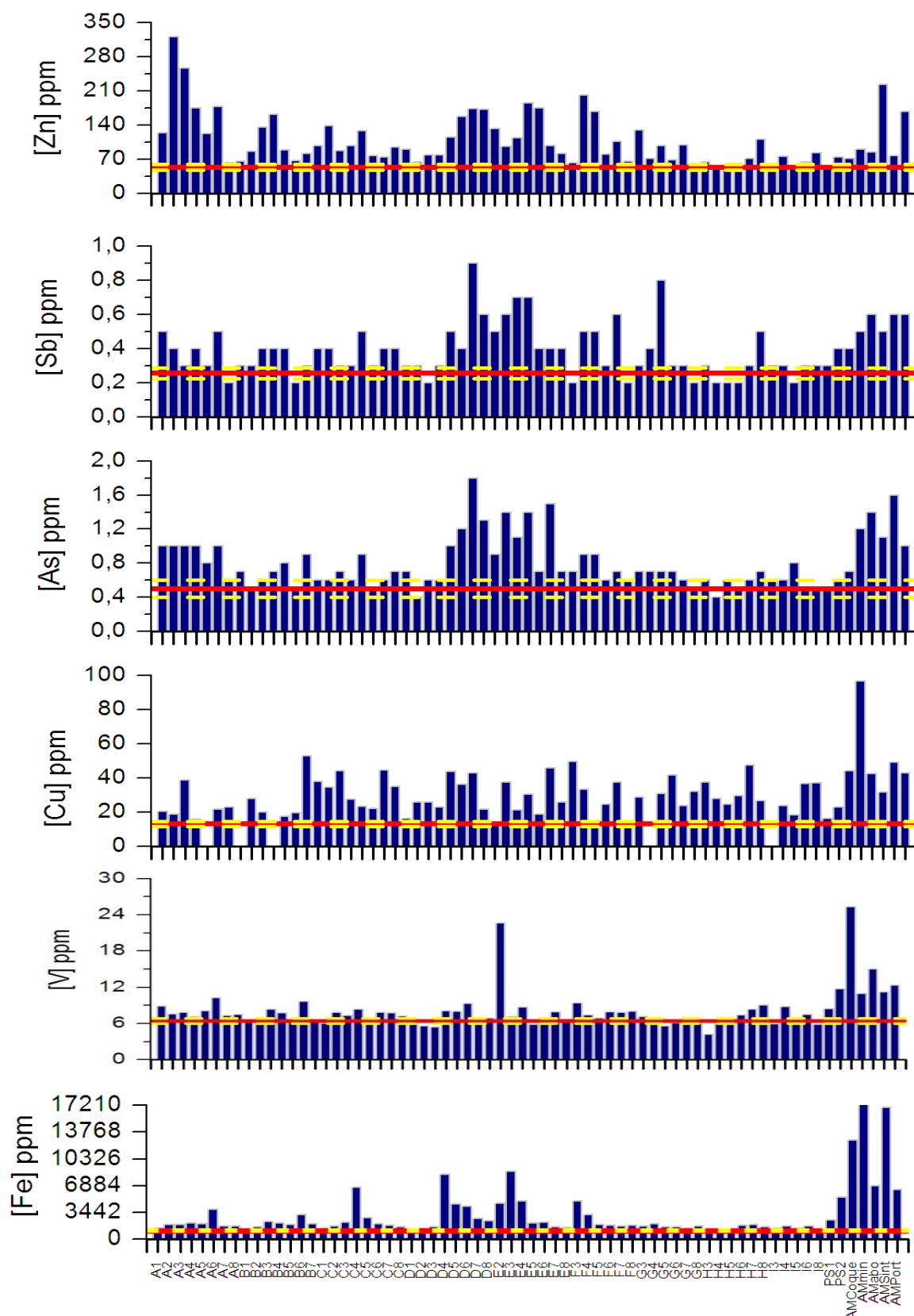


Figura 41- Gráficos de concentrações para os elementos As, Cu, Fe, Sb, Zn e V nos diferentes pontos de amostragem comparativamente com a linha correspondente ao valor médio das concentrações obtidas nos líquenes não expostos (linha encarnada).

Para quase todos os elementos, as concentrações obtidas nos líquenes expostos são superiores à dos líquenes não expostos. Este enriquecimento é principalmente visível na zona central da malha junto das zonas industriais.

Todos estes elementos são derivados de fonte antropogénica. Deste modo verifica-se que os valores de concentração encontrados para o Sb, o As, o Zn e o Cu provêm do tráfego, nomeadamente dos combustíveis automóveis e o V da combustão de carvão e fúel, o qual está relacionado com a indústria termoelétrica e a siderurgia existentes na zona industrial. Relativamente ao Fe, este elemento costuma estar associado a uma origem natural, o solo. No entanto, nesta situação os locais de maior concentração correspondem aos pontos próximos da zona industrial. Tal facto pode ser justificado pela intensa produção de ferro proveniente da siderurgia.

6.Considerações Finais

A aplicação da técnica de biomonitorização tem diversas vantagens que contribuíram para a melhoria do desenvolvimento deste trabalho. É de destacar a possibilidade da realização de uma fácil amostragem a baixos custos através do uso desta técnica em destaque.

Relativamente à parte experimental, é então possível confirmar que através da técnica INAA e pelo método k_0 se conseguiu efectuar a caracterização elementar dos líquenes expostos. Todos os dados obtidos através desta metodologia foram importantíssimos para realizar a distribuição geoespacial das concentrações dos elementos pela área da malha de amostragem, o qual consistia num outro objectivo.

Ainda no âmbito dos resultados obtidos, verifica-se que, apesar do elevado número de elementos identificados, estes podem ser associados entre eles devido às suas características físico-químicas e ao modo como se distribuem (em termos de concentração (ppm)) pela área de estudo.

Deste modo, destacam-se três principais fontes associadas a estes elementos, em que se verifica que o grupo dos elementos Al, La, Sc e Sm são oriundos do solo, os elementos Br, Cl, I e Na do mar e os elementos As, Cu, Fe, Sb, V e Zn de origem antropogénica.

Para todos os elementos, quando analisados os gráficos que relacionam as concentrações obtidas pelos pontos de amostragem, comparando com o valor de concentração média de referência, concluiu-se que principalmente para os elementos do mar e antropogénicos os valores de concentração são superiores à concentração existente no líquen não exposto.

Analisando estes três grupos, constata-se que no grupo dos elementos de origem antropogénica existem valores de concentração (ppm) mais elevados nos pontos de amostragem junto à zona industrial, tal como já era previsto. Posto isto, é notável que ocorra um decréscimo exponencial nas concentrações com o aumento da distância a partir da área industrial observada.

7. Perspectivas Futuras

Neste trabalho foi possível relacionar a técnica de biomonitorização com sistemas de informação geográfica, com o intuito de avaliar a qualidade do ar na zona de estudo. Como tal, considero que seria pertinente efectuar novos estudos relacionados com esta zona industrial. No seguimento desta ideia, para além da técnica de biomonitorização poderiam ser criados estudos complementares direccionados para avaliação da contaminação do solo e para a caracterização da composição do ar, recorrendo a métodos de amostragem tradicionais em locais específicos.

Relativamente ao solo é importante ter em consideração que o tipo de solo e a sua composição são aspectos importantes de serem conhecidos. Isto porque contribuem para a variação das concentrações de determinados elementos na atmosfera de forma desigual, ao longo da área de amostragem. No período de amostragem deste estudo foram também recolhidas amostras de solo as quais poderiam ser usadas num estudo futuro, tendo em vista a avaliação e a contaminação do solo e a sua influência para a qualidade do ar.

Dado ao elevado grau de poluição da região estudada, seria também interessante desenvolver um estudo que avaliasse o impacto das partículas em suspensão na atmosfera na saúde humana, baseado em métodos estatísticos, os quais seriam empregues para modelar a associação entre a concentração de poluentes na atmosfera, as fontes de poluição e a morbilidade.

8. Referências Bibliográficas

- Ahmadjian, V. (1993). *The Lichen Symbiosis*. New York : John Willey & Sons, Inc., New York, 250 pp
- Almeida, S. M. (2004). *Composição e origem do aerossol atmosférico em zona urbano-industrial*. Dissertação apresentada ao Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro para a obtenção do grau de doutor, Aveiro.
- Almeida, S.M., Lage, J., Freitas, M.C., Pedro, A.I., Ribeiro, T., Silva, A.V., et al. (2012). Integration of Biomonitoring and instrumental techniques to assess the air quality in an industrial area located in the coastal of central Asturias, Spain. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues*, 75:22-23, 1391-1403.
- Baker, D. (1983). Uptake of cations and their transport within the plants. In: Conti, M.E. & Cecchetti, G. (Coord.), 2000, *Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review*. Elsevier.
- Bargagli, R., Nimis, P.L. & monaci, F. (1997). Lichen Biomonitoring of trace element deposition in urban, industrial and reference areas of Italy. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 11, 173-175
- Bargagli, R. (1998). Lichens as biomonitors of airborne trace elements. In *Trace Elements in Terrestrial Plants: an Ecophysiological Approach to Biomonitoring and Biorecovery*. Berlin, Germany: Springer Verlag, pp. 179-206.
- Brown, D., & Brown, R. (1991). Mineral cycling and lichens: the physiological basis. *Lichenologist* 23, 293-307.
- Budel, B. (1992). Taxonomy of lichenized prokaryotic blue-green algae. In: Nash III, T.H., 1996, *Lichen Biology*. (1ª ed., cap. 4, pp. 37-44). Department of Botany, Arizona State University, Cambridge: Cambridge University Press.
- Childs, C. (2004). Interpolation Surfaces in ArcGIS Spatial Anlys. *ESRI Educational Services*. Acedido a 10 de Março de 2012, em <http://www.esri.com/news/arcuser/0704/files/interpolating.pdf>.
- Conti, M. & Cecchetti, G. (2001). Biological monitoring: lichens as biomonitors of air pollution assessment - a review. *Elsevier*, 471-492.
- De Corte, F. (1987). The k 0 -standardization method, a move to the optimisation of neutron activation analysis. *Proefschrift, Rijksuniversiteit*, 3.
- Esri. (2011). ArcGIS 10, um Sistema completo de informação geográfica. Acedido a 10 de Março de 2012 em <http://www.esriportugal.pt/noticias/noticias-esri-portugal/arcgis-10-um-sistema-completo-de-informao-geografica/>.

- Esri (2010). ArcGIS 10 . Acedido a 10 de Março de 2011 em http://training.esri.com/Courses/DataInfo10_0/index.cfm?c=297.
- Farrar, J. (1976). The lichen as an ecosystem: observation and experiment. In: Brown D.H., Howksworth, D.L. & Bailey, R.H. (Coord.), *Lichenology: progress and problems* (1ªed., pp.385-406). Press Academic, London, United Kingdom
- Faustino, C. (1997). Análise de um material polímero para certificação e uso em controlo de qualidade por análise por activação com neutrões. Relatório de conclusão de estágio apresentado na Universidade de Aveiro, para a obtenção do grau de licenciado em Química Tecnológica.
- Figueira, R. (2002). Desenvolvimento de um Sistema de Biomonitorização Ambiental. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa para a obtenção do grau de doutor.
- Freitas, M.C. & Pacheco, A.M.G. (2007). Elemental concentrations of aerosols near Portuguese power plants by INAA and PIXE. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 271, 185-189.
- Freitas, M., Reis, M., Alves, L. & Wolterbeek, H. (2000). Nuclear analytical techniques in atmospheric trace element studies in Portugal. *Elsevier Science BV*, 187-213.
- Galinha, C. (2011). Diferentes técnicas radianalíticas para determinação de selénio em amostras de cereais. Dissertação apresentada ao departamento de Engenharia Biológica do Instituto Superior Técnico da Universidade Técnica de Lisboa, para a obtenção do grau de mestre, Lisboa.
- Garty, J., Choen, Y., Koog, N. & Karnieli, A. (1996). Effects of air pollution on cell membrane integrity, special reflectance and metal and sulfur concentrations in lichens. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, 1396-1402.
- Garty, J., Kloog, N. & Cohen, Y. (1997). Integrity of lichens cell membranes in relation to concentration of airborne elements. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34, 136-144
- Garty, J. (2001). Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: Theory and Application, Critical reviews. *Plant Sciences*, 20:4, 309-371.
- Garty, J., Tomer, D., Levin, T. & Lehr, H. (2002). Lichens as biomonitors around a coal-fired power station in Israel. *Environmental Research*, 91, 186-198.
- Gaspar, F. (s.d.). Acedido a 6 de Novembro de 2011 em <http://pt.wikipedia.org/wiki/L%C3%ADquen>.
- Gijón Turismo (2010a). História. Acedido a 11 de Janeiro de 2012, em <http://pt.turismo.gijon.es/page/7176-historia>.
- Gijón Turismo (2010b). Extensão, população e paróquia. Acedido a 10 de Janeiro de 2012, em <http://pt.turismo.gijon.es/page/7204-extensao-populacao-e-paroquia>

Gijón Turismo (2010c). Climatologia. Acedido a 11 de Janeiro de 2012, em <http://pt.turismo.gijon.es/page/7207-climatologia>.

Google Earth (2010). Acedido a 15 de Novembro de 2011 em aplicação informática adquirida em <http://www.google.com/earth/index.html>

International Atomic Energy Agency. (1999). Reference sheet, Reference Material IAEA-336, Trace and Minor Elements in Lichen.

Jeran, Z., Jacimov, R., Batc, F., Smodis, B. & Wolterbeek, H.Th. (1996). Atmospheric heavy metal pollution in Slovenia derived from results for epiphytic lichens, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 354. In: Conti, M.E., Cecchetti, G. (Coord.), 2000, *Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review*. Elsevier.

Kral, R., Kryzova, L. & Liska, J. (1989). Background concentrations of lead and cadmium in the lichen *Hypogymnia physodes* at different altitudes, *Sci. Total Environ.* 84. In: Conti, M.E. & Cecchetti, G. (Coord.), 2000, *Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review*. Elsevier.

Klos, A., Rajfur, M. & Waclawek, M. (2011) Application of enrichment factor (EF) to the interpretation of results from the biomonitoring studies. *Ecological Chemistry and Engineering*, 18, 172-183.

Kubešová, M. (2012). k_0 standardization in neutron activation analysis at LVR-15 reactor in Řež. Dissertação apresentada no Departamaneto de Dosimetria e aplicação de Radiação Ionizante, da Faculdade de Ciências Nucleares e Engenharia Física, Praga.

Market, B. (2007). Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 21,77-82.

Market, B. (2008). From biomonitoring to integrated observation of the environment - the multi-markered bioindication concept. *Ecological Chemistry and engineering S*, 15, 316-333.

Market, B., Wuenschmann, S., Fraenzle, S., Figueiredo, A.M., Ribeiro, A. & Wang, M. (2011). Bioindication of atmospheric trace metals - With special references to megacities. *Environmental Pollution* 159, 1991-1995.

Marques, A. (2008). Positional Responses in Lichen TRansplant Biomonitoring of Trace Element Air Pollution. Dissertação apresentada ao Departamento de Radiação, Radionuclidos e Reactores da Universidade de Tecnologia de Delf, para a obtenção do grau de doutor, Delft.

Martin, M. & Coughtrey, P. (1982). Biological monitoring of heavymetal pollution. *Applied Science Publishers*, London.

Mesquita, C. (s.d.). Análise por Activação Neutrónica. Acedido a 10 de Novembro de 2011 em <http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduacao/Disciplinas/LinkAula/My-Files/AAN.htm>.

Nash III, T. (1996). Lichen Biology. (1ª ed., cap. 1, pp. 1-7). Department of Botany, Arizona State University, Cambridge: Cambridge University Press.

- National Bureau of Standards. (1982). Certificate of Analysis, Standard Reference Material 1572, Citrus Leaves.
- Nimis, P. (1990). Air quality indicators and indices: the use of plants as bioindicators for monitoring air pollution. In: Colombo, A.G. & Premazzi, G. (Coord.) Proc. Workshop on Indicators and Indices, *JRC Ispre. EUR 13060 EN*, 93–126.
- Puckett, K. (1988). Bryophytes and lichens as biomonitors of metal deposition. *Bibl. Lichenol.* 30, 231-268.
- Purvis, O.W. (2000). Lichens and industrial pollution. In: Batty, L., Hallberg, K., 2010, *Ecology of Industrial Pollution*. (1st ed., cap. 3, pp. 41-70). Cambridge: Cambridge University Press.
- Reis, M. (2001). Biomonitoring and assessment of atmospheric trace elements in Portugal - Methods, response modelling and nuclear analytical techniques. Dissertação apresentada ao Departamento de Radiação, Radionuclídeos e Reactores da Universidade de Tecnologia de Delft, para a obtenção do grau de doutor, Delft.
- Ribeiro, T. (2011). Mapeamento de elementos químicos em zona industrial através da utilização de biomonitores. Dissertação apresentada ao Departamento de Engenharia Química do Instituto Superior Técnico da Universidade Técnica de Lisboa, para a obtenção do grau de mestre, Lisboa.
- Richardson, D., Ahmadjian, V., & Nieboer, E. (1985). Lead and uranium uptake by lichens. In: Brown, D.H. (Coord.) *Lichen Physiology and Cell Biology*, (pp. 227-246). New York, USA: Plenum Publishing Corporation.
- Sarmiento, S. (2012). *Application of Atmospheric Biomonitoring to Epidemiology*. Dissertação apresentada à Universidade de Tecnologia de Delft, para a obtenção do grau de doutor, Delft.
- Sloof, J.E. (1993). Environmental Lichenology: Biomonitoring Trace Element Air Pollution. Dissertação apresentada à Universidade de Tecnologia de Delft, para a obtenção do grau de doutor, Delft.
- Smoldis, B. (2007). Investigation of trace element atmospheric pollution by nuclear analytical techniques at a global scale: harmonized approaches supported by the IAEA. *Journal of Environmental Management* 85, 121-128.
- Smoldis, B., Pignata, M., Saiki, M., Cortés, E., Bangfa, N., Markert, B., et al. (2004). Validation and Application of Plants as Biomonitors of Trace Element Atmospheric Pollution - A Co-Ordinated Effort in 14 Countries. *Journal of Atmospheric Chemistry* 49, 3-13.
- SóBiologia. (2008). Líquenes. Acedido em 22 de Outubro de 2011 em <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Reinos/biofungos4.php>
- Steinnes, E. (1995). A critical evaluation of the use of naturally growing moss to monitor the atmospheric metals. *The Science of the Total Environment* 160/161, 243-249.
- Szczepaniak, K. & Biziuk, M. (2003). Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environmental Research* 93, 221-230.

- Tschermak-Woess, E. (1988). The algal partner. In: Nash III, T.H. (Coord.), *Lichen Biology*. (1^a ed., cap. 3, pp. 24-36). Department of Botany, Arizona State University, Cambridge: Cambridge University Press.
- Tyler, G. (1989). Uptake, retention and toxicity of heavy metals in lichens. *Water, Air and Soil Pollution* 47, 321-333.
- Whitfield, J. (2001). Vital Signs. *Nature*, 441, 989-900.
- Wilson, R. & Spengler, J. (1996). *Particules in our air, Concentrations and health effects*. (1^a ed., pp. 1-15) Harvard: Harvard School of public health.
- Wittig, R. (1993). General aspects of biomonitoring heavy metals plants. In: Markert, B. (Coord.) *Plants as Biomonitors. Indicators of heavy metal in terrestrial environment*, (1^aed., pp.3-27). VCH Publisher, Weinheim.
- Wolterbeek, H. Th. (2002). Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives. *Environmental Pollution* 120, 11-21.
- Wolterbeek, H.Th., Garty, J. & Reis, M. (2003). Biomonitoring is use: Lichens and metal air pollution. In Markert, B. (Coord.) *Bioindicators & Biomonitors: Principles, Concepts and Applications* (1^aed., pp. 3-39). Elsevier, Amsterdam.
- Wolterbeek, H.Th., Sarmento, S. & Verburg, T. (2010). Is there a future for biomonitoring of elemental air pollution? A review focused on a larger-scaled health-related (epidemiological) context. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 286:195-210.
- Yavar, A., Sarmani, S., Khalafi, H., Wood, A. & Khoo, K. (2011). Overview of INAA method and its application in Malaysia. *Journal of Nuclear and Related Technologies*, 8, 26-40.

Apêndices

Apêndice I – Referências de manuscritos e comunicações científicas.

- a. Artigo Científico:** Almeida, S.M., Lage, J., Freitas, M.C., Pedro, A.I., Ribeiro, T., Silva, A.V., et al. (2012). Integration of Biomonitoring and Instrumental Techniques to Assess the air Quality in An Industrial Area Located in the Coastal of Central Asturias, Spain. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues*, 75:22-23, 1392-1403.
- b. Comunicações Orais:**
- i. J. Lage; S.M. Almeida; M. Pacheco; M.C. Freitas; T. Ribeiro; S. Garcia³; J.P. Faria; B.G. Fernández; H.Th. Wolterbeek: Geospatial distribution of trace element air pollution in the North of Spain using biomonitors. International Congress on Environmental Health. 29 de Maio a 1 de Junho, Lisboa, Portugal, 2012.
 - ii. Lage J., S.M.Almeida; M. Pacheco; M.C. Freitas; T. Ribeiro; S. Garcia; J.P. Faria; B.G. Fernández; H.Th. Wolterbeek: Combining Biomonitoring Techniques and Geographic Information Systems to Assess Air Pollution. 6th International Workshop on Biomonitoring of Atmospheric Pollution (BIOMAP'12), 15 a 19 de Outubro, Çesme, Izmir, Turkey, 2012.
 - iii. J. Lage, S.M. Almeida; M. Pacheco; M.C. Freitas; T. Ribeiro; S. Garcia; J.P. Faria; B.G. Fernández; H.Th. Wolterbeek : Source Apportionment of Trace Elemental Air Pollution by Employing Biomonitoring Techniques. 6th International Workshop on Biomonitoring of Atmospheric Pollution (BIOMAP'12), 15 a 19 de Outubro, Çesme, Izmir, Turkey, 2012.
 - iv. Almeida S. M., Lage J., Freitas M. C., Pedro A. I., Ribeiro T., Silva A. V., Canha N., Almeida-Silva M., Siteo T., Dionisio I., Garcia S., Domingues G., Perim de Faria J., Fernández B. G., Ciaparra D.: Integrated approach for air quality assessment in an industrial area located in the coastal of central Asturias, Spain. International Congress on Environmental Health, 29 de Maio a 1 de Junho, Lisboa, Portugal, 2012.

Apêndice II – Manuscrito Almeida, S.M., Lage, J., Freitas, M.C., Pedro, A.I., Ribeiro, T., Silva, A.V., et al. (2012)

**INTEGRATION OF BIOMONITORING AND INSTRUMENTAL TECHNIQUES
TO ASSESS THE AIR QUALITY IN AN INDUSTRIAL AREA LOCATED IN THE
COASTAL OF CENTRAL ASTURIAS, SPAIN**

Susana Marta Almeida¹, Joana Lage¹, Maria do Carmo Freitas¹, Ana Isabel Pedro¹,
Tiago Ribeiro¹, Alexandra Viana Silva¹, Nuno Canha¹, Marina Almeida-Silva¹, Timóteo Siteo¹,
Isabel Dionísio¹, Sílvia Garcia², Gonçalo Domingues², Julia Perim de Faria³, Beatriz González
Fernández³, Diane Ciaparra⁴, Hubert T. Wolterbeek⁵

¹URSN, IST/ITN, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Sacavém, Portugal

²Instituto de Soldadura e Qualidade, Taguspark, Porto Salvo, Portugal

³Global R&D, ArcelorMittal, Avilés,
Spain

⁴Tata Steel Research, Development and Technology, Swinden Technology Centre,
Moorgate, Rotherham, United Kingdom

⁵Faculty of Applied Sciences, Department of Radiation, Radionuclides and Reactors, Section
RIH

(Radiation and Isotopes in Health), Technical University of Delft, Delft, The Netherlands

Throughout the world, epidemiological studies were established to examine the relationship between air pollution and mortality rates and adverse respiratory health effects. However, despite the years of discussion the correlation between adverse health effects and atmospheric pollution remains controversial, partly because these studies are frequently restricted to small and well-monitored areas. Monitoring air pollution is complex due to the large spatial and temporal variations of pollution phenomena, the high costs of recording instruments, and the low sampling density of a purely instrumental approach. Therefore, together with the traditional instrumental monitoring, bioindication techniques allow for the mapping of pollution effects over wide areas with a high sampling density. In this study, instrumental and biomonitoring techniques were integrated to support an epidemiological study that will be developed in an industrial area located in Gijon in the coastal of central Asturias, Spain. Three main objectives were proposed to (i) analyze temporal patterns of PM₁₀ concentrations in order to apportion emissions sources, (ii) investigate spatial patterns of lichen conductivity to identify the impact of the studied industrial area in air quality, and (iii) establish relationships amongst lichen conductivity with some site-specific characteristics. Samples of the epiphytic lichen *Parmelia sulcata* were transplanted in a grid of 18 by 20 km with an industrial area in the center. Lichens were exposed for a 5-mo period starting in April 2010. After exposure, lichen samples were soaked in 18-M water aimed at determination of water electrical conductivity and, consequently, lichen vitality and cell damage. A marked decreasing gradient of lichens conductivity relative to distance from the emitting sources was observed. Transplants from a sampling site proximal to the industrial area reached values 10-fold higher than levels far from it. This finding showed that lichens reacted physiologically in the polluted industrial area as evidenced by increased conductivity correlated to contamination level. The integration of temporal PM₁₀ measurements and analysis of wind direction corroborated the importance of this industrialized region for air quality measurements and identified the relevance of traffic for the urban area.

We gratefully acknowledge the Research Fund for Coal and Steel (RFCS) for funding the project RFSR-CT-2009-00029 and Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) for funding S. M. Almeida by the Ciencia 2007 program and J. Lage by the PhD fellowship SFRH/BD/79084/2011 and the project PTDC/AAC-AMB/098825/2008.

Address correspondence to Susana Marta Almeida, URSN, IST/ITN, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Estrada Nacional 10, 2686-953 Sacavém, Portugal. E-mail: smarta@itn.pt

Atmospheric particles are important air pollutants that may contain high concentrations of metals known to exert adverse effects not only in plants but also in animals and specifically in humans (Dreher et al. 1997). Epidemiological studies demonstrated an association between atmospheric particles pollution and the number of deaths from cancer and cardiovascular and respiratory diseases (Pope et al. 2002; Yang et al. 2006; Krewski et al. 2005; Samet and Krewski 2007). There is also evidence linking particulate air pollution and increases in hospital admissions for respiratory and cardiovascular diseases (Zanobetti and Schwartz 2005; Wellenius et al. 2006; Middleton et al. 2008; Chiu and Yang 2009; Tsai et al. 2012).

In ideal circumstances in epidemiological studies a dose is related to an effect and the reliable estimations of both dose and effect are of equal importance (Wolterbeek et al. 2010). Atmospheric particles are usually measured instrumentally; however, the instrumental monitoring methodology is necessarily performed by a limited number of sampling stations. As a result, vast areas are not covered by any monitoring system. Compared to conventional instrumental monitoring methods, biomonitoring offers unique advantages, including the ability to perform high-density sampling at any spatial and temporal scales at low cost and the measurement of a wide range of pollutants (Sarmiento et al. 2008). The successful implementation and usefulness of atmospheric biomonitoring are reflected in (1) the large number of biomonitoring surveys performed globally at international (Harmens et al. 2010), national (Freitas et al. 1997), and regional levels (Reis et al. 1999), (2) biomonitoring's widespread use in the identification and characterization of emission sources (Marques et al. 2004), and (3) more recently its application in the realm of human epidemiology (Sarmiento et al. 2008; Martinho and Freitas 2009).

Lichens are often used in biomonitoring studies to indicate geographical variances in airborne substances (Garty 2001; Conti and Cecchetti 2001; Wolterbeek et al. 2002; Jacquot and Daillant 2002). The main assumption in these studies is that with no outer protection barrier, such as the

waxy cuticle that has evolved in vascular plants, the thallus of these organisms is susceptible to penetration by airborne substances, some of which are essential for cell functions, while others may be toxic (Weissman et al. 2006). Lichens possess varying degrees of sensitivity to detrimental effects of pollutants but ultimately succumb to air pollution (Garty et al. 1997).

A key lichen parameter is lichen physiological vitality analyzed by determination of lichen membrane permeability (Garty et al. 1998; 2000; 2001; 2001). Membranes organize the interior of cells into different compartments, and by means of pore size, pumps, and carriers control uptake, release, and relocation of molecules and ions. One main effect of pollution is the disturbance of this organization, thereby changing the membrane permeability to ions with an accompanying loss of electrolytes, particularly of K and Mg (Nash 1996). Although there are several experimental procedures to test the impact of environmental pollution on lichen vitality (Mulgrew and Williams

2000), measuring the conductivity of a leachate with an appropriate electrode is the easiest way of monitoring membrane integrity. Electric conductivity was pointed out as the most sensitive parameter for physiological response to environmental stress, when compared to the Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) (Garty et al. 2000) and chlorophyll degradation, being also related to the whole lichen and not to just the photobiont as are many other parameters (Mulgrew and Williams

2000). Garty et al. (1998) previously showed a link between the content of airborne elements accumulated in lichen transplants and the degradation of cell membranes.

The present study is part of the project "Assessment of Emissions and Impact of Steel Processes (ASEMIS)" funded by the European Commission Research Fund for Coal and Steel (RFCS). Based on the chemical speciation of aerosol filters and on the elemental and physiological characteristics of biomonitors,

this project aimed to (1) characterize the atmospheric particles composition in an industrial area affected by a steel work, a cement factory, and a power plant, (2) identify the contribution of the emission sources to the air quality, and (3) assess the ecological and health impacts of these industries in the region.

MATERIALS AND

METHODS Studied Area

This study was carried out in a part of the north coast of Spain (Figure 1). The studied area was a rectangle of 18 by 20 km (northwest corner 43°34'53'' N, 5°51'07'' W; southeast corner 43°25'24'' N, 5°36'04'' W), with a heavy industrial area in the center. The main anthropogenic point sources in this area are a harbor, a cement factory, a power plant, and a steel work. The selected area included the urban area of Gijón that has 275,699 inhabitants.

S. M. ALMEIDA ET AL

Sampling and Transplantation

Samples of the epiphytic lichen (*Parmelia sulcata*) with their substrate were collected from olive trees at about 1.5 m above the soil in Montargil (39°03'24'' N and 8°10'36'' W) in April 2010. Montargil is a Portuguese rural area considered clean from an air pollution point of view.

Before exposure, 10 lichens were separated randomly as reference base levels. After 1 wk, in total 61 samples with an average of 3.3 g of lichen still attached to their substrate olive bark were suspended, fixed to a nylon rope, at about 1.5 m above the soil in a grid of 2.5 km × 2.5 km, within a rectangle of 18 by 20 km (samples A1 to I8 in Figure 2). In addition, a higher density of lichens was exposed near four main sources of air pollution in the studied area: the stockpiles in the harbor (sample 1), cement industry (sample 2), power plant (samples 3, 4), and steelwork (samples 5–8). Lichens

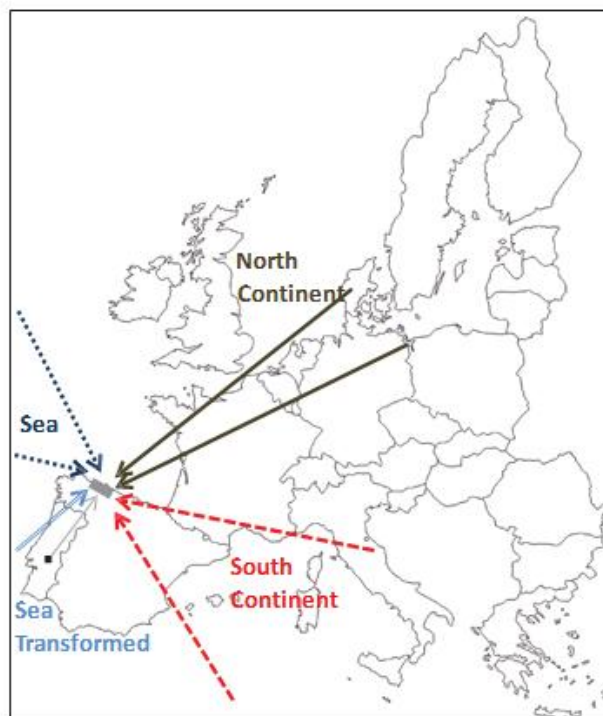


FIGURE 1. Localization of the lichens collection site in Portugal (black circle) and lichens exposure site in Spain, Asturias, and Europe with air mass categorization, based on 4-d backward trajectories obtained from Hysplit model (color figure available online).

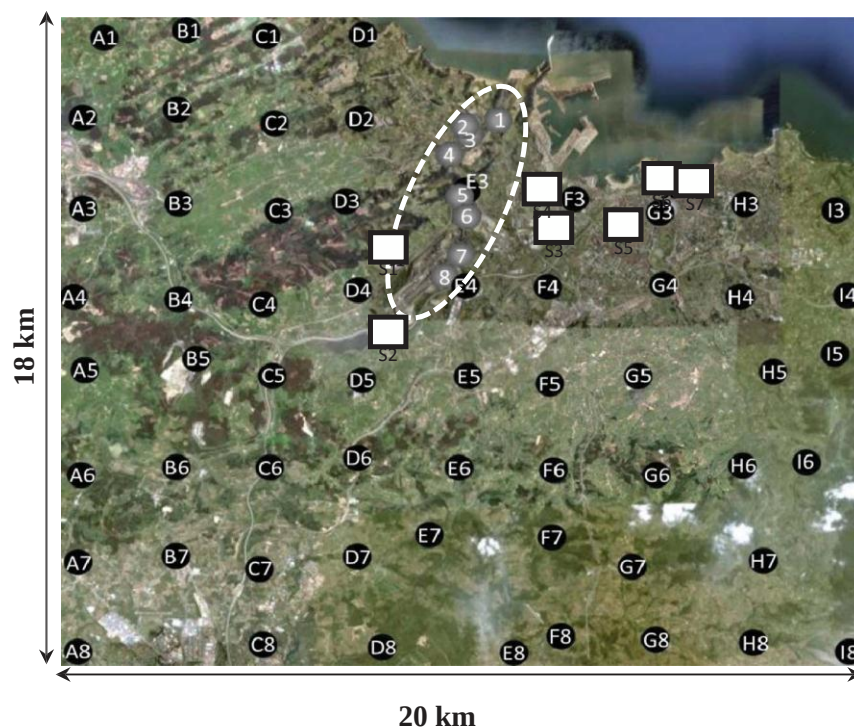


FIGURE 2. Lichens transplants grid (A1–I8) and transplants exposed around the main emission sources (1–8). Localization of the air pollution sampling stations (S1–S7). Industrial area indicated by the oval white line (color figure available online).

were exposed for a 5-mo period, starting April 27, 2010, and ending in September 14, 2010.

Assessment of the Cell Membrane Integrity in Lichen

After exposure, lichen samples in the laboratory were firstly cleaned from dust, leaf debris, fungus contamination, and degraded material. To judge lichen vitality, exposed transplants were soaked in demineralized water, after which water conductivity was determined. The procedure essentially followed approaches developed by Garty et al. (2000): (1) Lichen material was cleaned and rinsed rapidly with demineralized water, 2–3 times for 5 s; (2) after drying, about 1 g was weighed and immersed in 100 ml demineralized water for 1 h; and (3) after removal of the lichens, electric conductivity of the solution was measured with a Conductometer Metrohm 712. Blanks were made by repeating the same procedure without immersing the lichens and were subtracted from conductivity of the sample solution ($0.2 \pm$

0.059 mS m^{-1} on average, $n = 27$). The electric conductivity of the demineralized water was always measured before solution conductivity measurements.

Geostatistics

The spatial distribution pattern of conductivity was determined applying geostatistical methods. Distribution maps were determined by ordinary kriging interpolation. An iteration approach was used in variogram calculation and fitting, based on the following steps (Figueira et al. 2009): (a) calculation of omnidirectional variograms and directional variograms, with 30° intervals, and testing of several lags to improve detection and verification of the spatial structure in order to have enough pairs of points in each variogram lag (at least 10 pairs); (b) verification of the existence of anisotropy; and (c) adjustment of spherical variogram models, considering half the maximum length of the domain as the range significant

for the spatial structure. The model adjustment was verified by visual inspection, and by cross-validation, with readjustment of the variogram model, in order to improve the cross-validation results. Experimental variograms and fitting models were determined using GeoMS (CMRP 2000).

Meteorological Data

TAPM was used for the meteorological modeling. TAPM is a three-dimensional (3D), nestable, prognostic meteorological and air pollution model, controlled by a graphical user interface (Hurley et al. 2001). Initial and boundary conditions for TAPM were taken from the U.S. National Centers for Environmental Prediction (NCEP). For the current study, meteorological data was acquired for the coordinate 43°31'30" N and 5° 43' 60" W, which is located in the center of the industrial area.

Air Quality Sampling Stations

This study used PM₁₀ measurements obtained from seven air automatic monitoring stations (see localization in Figure 2). Stations S1–S3 belong to the local industries, whereas stations S4–S7 belong to the Air Quality Monitoring Network managed by the Asturias Principality (<http://www.asturias.es>).

Air Mass Trajectories

A large-scale air mass origin was daily interpreted using the Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectories (HYSPLIT4) model (<http://www.arl.noaa.gov/ready/open/hysplit4.html>) (Draxler and Rolph 2003), with vertically modeled transport back-trajectories being calculated for 4 d at 50, 500, and 1000 m height. These interpretations were coupled with information obtained from the air monitoring sampling stations.

According to the backward trajectories, air masses arriving at the studied area during the sampling campaign were classified into five main groups (Figure 1): “Sea”—if backward trajectories indicated an ocean origin, without continental contamination, during the previous

4 d; “Sea Transformed”—if backward trajectories indicated an ocean origin, with a final recirculation through the Iberian Peninsula; “South Continent”—if backward trajectories indicated an African or Southern Europe origin; “North Continent”—if backward trajectories indicated an origin in the North or Centre of Europe; and “Other”—if trajectories could not be included in any of the categories previously established.

Statistical Treatment

Statistical calculations were performed using STATISCA software. The Wilcoxon matched pairs test and Mann–Whitney *U*-test were used. These tests are nonparametric—hence they do not consider any assumptions related to the distribution—and basically are the same in that they compare between two medians to suggest whether or not both samples come from the same population.

When both of the samples were not entirely independent of each other and had some factor in common, the Wilcoxon matched pairs test was applied (differences between PM₁₀ concentrations measured in different sampling stations). When the samples were independent Mann–Whitney *U*-test was applied (differences between PM₁₀ concentrations associated with different air mass trajectories and different week days). Statistical significance refers to $p < .05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Integrity of Lichens Cell Membrane

Reference base levels of electric conductivity were determined for 10 lichens. These lichens were not transplanted but collected in the same area and on the same day as transplanted ones. The average of the conductivity levels for the reference lichens was $7.4 \pm 1.9 \text{ mS m}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ($n = 0$).

Figure 3 presents the conductivity levels measured in lichens from the grid and in lichens exposed around the main industries. Results showed that the values of conductivity from the transplants were significantly higher than those

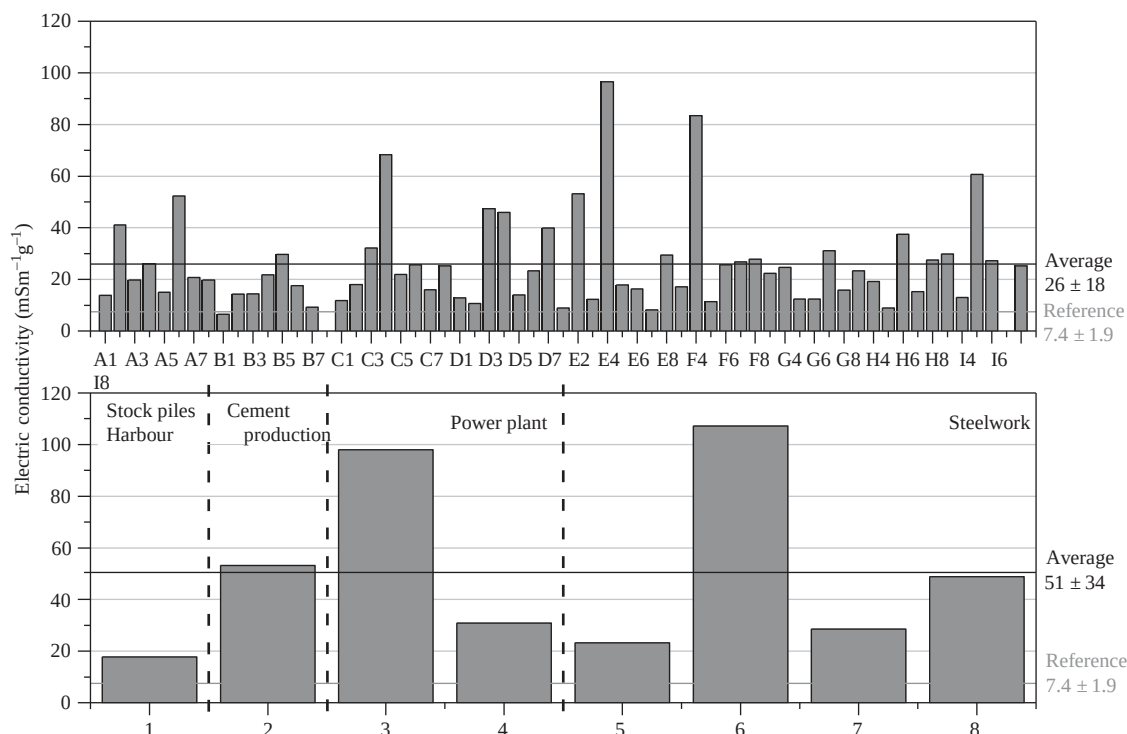


FIGURE 3. Conductivity levels measured in the transplanted lichens (values in $\text{mS m}^{-1} \text{g}^{-1}$). Reference line corresponds to conductivity value measured in nonexposed lichens.

measured in the 10 lichens selected as reference base levels, indicating that membrane permeability may have been compromised. There is a marked difference between exposure sites, with higher values for lichens exposed near the main emission sources (average $51 \pm 34 \text{ mS m}^{-1} \text{g}^{-1}$). The average of the conductivities measured in the lichens from the grid was $26 \pm 18 \text{ mS m}^{-1} \text{g}^{-1}$.

In order to identify the principal contaminated areas by conductivity measurements, a map of its distribution was made after geostatistical interpolation of values. Figure 4 shows that high conductivity values were obtained in a triangle that has the industrial area in the center. The conductivity levels in this area reached values 10-fold higher than the ones registered in nearby zones.

Results show that there is an exponential decrease in conductivity values with increasing distance from the industrial area. In the area close to the industries, the slope of the curve is steep and has a decrement with increasing distance from the point. A transplant from a sampling site close to the industrial area and

another further from it show large differences in conductivities. The farther the site is from the focal point, the smaller is the difference in conductivities between the two sites being compared and the more difficult it is to detect the presence of pollution. Other studies described this exponential behavior (González-Miqueo et al. 2010; Türkan et al. 1995; Brümelis et al. 1999).

The highest conductivity levels were recorded in the transplants located southeast and southwest from the industrial area. Figure 5 presents the wind rose for a coordinate located in the center of the industrial area, and shows that during the lichens exposure the wind blew principally from the first and fourth quadrant. This wind rose shows the importance of the wind direction in the dispersion of the pollutants, once the spatial patterns of conductivity agree with these prevailing winds. However, as the wind blew predominantly and with higher intensity from the east, highest conductivity levels would be expected in the left side of the

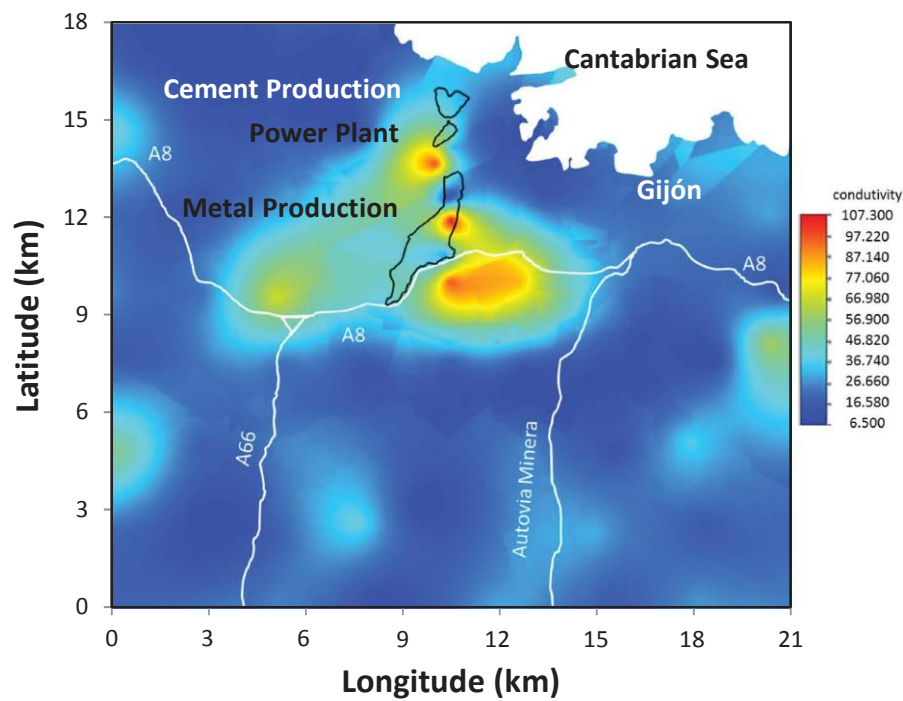


FIGURE 4. Spatial pattern of the conductivity levels (values in mS m⁻¹ g⁻¹) (color figure available online).

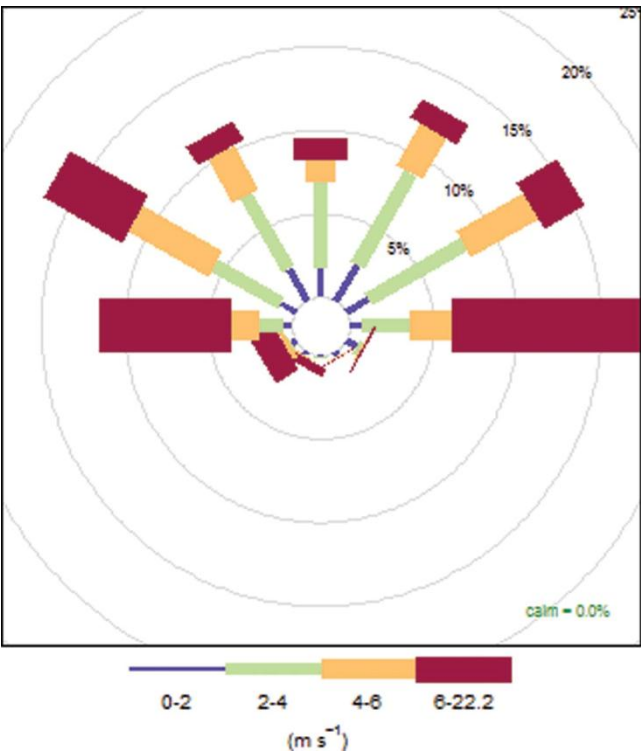


FIGURE 5. Wind rose for the exposure period (April 27, 2010–September 14, 2010) (color figure available online).

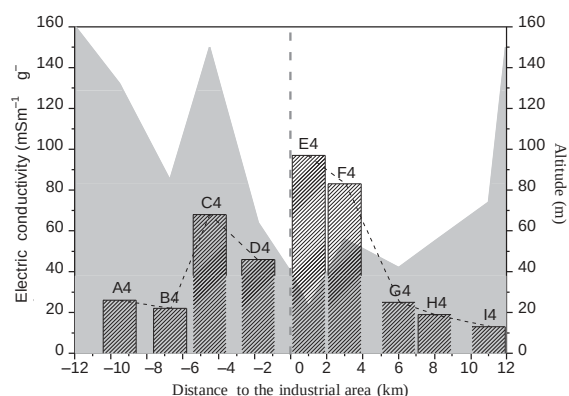


FIGURE 6. Sampling point altitude and conductivity values regarding the distances from each sampling point to the pollution source and in an east-west transect.

industrial area. Figure 5, however, shows an opposite behavior.

In order to understand this phenomenon, Figure 6 presents the conductivity values regarding the distances from each sampling point to the pollution source in an east-west transect made at the base of the identified triangle. The same graph presents the altitudes of the sampling points in same transect. Results not only demonstrated that the industrial area is in a valley but also showed that in the right side of the industries the altitude was lower. This finding suggests that there is promotion of dispersion of pollutants in the east direction, raising highest conductivity levels in samples E4 and F4.

The highest values were obtained next to the industrial area, but a second high peak was also observed in the left side of the emission area. A possible hypothesis points to the fact that this distance is where smoke from chimneys impacts on the slope of the mountain. However, further modeling studies are needed to test this assumption. A similar behavior was found by González-Miqueo et al. (2010) in a study made in the surroundings of two steel works with native mosses.

PM₁₀ Levels

Seven automatic air monitoring stations were located in the studied area. Figure 7 presents the PM₁₀ concentrations measured in were 24, 25, 27, and 34 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, respectively. PM₁₀ average concentrations in S1 and S3 were

these stations during lichens exposure. Results shows that the highest PM₁₀ concentrations were registered in stations S1 and S3 (average 45 and 47 m^{-3} , respectively, and without significant differences) followed by S2 (average 39 m^{-3}). These sampling stations not only are the closest to the industrial area but also are located within the more polluted area identified by the lichens. Stations S4–S7 were placed in the urban area and average concentrations above the EU annual PM₁₀ standard of 40 m^{-3} (European Directive 2008/50/EC). All the stations exceeded the World Health Organization (WHO) annual average limit concentration (20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) established for PM₁₀, indicating that this area might represent a health risk for the population.

Figure 8 intended to illustrate information about the wind direction and the PM₁₀ concentrations. The wind rose and the Mann–Whitney *U*-test showed that in stations S1 and S2, PM₁₀ presented a significant higher concentration when wind blew from the east, whereas in stations S4 and S5 significantly higher concentrations were registered for the direction from the west. In the other stations no significant differences between wind directions were found. These results corroborate not only the importance of this industrial area for the PM₁₀ concentrations but also the existence of a relation between PM₁₀ concentrations and the damage of the lichen's cell membrane.

Considering that road traffic is strongly reduced at weekends due to the absence of commuter traffic, the analysis of the variability between working days and weekends provided a better insight into the sources of atmospheric particulate matter in the studied region and principally to quantify the additional aerosol input by road traffic (Almeida et al. 2006a). Stations S4 and S7 presented significantly higher PM₁₀ concentrations at weekdays than weekends. Road traffic activity therefore contributed to particulate contamination of the urban atmosphere in Gijón, either in the form of fine particles resulted from direct and precursor emissions from engine combustion,

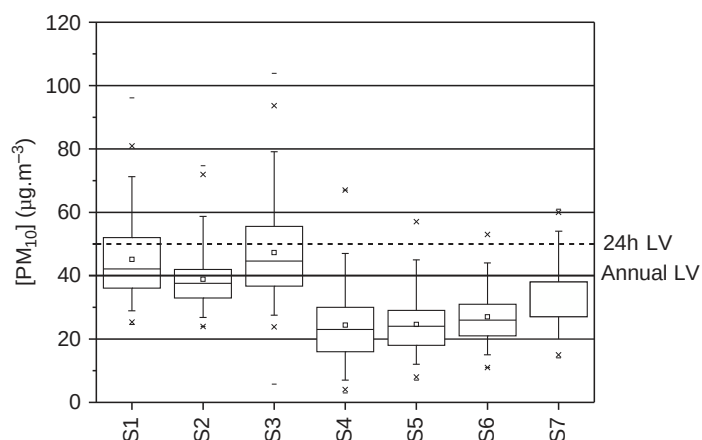


FIGURE 7. PM_{10} concentrations measured in the sampling stations S1–S7 during the exposure period. Box plot present the minimum, P_1 , P_{25} , P_{50} , P_{75} , P_{99} , maximum, and average (square) (values in m^{-3}).

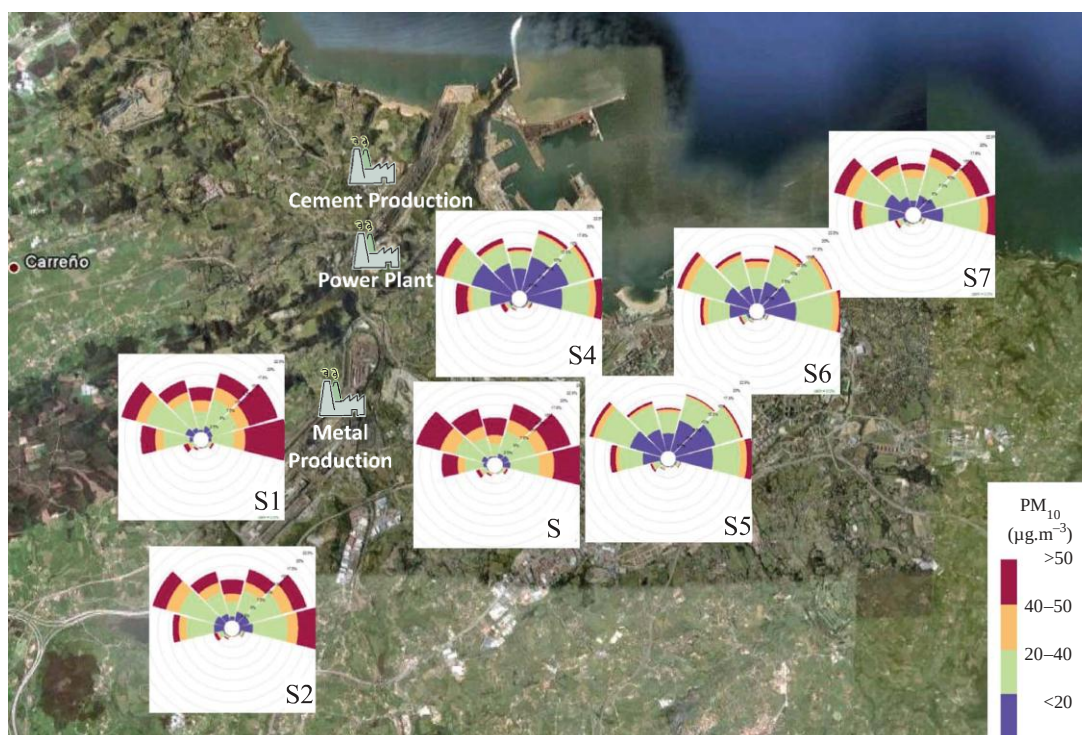


FIGURE 8. Wind pollution roses for PM_{10} and for the sampling stations S1–S7 (color figure available online).

or as coarse particles produced from tire and brakes wear or resuspended from road dust (Almeida et al. 2006b). At other stations no significant differences were observed between weekdays, probably because traffic is not the main source of particles.

The studied area was markedly affected by maritime aerosol: either by pure sea trajectories (43%) or by ocean origin trajectories, with a

final recirculation through the Iberian Peninsula (18%). In order to assess the influence of the different air mass trajectories for the aerosol, Figure 9 shows the average PM_{10} concentrations discriminated between air mass trajectories during lichen exposure. Results show that samples associated with air mass trajectories

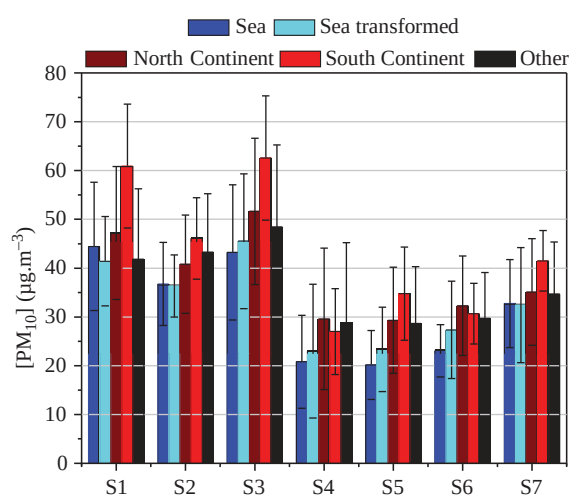


FIGURE 9. PM₁₀ average concentrations discriminated by air mass type for the sampling stations S1–S7 (values in m⁻³) (color figure available online).

provided from the sea presented significantly lower PM₁₀ concentrations compared with samples associated with South Continental (except for S4 with $p = .06$) and North Continental (except for S1 with $p = .35$ and S7 with $p = .48$) air masses. Maritime air mass trajectories are usually associated with the transport of cleaner air masses from the Atlantic Ocean and with better dispersion conditions of pollutants provided from the industrial area (Almeida et al. 2005; 2009). These conditions promote a lower contribution from anthropogenic sources.

CONCLUSIONS

This study represents the first step of an epidemiological study that aimed to establish a correlation between air pollution, sources, and health impacts by integrating biomonitoring and instrumental techniques. Results indicated that the studied industrial area presented a concern in terms of air quality and negative impacts on human health, as PM₁₀ concentrations exceeded the WHO limit values. The integration of temporal PM₁₀ measurements and analysis of wind direction corroborate the importance of this industrialized area for the air quality and identify the relevance of traffic for the urban area of Gijon. Maritime air mass transport plays a significant role in particulate

air quality in this region. Maritime transport scenarios are frequent and promote the decrease of particles. The analysis of lichens' conductivity allowed the identification of areas of major impact, as transplants worked as an environmental sensor. Results indicated the existence of high levels of conductivity in the surroundings of the industrial area when compared with the reference values, revealing the existence of a physiological response to environmental stress. A marked decreasing gradient of lichen conductivity relative to the distance from the emitting sources was observed.

REFERENCES

- Almeida, S. M., Pio, C. A., Freitas, M. C., Reis, M. A., and Trancoso, M. A. 2005. Source apportionment of fine and coarse particulate matter in a sub-urban area at the Western European Coast. *Atmos. Environ.* 39: 3127–3138.
- Almeida, S. M., Pio, C. A., Freitas, M. C., Reis, M. A., and Trancoso, M. A. 2006a. Source apportionment of atmospheric urban aerosol based on weekdays/weekend variability: Evaluation of road re-suspended dust contribution. *Atmos. Environ.* 40: 2058–2067.
- Almeida, S. M., Pio, C. A., Freitas, M. C., Reis, M. A., and Trancoso, M. A. 2006b. Approaching PM_{2.5} and PM_{2.5–10} source apportionment by mass balance analysis, principal component analysis and particle size distribution. *Sci. Total Environ.* 368: 663–674.
- Almeida, S. M., Freitas, M. C., Repolho, C., Dionísio, I., Dung, H. M., Pio, C. A., Alves, C., Caseiro, A., and Pacheco, A. M. G. 2009. Evaluating children exposure to air pollutants for an epidemiological study. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 280: 405–409.
- Brūmelis, G., Brown, D. H., Nikodemus, O., and Tjarve, D. 1999. The monitoring and risk assessment of zinc deposition around a metal smelter in Latvia. *Environ. Monitor. Assess.* 58: 201–212.

- Chiu, H.-F., and Yang, C.-Y. 2009. Air pollution and emergency room visits for arrhythmias: Are there potentially sensitive groups? *J. Toxicol. Environ. Health A* 72: 817–823.
- Conti, M. E., and Cecchetti, G. 2001. Biological monitoring: Lichens as bioindicators of air pollution assessment—A review. *Environ. Pollut.* 114: 471–492.
- CMRP. 2000. GeoMS-Geostatistical Modeling System. Lisboa, Portugal: Centro de Modelação de Recursos Petrolíferos, Instituto Superior Técnico.
- Draxler, R. R., and Rolph, G. D. 2003. HYSPLIT (HYbrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory) Model. NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD. Available at <http://www.arl.noaa.gov/ready/hysplit4.html>
- Dreher, K. L., Jaskot, R. H., Lehmann, J. R., Richards, J. H., McGee, J. K., Ghio, A. J., and Costa, D. L. 1997. Soluble transition metals mediate residual oil fly ash induced acute lung injury. *J. Toxicol. Environ. Health* 50: 285–305.
- Figueira, R., Tavares, P.C., Palma, L., Beja, P., and Sérgio, C. 2009. Application of indicator kriging to the complementary use of bioindicators at three trophic levels. *Environ. Pollut.* 157: 2689–2696.
- Freitas, M. C., Reis, M. A., Alves, L. C., Wolterbeek, H. T., Verburg, T., and Gouveia, M. A. 1997. Bio-monitoring of trace-element air pollution in Portugal: Qualitative survey. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 217: 21–30.
- Garty, J., Cohen, Y., Kloog, N., and Karnieli, A. 1997. Air pollution on cell membrane integrity, spectral reflectance and metal and sulfur concentrations in lichens. *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 1396–1402.
- Garty, J., Cohen, Y., and Kloog, N. 1998. Airborne elements, cell membranes, and chlorophyll in transplanted lichens. *J. Environ. Qual.* 27: 973–979.
- Garty, J., Weissman, L., Tamir, O., Beer, S., Cohen, Y., Karnieli, A., and Orlovsky, L. 2000. Comparison of five physiological parameters to assess the vitality of the lichen *Ramalina lacera* exposed to air pollution. *Physiol. Plant.* 109: 41.
- Garty, J. 2001. Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: Theory and application. *Crit. Rev. Plant Sci.* 20: 309–371.
- Garty, J., Weissman, L., Cohen, Y., Karnieli, A., and Orlovsky, L. 2001. Transplanted lichens in and around the Mount Carmel National Park and the Haifa Bay industrial region in Israel: Physiological and chemical responses. *Environ. Res. A* 85: 159–176.
- González-Miqueo, L., Elustondo, D., Lasheras, E., and Santamaría, J. M. 2010. Use of native mosses as biomonitors of heavy metals and nitrogen deposition in the surroundings of two steel works. *Chemosphere* 78: 965–971.
- Harmens, H., Norris, D.A., Steinnes, E., Kubin, E., and Pilspanen, J. 2010. Mosses as biomonitors of atmospheric heavy metal deposition: spatial patterns and temporal trends in Europe. *Environ. Pollut.* 158: 3144–3156.
- Hurley, P. J., Blockley, A., and Rayner, K. 2001. Verification of a prognostic meteorological and air pollution model for year-long predictions in the Kwinana: Industrial region of Western Australia. *Atmos. Environ.* 33: 1871–1880.
- Jacquot, L., and Daillant, O. 2002. Bio-accumulation of heavy metals, trace elements and radioelements, review—Part III. Observations Mycologiques. *Bull. Observ. Mycologique*, number 19. France.
- Krewski, D., Burnett, R., Jerrett, M., Pope, C. A., Rainham, D., Calle, E., Thurston, G., and Thun, M. 2005. Mortality and long-term exposure to ambient air pollution: Ongoing analyses based on the American Cancer Society cohort. *J. Toxicol. Environ. Health A* 68: 1093–1109.
- Marques, A. P., Freitas, M. C., Reis, M. A., Wolterbeek, H. T., and Verburg, T. 2004. MCTTFA applied to differential biomonitoring in Sado estuary region. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 259: 35–40.
- Martinho, M., and Freitas, M. C. 2009. Spatial regression analysis between air pollution and childhood leukaemia in Portugal. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 281: 175–179.
- Middleton, N., Yiallourous, P., Kleanthous,

- Kolokotroni, O., Schwartz, J., Dockery, D.S., W., Demokritou, P., and Koutrakis, P. 2008. A 10-year time-series analysis of respiratory and cardiovascular morbidity in Nicosia, Cyprus: The effect of short-term changes in air pollution and dust storms. *Environ. Health* 7: 39.
- Mulgrew, A., and Williams, P. 2000. Biomonitoring of air quality using plants. Air hygiene report 10. WHO Collaborating Centre for Air Quality Management and Air Pollution Control, Federal Environmental Agency, Berlin, Germany.
- Nash, T. H. 1996. *Lichen biology*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Pope, C. A., Burnett, R. T., Thun, M. J., Calle, E. E., Krewski, D., Ito, K., and Thurston, G. D. 2002. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *J. Am. Med. Assoc.* 287: 1132–1141.
- Reis, M. A., Freitas, M. C., Alves, L. C., Marques, A. P., and Costa, C. 1999. Environmental assessment in an industrial area of Portugal. *Biol. Trace Element Res.* 71: 273–280.
- Samet, J., and Krewski, D. 2007. Health effects associated with exposure to ambient air pollution. *J. Toxicol. Environ. Health A* 70: 227–242.
- Sarmiento, S., Wolterbeek, H. T., Verburg, T. G., and Freitas, M. C. 2008. Correlating element atmospheric deposition and cancer mortality in Portugal: Data handling and preliminary results. *Environ. Pollut.* 151: 341–351.
- Tsai, S. S., Chen, P. S., Yang, Y. H., Liou, S. H., Wu, T. N., Sung, F. C., and Yang, C. Y. 2012. Air pollution and hospital admissions for myocardial infarction: Are there potentially sensitive groups? *J. Toxicol. Environ. Health A* 75: 242–251.
- Türkan, I., Henden, E., Çelic, Ü., and Kivilcim, S. 1995. Comparison of moss and bark samples as biomonitors of heavy metals in a highly industrialized area in Izmir, Turkey. *Sci. Total Environ.* 166: 61–67.
- Weissman, L., Fraiberg, M., Shine, L., Garty, J., and Hochman, A. 2006. Responses of antioxidants in the lichen *Ramalina lacera* may serve as an early-warning bioindicator system for the detection of air pollution stress. *FEMS Microbiol. Ecol.* 58: 41–53.
- Wellenius, G. A., Schwartz, J., and Mittleman, M. A. 2006. Particulate air pollution and hospital admissions for congestive heart failure in seven United States cities. *Am. J. Cardiol.* 97: 404–408.
- Wolterbeek, B., Sarmiento, S., and Verburg, T. 2010. Is there a future for biomonitoring of elemental air pollution? A review focused on a larger-scaled health-related (epidemiological) context. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 286: 195–210.
- Wolterbeek, H. T., Garty, J., Reis, M. A., and Freitas, M. C. 2002. “Biomonitoring in use: Lichens and metal air pollution.” *Bioindicators and Biomonitors* edited by, B. A. Markert, A. M. Breure, and H. G. Zechmeister, 377–419. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier Science.
- Yang, C.-Y., Hsieh, H.-J., Tsai, S.-S., Wu, T.-N., and Chiu, H.-F. 2006. Correlation between air pollution and postneonatal mortality in a subtropical city: Taipei, Taiwan. *J. Toxicol. Environ. Health A* 69: 2033–2040.
- Zanobetti, A., and Schwartz, P. 2005. The effect of particulate air pollution on emergency admissions for myocardial infarction: A multicity case-crossover analysis. *Environ. Health Perspect.* 113: 978–982.

Apêndice III – Abstracts de comunicações científicas.

a. ICEH - International Congress on Environmental Health, 29 de Maio a 1 de Junho, Lisboa, Portugal, 2012

Geospatial distribution of trace element air pollution in the North of Spain using biomonitors

J. Lage^{*1}; S.M. Almeida¹; M. Pacheco²; M.C. Freitas¹; T. Ribeiro¹; S. Garcia³; J.P. Faria⁴; B.G. Fernández⁴; H.Th. Wolterbeek⁵

¹ ITN-IST, Portugal; ² Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Portugal;

³ Instituto de Soldadura e Qualidade, Portugal; ⁴ Global R&D – ArcelorMittal, Spain;

⁵ Delft University of Technology, The Netherlands

*joanalage@itn.pt

Monitoring of elemental atmospheric pollution is essential due to its impact on both ecosystem performance and human health. Source apportionment is regarded as an important parallel result in order to establish air pollution control programmes. Biomonitoring techniques can be advantageously used to indicate geographical related variances in trace element air pollution and to identify emission sources, with a reduced infra-structure and manpower costs associated with the survey of large areas.

The aim of this study was to combine biomonitoring techniques with geographic information systems (GIS) in order to assess the impact of an industrial area from the North of Spain onto the air quality.

Samples of the epiphytic lichen *Parmelia sulcata* were collected from olive trees in an unpolluted Portuguese rural area (Montargil, Portugal) and transplanted to the north of Spain, in a grid of 18 km per 20 km, having an industrial area at its centre. In addition, a higher density of lichens was exposed near the three main sources of air pollution in the studied area – a cement mill, a power plant and a steelwork. Lichens were exposed during 5 months, starting in April and ending in September 2010. After exposure the technique Instrumental Neutron Activation Analysis, using the k_0 methodology, was used to determine the concentrations of the elements Al, As, Br, Ca, Cl, Cu, Fe, I, La, Na, Sb, Sc, Sm, V and Zn.

The spatial distribution pattern of the elements concentrations was modelled using the programme ArcGIS 10. Based on samples results, continuous surfaces of elements distributions estimations were obtained using an inverse distance weighted (IDW) interpolation technique. The GIS provided the framework for geospatial integration of elements concentrations distribution, land topography, land use and existing roads, making it possible to evaluate the spatial correlation between them.

Results showed that some elements presented a similar spatial distribution. Three main types of patterns were identified indicating the existence of three principal types of sources: the soil identified by the elements Al, Sc, La and Sm; the sea identified by Na, Cl, I, Br and

the anthropogenic sources associated with Sb, Fe, V, As, Zn and Cu. For the anthropogenic elements, an exponential decrease in the concentrations with increasing distance from the industrial area was observed. The spatial integration of these data (topography and element concentration) emphasised the importance of the topography in the pollutant dispersion

b. 6th International Workshop on Biomonitoring of Atmospheric Pollution (BIOMAP'12), 15 a 19 de Outubro, Çesme, Izmir, Turkey, 2012

Combining Biomonitoring Techniques and Geographic Information Systems to Assess Air Pollution

J. LAGE¹, S.M. ALMEIDA¹; M. PACHECO²; M.C. FREITAS¹; T. RIBEIRO¹; S. GARCIA³; J.P. FARIA⁴; B.G. FERNÁNDEZ⁴; H.Th. WOLTERBEEK⁵

¹ITN-IST; Estrada Nacional 10, 2686-953 Sacavém- Portugal; joanalage@itn.pt; smarta@itn.pt

²Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande, 376, 1749 - 024 Lisboa- Portugal; miguelbessapacheco@gmail.com

³ Instituto de Soldadura e Qualidade, Portugal

⁴ Global R&D – ArcelorMittal, Spain

⁵ Delft University of Technology, The Netherlands

The aim of this study was to combine biomonitoring techniques with geographic information systems (GIS) in order to assess the impact of an industrial area from the North of Spain on the air quality.

Samples of the epiphytic lichen *Parmelia sulcata* were collected from olive trees in an unpolluted Portuguese rural area (Montargil, Portugal) and transplanted to the north of Spain, in a grid of 18 km per 20 km, having an industrial area at its centre. In addition, a higher density of lichens was exposed near the three main sources of air pollution in the studied area – a cement mill, a power plant and a steelwork. Lichens were exposed during 5 months, starting in April and ending in September 2010. After exposure the technique Instrumental Neutron Activation Analysis, using the k_0 methodology, was used to determine the concentrations of the elements Al, As, Br, Ca, Cl, Cu, Fe, I, La, Na, Sb, Sc, Sm, U, V and Zn.

The spatial distribution pattern of the elements concentrations was modelled using the programme ArcGIS 10. Based on samples results, continuous surfaces of elements distributions were estimated using an inverse distance weighted (IDW) interpolation technique.

The GIS provided the framework for geospatial integration of elements concentrations, land topography, land use and existing roads. This approach contributed for the identification of emission sources and for the assessment of the topography effect in the dispersion of pollutants.

Keywords: Lichens, Biomonitoring, Trace elements, Geospatial distribution, INAA

c. 6th International Workshop on Biomonitoring of Atmospheric Pollution (BIOMAP'12), 15 a 19 de Outubro, Çesme, Izmir, Turkey, 2012

Source Apportionment of Trace Elemental Air Pollution by Employing Biomonitoring Techniques

J. LAGE¹, S.M. ALMEIDA; M. PACHECO²; M.C. FREITAS¹; T. RIBEIRO¹; S. GARCIA³; J.P. FARIA⁴; B.G. FERNÁNDEZ⁴; H.Th. WOLTERBEEK⁵

¹ITN-IST; Estrada Nacional 10, 2686-953 Sacavém- Portugal; joanalage@itn.pt; smarta@itn.pt

² Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande, 376, 1749 - 024 Lisboa- Portugal; miguelbessapacheco@gmail.com

³ Instituto de Soldadura e Qualidade, Portugal

⁴ Global R&D – ArcelorMittal, Spain

⁵ Delft University of Technology, The Netherlands

Monitoring of elemental atmospheric pollution is essential due to its impact on both ecosystem performance and human health. Source apportionment is regarded as an important parallel issue in order to establish air pollution control programmes. Biomonitoring techniques can be advantageously used to indicate geographical related variances in trace element air pollution and to identify emission sources, with a reduced infrastructure and manpower costs associated with the survey of large areas.

The objective of this study was to assess the contribution of natural and anthropogenic emission sources to the levels of trace elements in the atmosphere of an industrial region (that includes a power plant, a steelwork, a cement mill and a harbor) placed in the North of Spain.

The epiphytic lichens *Parmelia sulcata* were used as passive biomonitors to evaluate the relation between elemental accumulation and emission sources. Lichens were collected in olive trees from a considered unpolluted zone in Portugal and transplanted to the studied area in a grid of 18 km per 20 km (n=68). After an exposure of five months (since April to September of 2010), the concentrations of the elements Al, As, Br, Ca, Cl, Cu, Fe, I, K, La, Na, Sb, Sc, Sm, U, V and Zn were determined in transplanted lichens by the technique Instrumental Neutron Activation Analysis using the k_0 methodology.

Principal Component Analysis combined with Multilinear Regression Analysis were subsequently applied in order to assess the contribution of local emission sources for these elements. Results showed that multiple sources influenced the total variance of trace elements concentrations: the soil (Al, Fe, La, Sc, Sm), the sea (Cl, I, Na), the traffic (Br, K, Sb and Zn) and the industry (Al, As, Cu, V and Zn).

Keywords: Biomonitoring, Lichens, Trace elements, INAA, Source apportionment

Anexos

Anexo I – Procedimento experimental de colheita e preparação de líquenes.

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_8_1_PT 02/2010
URSN	Colheita e Preparação de Líquenes	Página 1 de 2
NANE		

Objectivo:

Procedimento de colheita de líquenes e respectiva preparação laboratorial para análises em INAA.

1 – Normas Gerais:

- Usar sempre luvas latéx (sem pó);
- Manusear as amostras sempre com material de plástico;
- **Não** usar material metálico no manuseamento das amostras;
- A identificação de amostras deve ser realizada segundo uma nomenclatura previamente acordada e que não dê azo a erros de interpretação por terceiros.

2 – Material e Reagentes:

- Sacos de Plástico limpos
- Pá
- GPS
- Máquina Fotográfica
- Solução HCl 0.1M
- Balança
- Liofilizador
- Moinho Mikro-Dismembrator U

Elaborado por:
Catarina Galinha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_8_1_PT 02/2010
URSN	Colheita e Preparação de Líquenes	Página 2 de 2
NANE		

3 – Procedimento:

A) No Campo

1. No local de cada amostragem devem ser obtidas as coordenadas exactas (para posterior geo-referenciação), tirar fotografias ao local de amostragem, bem como às amostras colhidas;
2. Identificar a amostra com recurso a etiqueta ou impressão directa no saco;
4. Deverá recolher-se uma amostra do solo do mesmo local onde se fez a amostragem dos líquenes para posterior comparação e cálculo de factores de enriquecimento;
5. Todas as amostragens realizadas no campo devem ser registadas num caderno de campo que deverá conter as informações sobre o local (nome, coordenadas), tipo de amostra colhida e respectivas identificações, além de outras características consideradas relevantes.

B) No Laboratório

1. Remover detritos agarrados aos líquenes, como restos de folhas, material degradado e pó;
2. Lavar os líquenes através da passagem rápida com água destilada, 2 a 3 vezes durante 5 segundos e deixar secar durante 12h.
3. Depois de seco, efectuar a liofilização dos líquenes (ver procedimento de liofilização);
5. Pesas as amostras depois de liofilizadas e registar;
6. Em seguida deve ser efectuada a moagem da matéria de forma a homogeneizá-la (ver procedimento de moagem de amostras).
7. Depois do material homogeneizado, colocar os líquenes moídos em contentores de adequado e devidamente acondicionados.

4 – Lavagem do Material:

1. Lavar todo o material utilizado com água corrente e detergente;
2. Deixar em solução de ácido nítrico a 50% durante pelo menos 2 horas;
3. Depois de escorrido, enxaguar com água destilada e colocar na estufa a 30°C a secar.

Elaborado por:
Catarina Galinha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Anexo II – Procedimento experimental de liofilização

 Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_8_1_PT 02/2010
URSN	Liofilização	Página 1 de 2
NANE		

Objectivo:

Liofilização de amostras.

1 – Normas Gerais:

- A) Usar sempre luvas látex (sem pó)
- B) Manusear as amostras sempre com material de plástico
- C) Não usar material metálico no manuseamento das amostras

2– Material e Reagentes:

- D) Liofilizador *Edwards*



Figura 1 – Liofilizador Edwards

Elaborado por:
Catarina Galinha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_8_1_PT 02/2010
URSN	Liofilização	Página 2 de 2
NANE		

3 – Procedimento:

A) Iniciar a liofilização

1. Verificar se as borrachas precisam de um pouco de vaselina, de modo a ficarem bem vedadas;
2. Colocar as amostras congeladas dentro dos sacos e/ou frascos abertos, na campânula a utilizar;
3. Ligar o interruptor que liga o frio do equipamento (botão 1 da figura 1);
4. Fechar a torneira 2 (da figura 1);
5. Ligar a bomba que está ligada ao equipamento;
6. Registar os dados de início da liofilização na folha de registos que se encontra no dossier ao lado do liofilizador;

B) Finalizar a liofilização

7. Desligar a bomba que está ligada ao equipamento;
8. Abrir lentamente a torneira 2 (Figura 1);
9. Desligar o botão 1 (Figura 1);
10. Retirar os sacos e/ou frascos com amostras e fechá-los bem;
11. Reservar em local fresco e seco (se possível dentro de exsicador);
12. Registar os dados do fim da liofilização na folha de registos que se encontra no dossier ao lado do liofilizador;
13. Deixar todo o equipamento limpo.

Elaborado por:
Catarina Galinha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Anexo III – Procedimento experimental de moagem de amostras

 Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_3_2_PT 02/2010
URSN NANE		Página 1 de 2

Objectivo:

Moagem de amostras biológicas, nomeadamente biomonitores, cascas de árvore, produtos alimentares, plantas entre outros.

1 – Normas Gerais:

- Usar sempre luvas (sem pó)
- Manusear as amostras sempre com material de plástico
- **Não** usar material metálico no manuseamento das amostras

2- Material:

- moinho Mikro-Dismembrator U
- pinça grande
- colher de plástico
- recipiente (tubos com tampa acoplada grande)
- pinça de plástico
- recipiente em esferovite para colocar o azoto
- cápsula de teflon
- 2 esferas de teflon

3– Procedimento:

- E) Ligar o moinho a 1500 rpm e seleccionar o tempo de moagem (3 a 5 minutos);
Nota: O tempo da moagem não deverá ser superior a 5 minutos (tempo de descongelação da amostra).
- F) Pesar o recipiente onde se vai guardar a amostra moída;
- G) Registrar a massa do recipiente;
- H) Colocar uma pequena porção do material a moer dentro da cápsula de teflon, juntamente com as 2 esferas;
- I) Fechar bem a cápsula com a tampa de rosca;
- J) Mergulhar a cápsula em azoto líquido durante 1-2 minutos;
Nota: Quando deixar de borbulhar significa que o material já se encontra congelado.
- K) Retirar a cápsula do azoto com a ajuda de uma pinça grande;
- L) Ajustar a cápsula no moinho e, após verificar se as rotações e o tempo pré-programado estão de acordo com o pretendido, ligar o aparelho;
Atenção: Ter cuidado no manuseamento com o azoto líquido, perigo de queimaduras.
- M) Se a amostra moída se encontrar sob a forma de um pó fino, transferi-la para o recipiente apropriado e previamente pesado. Caso contrário repetir os passos 5 a 8.

Elaborado por:
Catarina Galinha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 01/03/2010

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_3_2_PT 02/2010
URSN	Moagem de amostras	Página 2 de 2
NANE		

- N) Repetir os passos 4 a 9 até toda a amostra estar moída;
- O) Pesar o recipiente com a amostra e registar, para se poder determinar a massa total de amostra;
- P) Selar a rosca do recipiente com parafilme, e colocá-lo num excicador.

3 – Lavagem do Material:

- A) Lavar todo o material utilizado com água corrente e detergente;
- B) Deixar em solução de ácido nítrico a 50% durante pelo menos 2 horas;
- C) Depois de escorrido, enxaguar com água destilada e colocar na estufa a 30°C a secar.

Elaborado por:
Catarina Galinha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 01/03/2010

Anexo IV – Procedimento experimental de medição de amostras no amostrador automático de amostras

 Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_2_1_PT 02/2010
URSN	Medição de Amostras no Amostrador Automático de Amostras	Página 1 de 6
NANE		

Objectivo:

Medição de radiação gama de amostras que foram submetidas a irradiações longas no Reactor Português de Investigação (RPI).

1 – Material e Reagentes:

- Amostrador Automático de Amostras Ortec®;
- Detector de Radiação Gamma de HPGe;
- Recipientes, anéis e bases de polipropileno.



Figura 1: Recipientes de polipropileno e amostrador automático de amostras Ortec®.

2 – Procedimento:

- 1- Verificar se a tensão do detector é a correcta para o detector que vai utilizar (tensão alta ou baixa).

Nota: o valor exacto da tensão do detector está visível no computador correspondente ao detector.

Elaborado por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Catarina Galinha
Data: 02/03/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_2_1_PT 02/2010
URSN	Medição de Amostras no Amostrador Automático de Amostras	Página 2 de 6
NANE		

- 2- Confirmar se o *dewar* do detector tem azoto líquido suficiente para o período de medição que se pretende. Caso contrário, planear a medição conforme o tempo disponível.

Nota: os dewars são cheios às segundas-feiras de manhã.

- 3- No computador, criar uma nova pasta na pasta existente C:\SPECTRA para guardar os ficheiros dos espectros. O nome da nova pasta deverá ser a data de irradiação das amostras. Dentro dessa pasta, criar subpastas para cada uma das medições que se fizer às amostras colocando como nomes 1st, 2nd, 3rd, ..., nth correspondentes às primeiras, segundas, terceiras, ..., n medições.
- 4- Colocar as amostras irradiadas nas respectivas bases (a escolha das bases depende do tipo de recipiente utilizado para conter as amostras, como elucida a Tabela 1 e a Figura 2). Colocar a base no recipiente de propileno (Figura 3). Colocar sempre etiquetas nos recipientes com o nome da amostra a que correspondem.

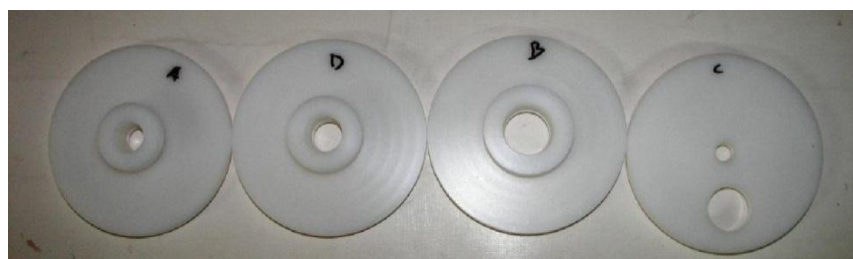


Figura 2: Bases A, D, B e C

Tabela 1: Tipos de bases e os correspondentes recipientes.

Tipo de Base	Recipiente		Função/Descrição
	Tipo	Código	
A	B	731	Tubos de PE do TIPO A (Diâmetro: 13.55 ± 0.05 mm)
B	B	733	Tubos de PE do TIPO B (Diâmetro: 22.8 ± 0.05 mm +/-)
C	C	-	Para medições de ouro (com fita-cola) e para cápsulas do tipo C (Diâmetro: 9.2 ± 0.05 mm) com duas alturas diferentes: C1 (12.25 mm) e C2 (6.0 mm)
D	D	732	Tubos de PE do TIPO D (Diâmetro 16.4 mm +/- 0.05), utilizado para medição de amostras em pastilhas

Elaborado por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Catarina Galinha
Data: 02/03/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_2_1_PT 02/2010
URSN	Medição de Amostras no Amostrador Automático de Amostras	Página 3 de 6
NANE		



Figure 3: Recipiente para colocar a base com a amostra para medir

- 5- O tempo morto (%) deve ser verificado para cada uma das amostras irradiadas, o que irá permitir avaliar qual a distância a utilizar da amostra ao fundo do recipiente (com a utilização de anéis). O tempo morto é o período de tempo em que o detector não tem a sensibilidade para detectar a radiação gama emitida pela amostra.

Para otimizar a aquisição do espectro, o tempo morto da amostra não deverá ser maior do que 15% no momento da medição. Deste modo, é necessário verificar manualmente o tempo morto para cada amostra utilizando o software de aquisição GammaVision. Consoante o tempo morto determinado, coloca-se determinado número de anéis no recipiente de modo a aumentar a distância da amostra ao detector, o que permitirá um tempo morto menor. O número de anéis a utilizar deverá ser de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2: Número de Anéis a utilizar para determinado tempo morto da amostra

Tempo Morto (%)	Número de anéis a utilizar
≤ 15	0
16-25	1
26-35	2
36-45	3
46-55	4
> 56	5

Nota: As amostras de Ouro na 1ª medição deverão ser sempre medidas com 5 anéis, ao fim de uma semana da irradiação.

- 6- Após colocar a amostra na base e esta no recipiente de polipropileno (com os respectivos anéis, caso seja necessário) deve fechar adequadamente o recipiente com a tampa. Colocar os recipientes no amostrador automático de amostras.

Elaborado por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Catarina Galinha
Data: 02/03/2010

Aprovado por:
Mª Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_2_1_PT 02/2010
URSN	Medição de Amostras no Amostrador Automático de Amostras	Página 4 de 6
NANE		

- 7- Abrir o software “Gemini Sampler Controller” software (Figura 4) e seleccionar o número de amostras a medir.

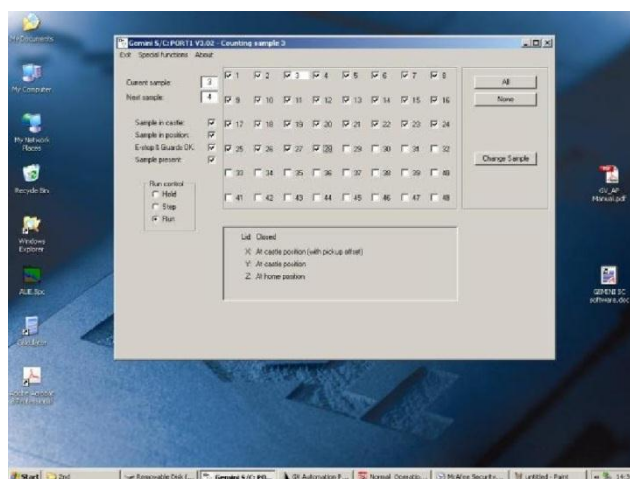
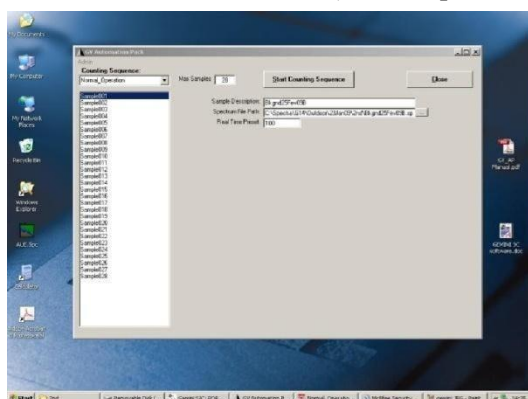


Figura 4: Software “Gemini Sampler Controller”

- 8- Abrir o software “GV Automation Pack” (Figura 5) e seleccionar “Normal_Operation” para “Counting Sequence” e o número de amostras a medir em “Max Samples”. De seguida, é necessário colocar a informação para cada uma das amostras, como o nome (“Sample description”), a pasta onde o ficheiro do espectro deve ser guardado (“Spectrum File Path”) e o tempo de medição (“Real Time Preset”) da amostra, em segundos.



Sample Description:	Bkgnd25Fev09B
Spectrum File Path:	C:\Spectra\G14\Outdoor\23Jan09\2nd\Bkgnd25Fev09B.sp
Real Time Preset:	100

Figura 5: Software “GV Automation Pack”

8.1. “Sample Description” é o nome da amostra. O background deve ser sempre a primeira amostra a ser medida e deve ser guardado com o nome de “Bkgnd[data actual]”.

Nota: A data deverá ser colocada segundo dia, mês (3 letras iniciais do nome em inglês) e ano. Exemplo: 23Jan09

Elaborado por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Catarina Galinha
Data: 02/03/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_2_1_PT 02/2010
URSN	Medição de Amostras no Amostrador Automático de Amostras	Página 5 de 6
NANE		

8.2. O espectro deverá ser guardado na pasta criada (em 2.) e com a extensão do tipo “.spc”.
O nome do espectro deverá seguir o exemplo:

“ABC_NX”, onde ABC é o nome da amostra,
N é o número de anéis utilizado,
X corresponde à medição da amostra. Se for a primeira medição deverá ser A, se for a segunda medição deverá ser B e assim sucessivamente.

8.3. O tempo de medição deverá ser sempre colocado em segundos e depende do tipo de amostra e qual o seu tempo de decaimento. A Tabela 3 fornece tempos de medição indicativos de determinados tipos de amostras.

Nota: Estes valores são adaptáveis ao utilizador consoante o tipo de elementos que pretende determinar e o tempo disponível para medição.

Tabela 3: Número de Anéis a utilizar para determinado tempo morto da amostra

Tipo de Amostra	Irradiação de Amostras		Medição da Radiação Gama das Amostras	
	Posição	Tempo (h)	Nº	Tempo (s)
Material Biológico (plantas, líquenes, etc)	56	5	1ª	7200
			2ª	12600
Solos	56	1	1ª	3600
			2ª	3600
Filtros	55	5	1ª	25200
			2ª	25200
Ouros	-	-	1ª	300

Em geral, a 1ª medição deverá ser realizada 3 dias após a irradiação e a 2ª medição deverá ser realizada 3-4 semanas após a irradiação.

- 9- Verificar se as posições das amostras no tabuleiro do Amostrador Automático correspondem à ordem colocada no software “GV Automation Pack”, além de confirmar a informação respeitante a cada amostra.
- 10- Confirmar que todo o sistema está bem fechado (portas de vidro).
- 11- Para dar início ao processo de medição, carregar em “Start Counting Sequence” no software “GV Automation Pack”.
- 12- No dossier associado ao detector a utilizar, registar todas as informações sobre as amostras que se vão medir.

Elaborado por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Catarina Galinha
Data: 02/03/2010

Aprovado por:
Mª Carmo Freitas
Data: 12/03/2010

Instituto Tecnológico e Nuclear	Procedimento Experimental	PE_2_1_PT 02/2010
URSN	Medição de Amostras no Amostrador Automático de Amostras	Página 6 de 6
NANE		

NOTAS:

1) Após desmontagem de amostras, todos os conjuntos de amostras deverão ser guardados em envelopes identificados com informação sobre a irradiação, tipo de amostras e utilizador. Estes envelopes deverão ser sempre armazenados no Laboratório de Radiometria (Nº203), no espaço reservado às amostras em decaimento.

2) Para evitar confusão em relação aos ouros utilizados em irradiações longas e possíveis reutilizações, os ouros após medição deverão ser armazenados num saco de plástico, etiquetar com a data de irradiação e, por fim, guardá-lo no pequeno castelo de chumbo que está à entrada do Laboratório dos detectores. Os ouros podem ser reutilizados, em geral, após um decaimento de 1 mês.

Elaborado por:
Nuno Canha
Data: 25/02/2010

Revisto por:
Catarina Galinha
Data: 02/03/2010

Aprovado por:
M^a Carmo Freitas
Data: 12/03/2010