



Ensaio de (bio)monitorização para avaliação da saúde de bombeiros

ANA MARGARIDA SILVA PAIVA

junho de 2022

Ensaio de (bio)monitorização para avaliação da saúde de bombeiros

Ana Margarida Silva Paiva 1171176

Orientadora: Doutora Simone Morais
Coorientadora: Doutora Marta Oliveira

Junho de 2022

Este estudo recebeu apoio dos projetos PCIF/SSO/0017/2018 e PCIF/SSO/0090/2019 da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (MCTES) através de fundos nacionais.



Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer às minhas orientadoras Doutora Simone Morais e Doutora Marta Oliveira por todos os conhecimentos transmitidos, toda a ajuda, orientação e disponibilidade para esclarecer as diversas dúvidas surgidas ao longo do desenvolvimento da presente tese.

Também à MSc. Ana Bela Barros e à MSc. Joana Teixeira, que me acompanharam no decorrer da parte experimental desta tese com toda a disponibilidade e paciência, e me ajudaram sempre que precisei.

A todos os docentes do Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP) que me acompanharam ao longo dos últimos cinco anos do meu percurso académico.

Aos meus pais, por acreditarem em mim e por todo o apoio incondicional e ferramentas que me deram para poder chegar até aqui.

Aos meus amigos, que me acompanham há vários anos, por todas as vivências partilhadas e compreensão mútua.

Por fim, à Fundação para Ciência e Tecnologia (FCT) por financiar o projeto BioFirEx, sem o qual a realização desta tese não teria sido possível.

Resumo

Devido à natureza das atividades exercidas pelos bombeiros, esta ocupação é física e psicologicamente exigente e classificada como possivelmente cancerígena para o Homem pela Agência Internacional para a Investigação sobre o Cancro (IARC). O grupo dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH) é dos mais estudados no que toca ao impacto na saúde humana dos poluentes libertados durante incêndios rurais, sendo que a exposição a estes compostos ocorre também fora deste ambiente, pois são ubíquos.

A presente tese teve como principal objetivo avaliar a exposição ocupacional dos bombeiros a PAH em ambiente de quartel e após o combate a incêndios rurais. Assim, foi monitorizado o ar pessoal em ambiente de quartel de bombeiros pertencentes a 3 corporações do nordeste de Portugal: Bragança (BRG), Vinhais (VNH) e Alfândega da Fé (AFF) e quantificados 18 PAH na fase particulada ($PM_{2.5}$). Foram ainda determinados 6 metabolitos hidroxilados de PAH (OH-PAH) em amostras de urina dos mesmos bombeiros recolhidas em ambiente de quartel e de alguns destes após combater um incêndio rural. A quantificação foi realizada através da cromatografia líquida de alta eficiência com deteção por fluorescência e fotodíodos em série.

A concentração total de PAH (ΣPAH) na fração $PM_{2.5}$ foi de $26,7 \text{ ng/m}^3$ em BRG, $26,4 \text{ ng/m}^3$ em AFF e $72,1 \text{ ng/m}^3$ em VNH. O acenafteno foi o PAH mais abundante nas 3 corporações (43% a 58%) e os PAH com 2 a 3 anéis aromáticos foram os predominantes (69% a 71%). VNH foi a corporação com maior concentração total de PAH carcinogénicos ($11,9 \text{ ng/m}^3$) e onde os bombeiros apresentaram um maior risco de desenvolver cancro ao longo da vida, estando o valor máximo estimado ($1,91 \times 10^{-6}$) dentro dos limites propostos pela Agência de Proteção Ambiental Americana.

Nas urinas, a concentração total de OH-PAH ($\Sigma OH-PAH$) variou entre $18,3 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ (VNH) e $30,7 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ (BRG), verificando-se tendências diferentes das observadas no ar. O 1-hidroxinaftaleno e 1-hidroxiacenafteno constituíram 99% do total de OH-PAH. A concentração $\Sigma OH-PAH$ em bombeiros expostos ($84,4 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$) foi 3,4 vezes superior à dos bombeiros não expostos, sendo que todos estes apresentaram níveis superiores de $\Sigma OH-PAH$ após exposição ao incêndio, pelo que as emissões de incêndios rurais contribuíram de forma significativa (84% a 1098%) para a exposição de bombeiros a PAH.

Palavras-chave: Bombeiros, saúde ocupacional, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, incêndios rurais, biomarcadores de exposição.

Abstract

Due to the nature of the activities performed by firefighters, this occupation is physically and psychologically demanding and classified as possibly carcinogenic to humans by the International Agency for Research on Cancer. The group of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) is one of the most studied concerning the impact of pollutants released during wildfires on human health. Furthermore, exposure to these compounds also occurs outside this environment since they are ubiquitous.

The present study had the main objective of assessing the occupational exposure of firefighters to PAH in firehouses and after wildfire firefighting activities. Thus, the personal air of firefighters from 3 firehouses located in the northeast of Portugal: Bragança (BRG), Vinhais (VNH) and Alfândega da Fé (AFF) was monitored during a regular work shift in the firehouse and 18 PAH in the particulate phase (PM_{2,5}) were quantified. In addition, 6 hydroxylated metabolites of PAH (OH-PAH) were measured in post-work shift urine samples of the characterized subjects, and in some of these firefighters after participating in wildfire combat activities. The quantification was performed using high-performance liquid chromatography with fluorescence and photodiode array detector in series.

The total PAH (Σ PAH) concentration was 26,7 ng/m³ in BRG, 26,4 ng/m³ in AFF and 72,1 ng/m³ in VNH. Acenaphthene was the most abundant PAH in all firehouses (43% to 58%) and PAH with 2 to 3 aromatic rings were the most predominant (69% to 71%). VNH was the firehouse with the highest concentration of total carcinogenic PAH (11,9 ng/m³) and where firefighters faced a higher lifetime risk of developing cancer during their life, with the maximum value estimated ($1,91 \times 10^{-6}$) being within the guidelines proposed by the U.S. Environmental Protection Agency.

In urine, the concentration of total OH-PAH (Σ OH-PAH) varied between 18,3 μ mol/mol_{cr} (VNH) and 30,7 μ mol/mol_{cr} (BRG) displaying different trends from those observed in the personal air samples. 1-hydroxynaphthalene and 1-hydroxyacenaphthene represented 99% of the Σ OH-PAH. The Σ OH-PAH concentration in exposed firefighters (84,4 μ mol/mol_{cr}) was 3,4 times higher than that of non-exposed firefighters; all of them showed higher levels of Σ OH-PAH after wildfire exposure. Thus, the emissions from wildfires contributed significantly (84% to 1098%) to firefighters' exposure to PAH.

Keywords: Firefighters, occupational health, polycyclic aromatic hydrocarbons, wildfires, biomarkers of exposure.

Índice

Capítulo 1: Introdução	1
1.1. Enquadramento	2
1.2. Objetivos.....	2
1.3. Estrutura.....	2
Capítulo 2: Incêndios rurais e Bombeiros	5
2.1. Incêndios rurais.....	6
2.1.1. Origem e propagação de um incêndio rural.....	7
2.1.2. Fatores que afetam um incêndio rural	10
2.1.3. Contexto atual dos incêndios no mundo e em Portugal.....	12
2.2. Emissões dos incêndios rurais	16
2.2.1. Monóxido e dióxido de carbono	17
2.2.2. Matéria Particulada.....	17
2.2.3. Outros compostos	19
2.3. Bombeiros.....	22
Capítulo 3: Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos	27
3.1. Propriedades físico-químicas.....	29
3.2. PAH no meio ambiente.....	31
3.3. Exposição.....	32
3.4. Efeitos na saúde	33
3.5. Biomonitorização.....	36
Capítulo 4	39
4.1. Análise dos PAH no ar pessoal.....	39
4.1.1. Amostragem.....	39
4.1.2. Extração	40
4.1.3. Separação e quantificação	41
4.2. Análise dos OH-PAH na urina	42
4.2.1. Amostragem.....	42
4.2.2. Extração	42
4.1.3. Separação e quantificação	43
4.3. Quantificação dos níveis de creatinina	44
4.4. Análise estatística	45
Capítulo 5: Resultados e Discussão.....	47
5.1. Caracterização do local de recolha das amostras e das amostras	47
5.2. PAH no ar pessoal	49
5.2.1. PAH carcinogénicos	56
5.2.2. Análise de risco	59

5.3. OH-PAH na urina	62
5.3.1. Creatinina.....	62
5.3.2. OH-PAH em bombeiros não expostos.....	63
5.3.3. Correlação entre PAH e OH-PAH.....	68
5.3.4. OH-PAH em bombeiros não expostos vs. expostos	70
Capítulo 6: Conclusão e Sugestões para Trabalho Futuro.....	75
Bibliografia.....	79
Anexos.....	85
Anexo A: Soluções padrão dos PAH e dos OH-PAH.....	87
Anexo B: Calibração dos PAH e dos OH-PAH	89

Índice de Figuras

Figura 2.1: Fogo controlado realizado na Serra da Aboboreira em Marco de Canavezes a 17 de janeiro de 2022.....	6
Figura 2.2: : Incêndio florestal na Vila de Mação em julho de 2019 [14].....	7
Figura 2.3: Triângulo de fogo (a) e tetraedro de fogo (b) [12].....	8
Figura 2.4: Correntes e coluna de convecção [12].	9
Figura 2.5: Quadrado do fogo florestal [3].....	12
Figura 2.6: Evolução do número de incêndios anual em Portugal entre 2010 e 2020 [2].	14
Figura 2.7: Evolução da superfície queimada anual em Portugal entre 2010 e 2020 [2].	14
Figura 2.8: Percentagens das causas de incêndios rurais investigados em Portugal entre 2010 e 2020 [22, 13].....	15
Figura 2.9: EPIs usados pelos bombeiros no combate a incêndios florestais [47].....	23
Figura 3.1: Estruturas químicas dos 18 PAH analisados na presente dissertação [54]. .	28
Figura 3.2: Estruturas químicas dos 6 OH-PAH analisados na presente dissertação [54].	38
Figura 5.1: Mapa de Portugal e do distrito de Bragança com a localização das corporações de Bragança, Vinhais e Alfândega da Fé assinaladas [73, 74]	48
Figura 5.2 Boxplot das concentrações de PAH individuais obtidas na fração particulada 2,5 µm do ar pessoal dos bombeiros nas três corporações: (a) Nap: naftaleno; Ace: acenafteno; Flu: fluoreno; Phe: fenantreno; Pyr: pireno; Chry: criseno; D(a,h)A: dibenz(a,h)antraceno; B(g,h,i)P: Benzo(g,h,i)perileno; e (b) Ant: antraceno; B(a)A: Benz(a)antraceno; B(b)F + B(j)F: Benzo(b)fluoranteno e Benzo(j)fluoranteno; B(k)F: Benzo(k)fluoranteno; B(a)P: Benzo(a)pireno; D(a,l)P; InP: Indeno(1,2,3-cd)pireno. C _{PAH} : concentração do PAH (ng/m ³); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.	52
Figura 5.3: Distribuição das concentrações de PAH obtidas nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações de acordo com o número de anéis. C _{PAH} : concentração do PAH (ng/m ³); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.	56
Figura 5.4: Contribuição da concentração dos PAH carcinogénicos obtidas nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações. C _{PAH} : concentração do PAH (ng/m ³); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.	57
Figura 5.5: Contribuição da concentração individual dos PAH carcinogénicos obtidas nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações. C _{PAH} : concentração do PAH (ng/m ³); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.	58
Figura 5.6: Boxplot das TEQ totais obtidas nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações. TEQ: concentração de toxicidade equivalente de B(a)P _{eq} (µg/m ³); B(a)P _{eq} : concentração equivalente de benzo(a)pireno; BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.	59
Figura 5.7: Boxplot dos ILR totais obtidos nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações. ILR: risco aumentado de cancro ao longo da vida; BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.	61
Figura 5.8: Boxplot das concentrações de creatinina obtidas nas urinas dos bombeiros caracterizados por corporação. C _{crit} : concentração de creatinina (g/L); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.	63
Figura 5.9: Boxplot das concentrações de OH-PAH individuais e totais obtidas nas urinas de bombeiros nas três corporações: (a) 1-OH-Nap + 1-OH-Ace: 1-hidroxi-naftaleno e 1-hidroxi-acenafteno; ΣOH-PAH: total dos OH-PAH; e (b) 2-OH-Flu: 2-hidroxi-fluoreno; 1-	

OH-Phe: 1-hidroxifenantreno; 1-OH-Pyr: 1-hidroxipireno. COH-PAH: concentração de OH-PAH ($\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé. 65

Figura 5.10: Boxplot das concentrações de OH-PAH individuais e totais obtidas nas urinas dos bombeiros não expostos e dos bombeiros não expostos / expostos de Bragança: (a) 1-OH-Nap + 1-OH-Ace: 1-hidroxinaftaleno e 1-hidroxiacenafteno; $\Sigma\text{OH-PAH}$: total dos OH-PAH; e (b) 2-OH-Flu: 2-hidroxifluoreno; 1-OH-Phe: 1-hidroxifenantreno; 1-OH-Pyr: 1-hidroxipireno. COH-PAH: concentração de OH-PAH ($\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$); NExp: Não expostos; NExpBRG: Não expostos em Bragança; Exp: Expostos. 72

Figura 5.11: Gráfico de barras das concentrações de $\Sigma\text{OH-PAH}$ obtidas em bombeiros antes e após exposição. COH-PAH: concentração de OH-PAH ($\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$)..... 74

Figura B.1: Cromatograma das réplicas da solução padrão 7 e o branco (rosa) com os PAH identificados. Nap: naftaleno; Acy: Acenaftileno; Ace: acenafteno; Flu: fluoreno; Phe: fenantreno; Ant: antraceno; Fln: FlurantenoPyr: pireno; B(a)A: Benz(a)antraceno; Chry: criseno; B(b)F + B(j)F: Benzo(b)fluoranteno e Benzo(j)fluoranteno; B(k)F: Benzo(k)fluoranteno; B(a)P: Benzo(a)pireno; D(a,l)P: Dibenz(a,l)pireno; D(a,h)A: dibenz(a,h)antraceno; B(g,h,i)P: Benzo(g,h,i)perileno; InP: Indeno(1,2,3-cd)pireno.....90

Figura B.2: Cromatograma das réplicas da solução padrão 7 e o branco (rosa) com os OH-PAH identificados. 1-OH-Nap + 1-OH-Ace: 1-hidroxinaftaleno e 1-hidroxiacenafteno; 2-OH-Flu: 2-hidroxifluoreno; 1-OH-Phe: 1-hidroxifenantreno; 1-OH-Pyr: 1-hidroxipireno.....91

Índice de tabelas

Tabela 3.1: Principais propriedades físico-químicas dos PAH determinados neste estudo. MM: Massa molar (g/mol), PF: Ponto de fusão (°C), PE: Ponto de ebulição (°C), P _v : Pressão de vapor a 25 °C (mmHg), S: solubilidade em água a 25 °C (mg/L), K _{ow} : coeficiente de partição octanol-água, H: Constante de Henry a 25 °C (atm.m ³ /mol) [54].	30
Tabela 3.2: Classificação de alguns PAH pela IARC e a US-EPA quanto ao seu potencial carcinogénico, respetivos fatores de equivalência tóxica, TEF, e riscos unitários de inalação. TEF: fatores de equivalência tóxica; IUR: riscos unitários de inalação.	34
Tabela 3.3: Nome e abreviatura dos OH-PAH analisados na dissertação, PAH de origem, fórmula química e massa molecular. MM: massa molecular (g/mol).	38
Tabela 4.1: Comprimento de onda de excitação e emissão de cada PAH. λ _{excitação/emissão} : comprimento de onda de excitação e emissão (nm).	41
Tabela 4.2: Comprimento de onda de excitação e emissão de cada OH-PAH. λ _{excitação/emissão} : comprimento de onda de excitação e emissão (nm).	44
Tabela 5.1: Caracterização das corporações e das amostras estudadas. BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé; n: tamanho da amostra; n.a.: não aplicável.	49
Tabela A.1: Concentração dos PAH das soluções padrão P1 a P9. C _{PAH} : concentração do PAH (µg/L).	87
Tabela A.2: Concentração dos OH-PAH das soluções padrão P1 a P9. C _{OH-PAH} : concentração do OH-PAH (µg/L).	88
Tabela B.1: Resumo da calibração dos PAH. Nap: naftaleno; Acy: Acenaftileno; Ace: acenafteno; Flu: fluoreno; Phe: fenantreno; Ant: antraceno; Pyr: pireno; B(a)A: Benz(a)antraceno; Chry: criseno; B(b)F + B(j)F: Benzo(b)fluoranteno e Benzo(j)fluoranteno; B(k)F: Benzo(k)fluoranteno; B(a)P: Benzo(a)pireno; D(a,l)P: Dibenz(a,l)pireno; D(a,h)A: dibenz(a,h)antraceno; B(g,h,i)P: Benzo(g,h,i)perileno; InP: Indeno(1,2,3-cd)pireno. tr: Tempo de retenção (min); r ² : coeficiente de determinação; LOD: Limite de deteção (µg/L); LOQ: Limite de quantificação (µg/L); C: Concentração (µg/L); A: Área do pico.	89
Tabela B.2: Resumo da calibração dos PAH. 1-OH-Nap + 1-OH-Ace: 1-hidroxi-naftaleno e 1-hidroxiacenafteno; 2-OH-Flu: 2-hidroxi-fluoreno; 1-OH-Phe: 1-hidroxi-fenantreno; 1-OH-Pyr: 1-hidroxi-pireno; tr: Tempo de retenção em min; r ² : coeficiente de determinação; LOD: Limite de deteção (µg/L); LOQ: Limite de quantificação (µg/L); C: Concentração (µg/L); A: Área do pico.	90

Nomenclatura

Lista de abreviaturas

1-OH-Ace	1-hidroxiacenafteno
1-OH-Nap	1-hidroxinaftaleno
1-OH-Phe	1-hidroxifenantreno
1-OH-Pyr	1-hidroxipireno
2-OH-Flu	2-hidroxifluoreno
2-OH-Nap	2-hidroxinaftaleno
3-OH-B(a)P	3-hidroxibenzo(a)pireno
Abs	Absorvância
Ace	Acenafteno
Acy	Acenaftileno
Ant	Antraceno
B(a)A	Benz(a)antraceno
B(a)P	Benzo(a)pireno
B(a)P _{eq}	Equivalente de benzo(a)pireno
B(b)F	Benzo(b)fluoranteno
B(g,h,i)P	Benzo(g,h,i)perileno
B(j)F	Benzo(j)fluoranteno
B(k)F	Benzo(k)fluoranteno
Chry	Criseno
Crt	Creatinina
D(a,h)A	Dibenz(a,h)antraceno
D(a,l)P	Dibenzo(a,l)pireno
Fln	Fluoranteno
Flu	Fluoreno
InP	Indeno(1,2,3-cd)pireno
Nap	Naftaleno
Phe	Fenantreno
Pyr	Pireno

Listas de Siglas

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AFF	Alfândega da Fé
AGIF	Agência para a Gestão Integrada de Fogos Rurais
ANEP	Autoridade Nacional de Proteção Civil
AT	Período de Exposição
BRG	Bragança
COV	Compostos Orgânicos Voláteis
EC	Concentração de Exposição
ED	Duração de Exposição
EF	Horas de exposição diárias
EPI	Equipamento de Proteção Individual
ET	Tempo de Exposição
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
GRAQ	Grupo de Reação e Análises Químicas
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IARC	Agência Internacional para a Investigação sobre o Cancro

ICNF	Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas
IPCS	Programa Internacional de Segurança Química
IRL	Risco Aumentado de Cancro ao Longo da Vida
IUR	Risco Unitário de Inalação
JECFA	Comité Misto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares
LOD	Limite de deteção
LOQ	Limite de quantificação
MM	Massa molecular
NIOSH	Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional
OH-PAH	Metabolitos hidroxilados de PAH
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAH	Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
PE	Ponto de ebulição
PF	Ponto de fusão
PM	Matéria Particulada
SPE	Extração em fase sólida
TEF	Fator de Equivalência Tóxica
TEQ	Toxicidade Equivalente
US-EPA	Agência de Proteção Ambiental Americana
UV	Ultravioleta
VNH	Vinhais

Lista de símbolos

A	Área do pico
C	Concentração
H	Constante de Henry
K_{ow}	Coefficiente de partição octanol-água
n	Tamanho da amostra
P_v	Pressão de vapor
r	Coefficiente de correlação
r^2	Coefficiente de determinação
r_s	Correlação de Spearman
S	Solubilidade em água
t_R	Tempo de retenção
λ	Comprimento de onda
$\Sigma OH-PAH$	Total de OH-PAH
ΣPAH	Total de PAH
ΣPAH_{carc}	Total de PAH carcinogénicos

Capítulo 1

Introdução

A ocupação de bombeiro é física e psicologicamente exigente pois é acompanhada por diversos riscos ocupacionais capazes de originar acidentes de trabalho e eventuais doenças profissionais [1].

Os incêndios florestais constituem um problema a nível mundial, pois representam uma ameaça, não só ao património ambiental, mas também à vida humana [2]. As chamas consomem a biomassa vegetal, propagando-se e resultando em diversas consequências negativas como a desflorestação, a destruição da fauna e flora, a emissão de gases com efeitos de estufa e consequentes alterações climáticas [3]. A segurança dos cidadãos pode também ser posta em causa, por exemplo, quando existem habitações ou estradas situadas perto de zonas florestais [2]. Um exemplo disto em Portugal foi o caso do incêndio de Pedrogão Grande que assolou Portugal no ano de 2017 [4].

Compete aos bombeiros a tarefa de suprimir os incêndios de forma eficaz, rápida e segura, de modo a preservar ao máximo os recursos materiais e vidas em risco [2]. Durante o combate a incêndios estes veem-se continuamente expostos a diversos compostos gasosos e particulados que culminam em efeitos negativos para a sua saúde, dos quais são exemplo os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH). No entanto, a exposição a PAH acontece também fora do ambiente de incêndio, uma vez que estes compostos são ubíquos.

A presente dissertação tem como foco o estudo do impacto das emissões de PAH na saúde de bombeiros em ambiente de quartel e após exposição a incêndios rurais através de ensaios de (bio)monitorização.

1.1. Enquadramento

A presente dissertação foi elaborada no âmbito da unidade curricular Dissertação/Estágio do Mestrado em Engenharia Química, Ramo de Qualidade, do Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP). Esta insere-se no projeto BioFirEx e decorreu no REQUIMTE-LAQV, ISEP, entre Outubro de 2021 e Junho de 2022.

1.2. Objetivos

O objetivo principal desta dissertação é estudar a exposição ocupacional dos bombeiros a PAH. Para esse efeito, foram propostos três objetivos específicos:

- 1) Caracterizar o ar pessoal de bombeiros em ambiente de quartel através da determinação dos níveis de diferentes PAH;
- 2) Determinar os níveis de diferentes biomarcadores de exposição a PAH em amostras biológicas de bombeiros em ambiente de quartel e após exposição a incêndios rurais;
- 3) Avaliar os potenciais riscos para a saúde dos operacionais.

1.3. Estrutura

A presente dissertação encontra-se dividido em 6 capítulos. Este primeiro capítulo serve de introdução à dissertação, enquadrando-a e definindo os seus objetivos e organização.

No capítulo 2 são apresentados conceitos relacionados com incêndios rurais, as suas emissões, e bombeiros.

O capítulo 3 serve de exposição a conceitos relacionados com PAH, nomeadamente as suas propriedades físico-químicas, o seu comportamento no meio ambiente, vias de exposição, efeitos na saúde e biomonitorização.

O capítulo 4 corresponde aos matérias e métodos, e neste são apresentados os procedimentos experimentais adotados na quantificação dos PAH em amostras de ar pessoal e biomarcadores em amostras biológicas de bombeiros.

Ao longo do capítulo 5 é feita a discussão dos resultados obtidos com os vários ensaios realizados.

Por fim, no capítulo 6 são apresentadas as principais conclusões obtidas com o trabalho desenvolvido.

Capítulo 2

Incêndios rurais e Bombeiros

O fogo é uma peça fundamental dos ecossistemas terrestres e surge de forma natural em zonas florestais devido à acumulação de biomassa vegetal. Os incêndios florestais naturais são, na verdade, benéficos para o funcionamento saudável de muitos ecossistemas pois renovam o solo e o ar quimicamente, nutrem o solo, removem vegetação rasteira e limpam o chão da floresta de detritos, isto é, vegetação morta [5, 4, 6]. O fogo é inclusive utilizado para a manipulação e configuração da paisagem, sendo, por exemplo, usado para desbastamentos de zonas florestais para agricultura ou pastagem [7].

Com a evolução da sociedade, a necessidade de evitar e combater incêndios florestais tornou-se cada vez maior. Quando o Homem abandonou o modo de vida nómada e passou a viver num determinado local fixo, tornou-se necessário combater as ameaças ao seu património. Surgiram assim as primeiras corporações de bombeiros [8].

Com o aumento da população e industrialização as ocorrências de incêndio tornaram-se mais frequentes e, para potenciar a organização e disciplina essenciais no combate a incêndios, foram criadas organizações profissionais de bombeiros [8]. A nível rural, o gradual abandono destas zonas fez com que a floresta ganhasse continuidade e aumento da densidade de combustível, potenciando o número e intensidade de incêndios rurais, que podem mesmo chegar às zonas urbanas [9]. Nos últimos anos, como resultado das alterações climáticas e aquecimento global, têm-se testemunhado incêndios de grande dimensão e duração que causaram alterações profundas nos ecossistemas florestais, e problemas a nível ambiental, social e económico [7, 6].

Hoje em dia existem corporações profissionais, voluntárias e mistas de bombeiros capazes de combater incêndios eficazmente, estando estes devidamente protegidos. No entanto, mesmo munidos de proteção, é importante realçar que os bombeiros acabam por expor-se a vários riscos, incluindo as emissões gasosas dos incêndios [10].

2.1. Incêndios rurais

Quimicamente, o fogo corresponde a um processo de combustão caracterizado pela emissão de calor que pode ser acompanhado por fumo, chama e luz [11].

Os termos “fogo” e “incêndio” são por vezes empregues de forma indistinta, mas existe uma diferença relevante entre os mesmos. Entende-se como fogo a combustão controlada de materiais combustíveis, cuja realização requer cuidados e condições especiais, de modo que este permaneça limitado no espaço e no tempo. Por outro lado, os incêndios não estão limitados no espaço ou no tempo, ou seja, consistem numa combustão descontrolada, deixando um rasto de destruição por onde passam [12].

Na figura 2.1 pode-se observar uma imagem de um fogo controlado realizado na Serra da Aboboreira, Marco de Canavezes, no dia 17 de janeiro de 2022 para proteção de uma aldeia local e prevenção de grandes incêndios, isto é, com área ardida superior a 100 hectares [13].



Figura 2.1: Fogo controlado realizado na Serra da Aboboreira em Marco de Canavezes a 17 de janeiro de 2022.

É de realçar que a data escolhida não foi aleatória, tendo-se escolhido um período que reúna todas as condições meteorológicas (temperatura, humidade e vento) e de terreno adequadas à realização do fogo, e que foi realizado e aprovado por entidades competentes.

Um cenário muito diferente pode ser observado na figura 2.2, uma fotografia de um incêndio florestal na Vila de Mação, em julho de 2019 [14].



Figura 2.2: : Incêndio florestal na Vila de Mação em julho de 2019 [14].

Em 2001 a denominação geral de “incêndio florestal” foi alterada para “incêndio rural”, passando esta também a incluir incêndios em explorações agrícolas [2]. De acordo com a definição atual, um incêndio florestal corresponde a um incêndio rural no qual a área ardida florestal é superior a 1 hectare, ou a um incêndio rural com uma área total ardida inferior a 1 hectare no qual a área ardida florestal é superior à agrícola. Um incêndio agrícola é definido como um incêndio rural em que a área ardida agrícola é superior à área ardida florestal, sendo a área ardida da segunda inferior a 1 hectare [15].

2.1.1. Origem e propagação de um incêndio rural

Um incêndio surge da conjugação de três elementos, o comburente, o combustível e energia de ativação. O comburente corresponde ao corpo gasoso que envolve o combustível, e que com ele irá reagir durante a combustão. Embora esta reação seja exotérmica, apenas se inicia perante a presença de um agente de ignição que desencadeie o processo, ou seja, é necessária uma energia de ativação [16]. O início da combustão é representado universalmente através do triângulo de fogo, um triângulo em que cada aresta corresponde a um dos três elementos, que pode ser observado na figura 2.3 (a) [12].

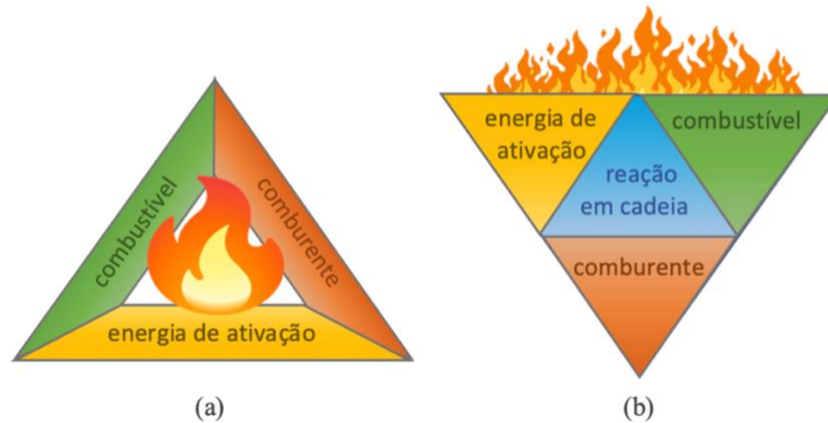


Figura 2.3: Triângulo de fogo (a) e tetraedro de fogo (b) [12].

A atmosfera é constituída por, aproximadamente, 78% de azoto, 21% de oxigénio e 1% de outros gases. Desta forma, o oxigénio está presente no ar que envolve os combustíveis, tornando-o no comburente de 99,9% das reações de combustão [16].

Os combustíveis vegetais nas zonas rurais correspondem a espécies vegetais presentes nas florestas e terrenos agrícolas que podem ser consumidas pelas chamas, dos quais são exemplo folhas, herbáceas, pinhas, ramos, arbustos e troncos. Estes são constituídos por células vegetais cujo principal constituinte é a celulose [12].

A energia de ativação dos incêndios rurais pode provir de várias fontes, como por exemplo chama direta, beata de cigarro ou descarga elétrica, e a sua origem pode ser natural ou humana [7]. Quando os combustíveis estão perante uma energia de ativação, numa fase inicial, dá-se um conjunto de reações endotérmicas. Nesta fase os combustíveis sofrem um aumento de temperatura, libertam vapor de água, diminuindo assim o seu teor de humidade, e libertam alguns compostos voláteis. Com o progressivo aumento de temperatura os combustíveis sofrem pirólise, um processo de decomposição térmica ao abrigo do ar no qual se libertam compostos gasosos, tais como monóxido carbono, hidrogénio, entre outros. A combustão propriamente dita, que é fortemente exotérmica, acontece quando estes compostos reagem com o oxigénio presente no ar [17].

O calor resultante da própria combustão dos combustíveis é transferido para os combustíveis ainda não inflamados e absorvidos por estes, provocando a sua ignição [7]. No decurso da reação de combustão formam-se radicais livres, produtos intermediários instáveis que contêm energia elevada e reagem rapidamente com outras moléculas, formando novos radicais livres, provocando a propagação do fogo. Assim, a combustão relativa aos incêndios é autossustentada, ou seja, é mantida pelo próprio calor produzido.

Desta forma, para mais fielmente representar o processo de combustão associado aos incêndios, torna-se necessário introduzir um quarto elemento no triângulo de fogo, a reação em cadeia. Daqui surge o tetraedro de fogo, apresentado na figura 2.3 (b) [16].

Na propagação de um incêndio rural, a transferência de calor de combustíveis inflamados para combustíveis não inflamados acontece através dos três mecanismos de transferência de calor, sendo a convecção o mais significativo [12, 7].

A convecção é o mecanismo de transferência de calor predominante em líquidos e em gases (fluidos), e dá-se através do movimento do próprio fluido. Na convecção natural o movimento do fluido, que no caso dos incêndios rurais é o ar, deve-se a diferenças de densidade provocadas por diferenças de temperaturas. Em contacto com as chamas, o ar torna-se mais quente e, conseqüentemente, menos denso, tendo tendência a subir. Ao subir, e ao transferir a sua energia, o ar arrefece, tendo tendência a descer. Daqui resulta a formação de correntes de convecção e de uma coluna de convecção por cima do fogo, representadas esquematicamente na figura 2.4. Este tipo de convecção promove a passagem de um incêndio de superfície, isto é, em que a propagação das chamas se dá junto ao solo, para um incêndio de copas, em que ocorre a propagação das chamas até e através das copas das árvores [12, 7].



Figura 2.4: Correntes e coluna de convecção [12].

A convecção forçada acontece na presença de um agente externo que promove o movimento do fluido. O principal agente que promove o movimento do ar é o vento. Este transporta o ar quente para os combustíveis no caminho do incêndio, secando-os e promovendo a sua ignição. É também de realçar que a orientação do vento não é constante, fazendo deste um elemento relevante para a propagação dos incêndios em

diferentes direções. O vento é ainda responsável por aumentar a taxa de oxigénio na zona em combustão [7].

Durante um incêndio, tanto as chamas como as brasas emitem radiação. Este é o mecanismo de transferência de calor por ondas eletromagnéticas e que não requer um meio para se propagar. O vento promove também a radiação, na medida em que aumenta a inclinação das chamas sobre o terreno [7].

Também a condução está presente durante um incêndio rural. Este é o principal mecanismo de transferência de calor nos sólidos, e consiste na transferência de energia cinética através de vibrações, de moléculas mais agitadas (a temperaturas mais altas) para menos agitadas (a temperaturas mais baixas). A condução é o mecanismo responsável por transferir calor da superfície dos combustíveis rurais para o seu interior [7].

A propagação dos incêndios rurais também acontece pela projeção e deslocamento de material inflamado para perímetros relativamente afastados do incêndio principal, que originam focos secundários, ou seja, novas ignições [12, 7].

2.1.2. Fatores que afetam um incêndio rural

Um dos fatores decisivos para os incêndios é a meteorologia. As variáveis meteorológicas mais importantes para a propagação dos incêndios, para além do vento, são a temperatura, a humidade do ar e a precipitação.

As plantas absorvem água através das raízes, e esta sobe pelo tronco e ramos até às folhas, que controlam a quantidade de água evaporada. Quanto mais seco estiver o ar, mais água a planta irá perder, e menos água estará disponível no solo, até que a uma dada altura se dará a perda irremediável da água, momento que marca a morte da planta. A partir deste momento deixa de haver controlo da humidade por parte das células vivas e é a própria humidade do ar que fornece ou retira água aos combustíveis mortos. Quando a humidade da planta é superior a 11%, esta poderá arder quando em contacto com uma chama. No entanto se a chama for afastada o fogo irá extinguir lentamente, não havendo propagação. No caso de a humidade da planta ser igual ou inferior a 11% há propagação da chama, ou seja, a combustão é autossustentada. Assim, em épocas mais quentes, onde a temperatura é mais alta e a humidade do ar é mais baixa, a vegetação fica mais seca e torna-se mais fácil a ignição e propagação de incêndios [12].

Na presença de precipitação, o teor de humidade dos combustíveis aumenta, dificultando ou impossibilitando a sua ignição. Os combustíveis mais finos, como os herbáceos, secam rapidamente e são capazes de sustentar um fogo por pouco tempo depois de chover. Por outro lado, combustíveis mais grossos, como troncos de árvores, necessitam de mais tempo para perder humidade ao ponto de entrar em ignição [7].

O volume de combustível disponível para arder resulta da acumulação da biomassa nesse local que, por sua vez, é controlada pela presença de água e fertilidade do solo. Em áreas excessivamente áridas, apesar das condições propícias ao surgimento e propagação do fogo, não existe combustível suficiente. Contrariamente, florestas húmidas possuem um elevado volume de biomassa acumulada, mas as condições de humidade raramente possibilitam a ocorrência de incêndios. A frequência dos incêndios é maior em ecossistemas caracterizados pela existência simultânea de combustíveis acumuladas e períodos de seca [7]. Disto são exemplo zonas caracterizadas por um clima Mediterrâneo, como é caso de Portugal, onde longos verões quentes e secos facilitam a propagação de incêndios que destroem combustíveis acumulados em períodos frios e húmidos [5].

A prevenção de incêndios passa pela gestão inteligente da floresta, que engloba, precisamente, a redução do combustível. Esta gestão reintroduz o fogo nos ecossistemas de forma planeada através de fogos controlados, como o exemplificado na figura 2.1, que previnem incêndios de alta intensidade, pois as parcelas de terreno ardido evitam ou dificultam a propagação ininterrompida das chamas. A gestão inteligente da floresta aposta também em espécies que ardem mais lentamente e florestas mais heterogéneas [2]. O fogo pode, inclusive, ser utilizado de modo benéfico durante um incêndio rural, sendo denominado fogo de supressão. A utilização de fogo controlado e de supressão está legislada em Portugal através do Despacho n.º 7511/2014 de 9 de junho, que dita que o fogo controlado apenas pode ser realizado segundo planeamento previamente aprovado nos termos desse despacho, e por técnicos credenciados pelo Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF), ou sob a sua responsabilidade e supervisão. O fogo de supressão é autorizado pelo comandante das operações de socorro e pela estrutura de comando da Autoridade Nacional de Proteção Civil (ANPC) sempre que a sua realização se justifique e se reúnam condições de execução e de segurança suficientes à satisfação dos objetivos [18].

A topografia influencia direta e indiretamente o fogo. A influência direta está relacionada com o relevo do terreno. Quanto mais acentuado for o declive do terreno, mais próximas as chamas estarão dos combustíveis, aumentando a velocidade de

propagação do fogo. Como exemplos de influências indiretas tem-se a altitude, que condiciona as condições meteorológicas e consequentemente, os combustíveis, e a orientação em relação ao sol [12, 7].

Os incêndios apresentam um comportamento dinâmico, portanto as características de propagação alteram-se ao longo do tempo. Isto faz do tempo (cronológico, que não deve ser confundido com meteorológico) um fator importante na descrição do comportamento de um incêndio [3].

Dos fatores mencionados surge o quadrado do fogo florestal, representado na figura 2.5, que reúne os fatores determinantes para o comportamento do fogo [3]. Note-se que, apesar da designação, o quadrado se aplica tanto a fogos como a incêndios rurais.

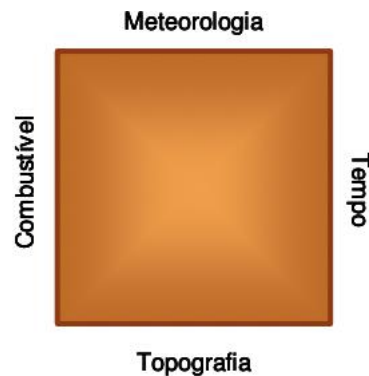


Figura 2.5: Quadrado do fogo florestal [3].

2.1.3. Contexto atual dos incêndios no mundo e em Portugal

Nas últimas décadas testemunharam-se episódios extremos de incêndios por todo o mundo e um aumento dos consequentes impactos negativos, que incluem não só danos do património ambiental, mas também prejuízos económicos e uma grave ameaça à vida humana e aos seus meios de subsistência.

O número de vidas perdidas para os incêndios aumentou 276% nos últimos anos [2]. Na Europa, entre 2000 e 2017, os incêndios provocaram a morte de 611 bombeiros e civis e queimaram cerca de 8,5 milhões de hectares [4]. Estima-se que por ano se perdem 3 mil milhões de euros neste continente devido aos incêndios [2]. Nos Estados Unidos, entre 1999 e 2017, os incêndios destruíram 1545 habitações em média anualmente, valor que subiu para 20000 em 2018 [2].

Os anos de 2019 e 2020 foram marcados por incêndios sem precedentes em todo o mundo, destacando-se as zonas da Austrália, Indonésia, Amazônia, Europa, Chile, Califórnia, África Central e até mesmo do Ártico [2, 9]. Também em 2021 se verificaram ocorrências extremas, salientando-se a Sibéria, a Califórnia e a Grécia [19].

Embora estes incêndios remetam a diferentes origens, possuem um fator comum. As condições da sua propagação foram intensificadas pelas alterações climáticas. Eventos climáticos extremos são cada vez mais intensos e frequentes devido à interferência antropogénica. A crescente severidade de incêndios é resultado das temperaturas cada vez mais quentes e dos períodos de seca mais prolongados e intensos [2, 9]. Desde a industrialização (1850-1900) a temperatura da superfície do planeta aumentou em média 1,09 °C, com algumas zonas a registar aumentos de 1,56 °C [6].

Nos últimos anos tem-se falado de incêndios de sexta geração, resultado de condições meteorológicas ideais à proliferação de incêndios e paisagem homogénea, que se tornaram num novo fenómeno à escala global. Estes são de tal proporção que alteram as condições meteorológicas da zona afetada e provocam tempestades de fogo, podendo consumir mais de 4000 hectares por hora. Os incêndios de Portugal e do Chile de 2017 são dois exemplos deste fenómeno, sendo que no Chile a velocidade de propagação chegou a 8000 hectares por hora e em Portugal foram consumidos entre 10000 e 14000 hectares por hora [2].

Mesmo com os esforços mais ambiciosos por parte da humanidade para controlar as emissões de gases com efeito de estufa, o planeta irá experienciar um aumento dramático da frequência de condições ideais à ocorrência de incêndios florestais extremos. As previsões atuais indicam que a probabilidade da ocorrência de incêndios extremos irá aumentar 9 a 14% até 2030, e 31% a 57% até ao final do século [6]. O controlo dos combustíveis é, assim, essencial na prevenção de incêndios rurais.

Face ao elevado número de ignições e à vasta área ardida em comparação com a dimensão da área nacional, Portugal é um dos países do sul da Europa mais afetados por incêndios [5]. A floresta portuguesa abrange 3,3 milhões de hectares da área nacional (9,2 milhões de hectares), constituindo o principal uso do solo português. A floresta e os espaços silvestres ocupam cerca de 70% de Portugal [20].

Na década de 90 a média do número de ignições anuais foi 22249, que aumentou para 25367 na década de 2000-2009 [21, 5]. Já entre 2010 e 2019 registou-se um número médio anual de 18188 incêndios, o que representa uma diminuição de 28% em relação à década precedente [22]. A tendência observada entre 2010 e 2020 está representada na

figura 2.6. Como se pode constatar, a tendência entre 2010 e 2020 é decrescente, sendo que houve uma diminuição de 63% do número de incêndios de 2010 para 2020 [13, 2].

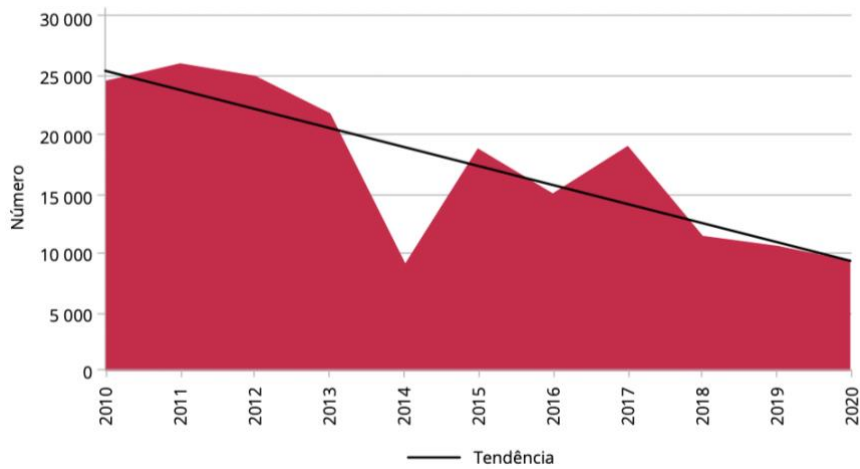


Figura 2.6: Evolução do número de incêndios anual em Portugal entre 2010 e 2020 [2].

Relativamente à superfície queimada média anual, na década de 90 esta correspondia a 91220 hectares, aumentando para 152198 hectares na década de 2000-2009 [21, 5]. Na década de 2010-2019 (figura 2.7) a superfície queimada foi de 136234 hectares, valor 10% inferior à década anterior [22]. Na figura 2.7 é possível notar uma ligeira tendência ascendente ao longo dos anos, e um pico excepcional referente ao ano de 2017, marcado por incêndios de forte intensidade, incluindo a tragédia de Pedrogão Grande. Neste ano arderam aproximadamente 540000 hectares e, devido aos grandes incêndios de Junho e Outubro, perderam-se 107 vidas e 1,5 mil milhões de euros. Nos anos procedentes verificou-se uma descida da superfície queimada para valores inferiores a 100000 hectares [2].

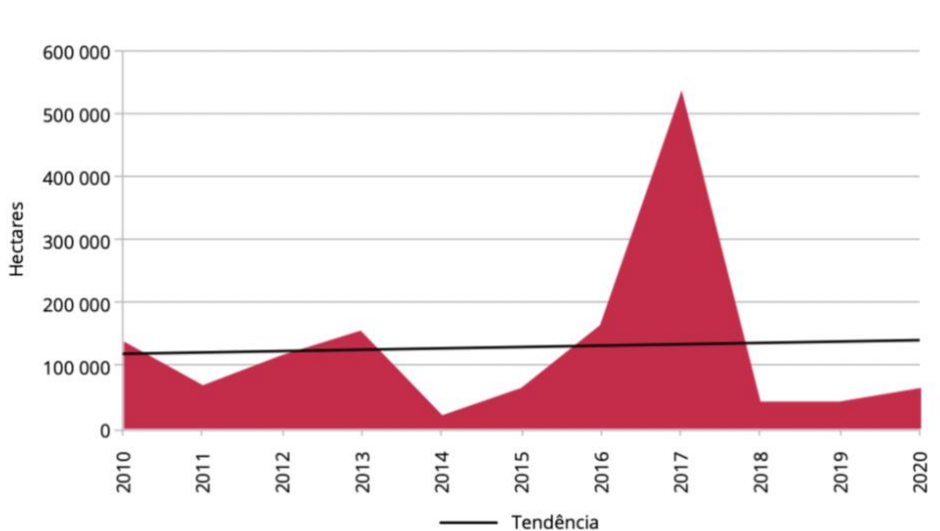


Figura 2.7: Evolução da superfície queimada anual em Portugal entre 2010 e 2020 [2].

O problema que Portugal enfrenta em relação aos incêndios é complexo e pode ser explicado pela combinação de três fatores principais. O primeiro é o clima: Portugal é um país de clima mediterrâneo que, como explicado anteriormente, reúne as condições ideais para a ocorrência e incêndios, agravadas pela situação atual de emergência climática. A característica estrutural do país é outro fator decisivo. Estes problemas incluem a distribuição das florestas e matos em manchas contínuas, das mesmas espécies e com elevado grau de inflamabilidade. A falta de gestão de grande parte das zonas florestais e a negligência por parte dos proprietários contribuem para este problema de difícil resolução [5]. Por último, a maior parte das fontes de ignição são de origem antropogénica, quer de natureza negligente ou voluntária. Entre 2010 e 2020 investigaram-se em média 78% dos incêndios ocorridos. Destas investigações, 35% revelaram-se inconclusivas, isto porque, a identificação da causa é uma tarefa difícil, pois exige a localização do foco original do fogo e a evidência física da fonte de ignição, frequentemente destruída pelo próprio fogo [2, 5]. As causas apuradas neste período encontram-se representadas no gráfico da figura 2.8.

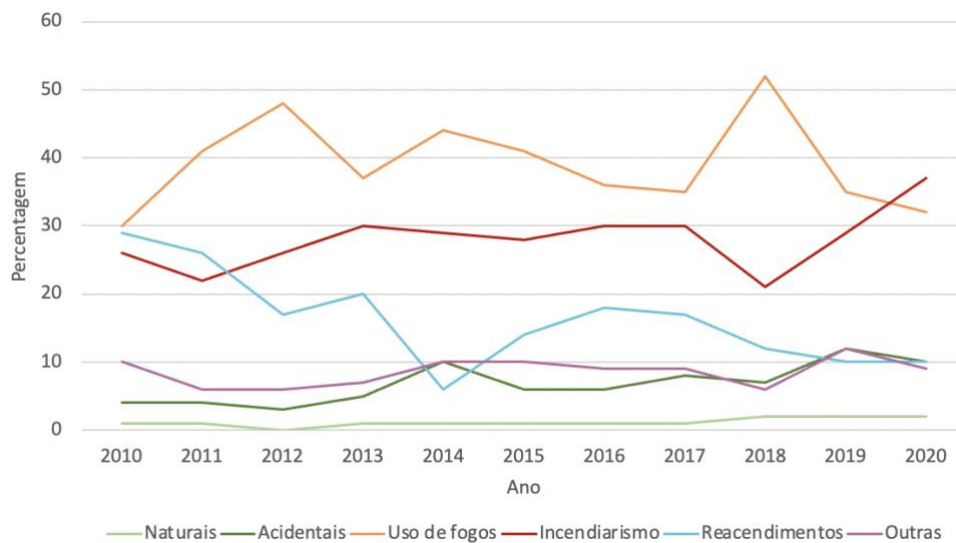


Figura 2.8: Percentagens das causas de incêndios rurais investigados em Portugal entre 2010 e 2020 [22, 13].

Em média, apenas 1% dos incêndios rurais ocorridos em Portugal neste período tiveram origem natural, nomeadamente queda de raios [22, 13]. O uso de fogo, que inclui queimadas e realização de fogueiras, foi a causa da maior parte dos incêndios rurais entre 2010 e 2019. Isto revela que é preciso aumentar a cautela sempre que se pretender realizar as mesmas. Quanto à intencionalidade, o incendiarismo é em média causa de 28% dos

incêndios rurais, valor preocupante que cresceu entre 2018 e 2020, sendo nesse ano a principal causa. Reacendimentos eram uma das principais causas no início da década, mas tem diminuído gradualmente até ao momento presente [13, 22].

Portugal precisa de continuar a apostar e reforçar a consciencialização da população, as medidas de prevenção de incêndios e a ação penal relevante para conseguir controlar este problema [5].

2.2. Emissões dos incêndios rurais

Os incêndios rurais emitem para a atmosfera de diversos compostos poluentes, isto é, que acarretam efeitos negativos para o ambiente, cada vez mais significativos. Os poluentes resultantes da queima da biomassa afetam a atmosfera, o clima, os ecossistemas e a saúde humana. Os incêndios florestais são devastadores para a vida selvagem, não só devido à mortalidade durante o incêndio, mas também devido à destruição e mudança do habitat resultantes. Estes contribuem para a extinção de espécies animais e vegetais, diminuindo a biodiversidade [17, 6]. Outros efeitos menos discutidos incluem a diminuição da visibilidade atmosférica, a deposição de fuligem nas superfícies e a contaminação de aquíferos [17].

O fumo de fogos e incêndios florestais é uma mistura dinâmica de compostos em fase particulada e gasosa, cuja composição está em constante mudança no tempo e no espaço consoante se dispersa a partir da fonte. Esta dispersão é afetada por fatores meteorológicos como o vento e a composição, perto da fonte, varia consoante o combustível. A exposição dos bombeiros a compostos prejudiciais à saúde presentes no fumo é frequente e mais elevada do que a de um cidadão comum [23].

Os poluentes libertados durante um fogo ou incêndio florestal incluem Matéria Particulada (PM), gases com efeito de estufa tais como dióxido de carbono (CO_2), monóxido de carbono (CO) e metano, óxidos de azoto (NO_x), dióxido de enxofre (SO_2), vestígios de metais e compostos orgânicos voláteis (COV), incluindo hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, formaldeído, benzeno, tolueno, acroleína, etilbenzeno, xileno, fenol e acetaldéido. Podem também conter compostos orgânicos persistentes exóticos como dioxinas e furanos. Alguns destes compostos são classificados pela Agência Internacional para a Investigação sobre o Cancro (IARC) como potencialmente

cancerígenos para o seu humano [23, 24, 25]. Cerca de 95% do carbono dos combustíveis rurais é libertado sob a forma de dióxido de carbono, monóxido de carbono e metano [23].

2.2.1. Monóxido e dióxido de carbono

O efeito tóxico do CO está relacionado com a sua capacidade de se ligar à hemoglobina, que é maior do que a do oxigénio (240 vezes), formando carboxiemoglobina. Este composto reduz o transporte de oxigénio no sangue, afetando o cérebro e coração. Níveis de carboxiemoglobina com entre 2% e 5% de saturação têm sido associados a efeitos cardiovasculares em pessoas com doenças cardiovasculares pré-existentes. Níveis de 5% de saturação resultam na diminuição da capacidade de trabalho de adultos e jovens saudáveis. Concentrações mais altas de carboxiemoglobina podem resultar em dores de cabeça, tonturas, fraqueza, desorientação e prejudicar a tomada de decisão. O CO é rapidamente removido do organismo, sendo a meia-vida de eliminação da carboxiemoglobina de 4 a 5 horas [3, 23].

O CO₂ pode também ser prejudicial à saúde. Quando se encontra no ar com concentrações entre 3% e 5% vol. pode provocar dores de cabeça, perturbações respiratórias e desconforto. Em concentrações entre 8% vol. e 10% vol. pode resultar em caibras, perda de sentidos, paragem respiratória e morte [26]. No entanto, apesar do CO₂ ser emitido em grandes quantidades durante um incêndio rural, quando atinge os bombeiros já se encontra diluído no ar em concentrações não tóxicas [3].

2.2.2. Matéria Particulada

Matéria particulada é um dos melhores indicadores dos perigos do fumo de combustões rurais para a saúde. Verificam-se concentrações de partículas acumuladas no ar ambiente maiores durante incêndios florestais [23].

A PM pode ser classificada de acordo com o tamanho das partículas pelo seu diâmetro aerodinâmico, considerando para o efeito que o seu formato é esférico, apesar de isto não se verificar para a maioria. O diâmetro aerodinâmico equivale ao diâmetro de uma esfera de densidade unitária que possua a mesma velocidade de sedimentação que a

partícula em causa. O tamanho das partículas influencia o seu transporte e remoção do ar e define os efeitos da partícula no sistema respiratório humano [27].

O tempo de permanência das partículas no ar pode chegar a dias ou até semanas, dependendo do tamanho das mesmas. Estas podem ser transportados por correntes de ar, afetando o ar a nível local, regional e, possivelmente, global [27].

Verifica-se uma ampla gama de tamanhos da PM, entre diâmetros de $0,002 \mu\text{m}$ e $100 \mu\text{m}$ [27]. Assim, é comum usar-se uma nomenclatura para se classificar a matéria particulada quanto ao seu tamanho, caracterizada por indicar o diâmetro aerodinâmico máximo das partículas em índice inferior após as iniciais PM. Por exemplo, PM_1 refere-se a um conjunto de partículas com diâmetro aerodinâmico inferior a $1 \mu\text{m}$, e $\text{PM}_{2,5}$ a um conjunto com diâmetro aerodinâmico inferior a $2,5 \mu\text{m}$. As partículas podem ser classificadas como grossas, se o seu diâmetro aerodinâmico for superior a $2,5 \mu\text{m}$, ou finas, no caso deste ser inferior a $2,5 \mu\text{m}$ [28].

As partículas suspensas podem ser removidas do ar por deposição seca ou húmida. A deposição seca acontece por ação da força da gravidade sobre as partículas, e é mais eficiente em partículas grossas. A deposição húmida ocorre devido à precipitação, dentro e abaixo das nuvens [27].

A formação de partículas durante a combustão de biomassa vegetal envolve a formação de núcleos de condensação a partir de partículas com um diâmetro aerodinâmico inferior a $0,1 \mu\text{m}$, sendo os núcleos compostos por PAH ou compostos orgânicos de baixa volatilidade [23]. Também se verifica o fenómeno de coagulação, em que partículas chocam entre si formando agregados de maior dimensão, até diâmetros de $0,1 \mu\text{m}$ [28]. A maior parte da emissão de material particulado durante um incêndio florestal corresponde a partículas de menor dimensão, de diâmetro aerodinâmico entre $0,1$ e $2 \mu\text{m}$, portanto, partículas finas [23].

As partículas em suspensão na atmosfera influenciam a visibilidade e o clima, uma vez que absorvem as radiações solares, diminuindo, conseqüentemente, a sua incidência na superfície da Terra [27].

A PM afeta a saúde de diferentes maneiras, sendo alguns dos efeitos a irritação dos olhos e vias respiratórias, a redução da capacidade pulmonar e física e o agravamento de doenças do sistema respiratório já existentes. Através da respiração, as partículas entram pelas narinas e podem chegar aos alvéolos pulmonares, onde se dão as trocas gasosas entre o organismo e o meio ambiente, podendo provocar bronquites, pneumonias, asma, cancro ou morte, dependendo da idade e saúde da pessoa afetada [27].

As partículas grossas são menos prejudiciais para a saúde humana, uma vez que sedimentam mais rapidamente, reduzindo a exposição por inalação. Para além disso, quando são inaladas, estas partículas são filtradas nos pelos do nariz ou ficam retidas na garganta, podendo agravar problemas respiratórios já existentes como a asma. No entanto, estas partículas acabam por ser expulsas por mecanismos naturais do corpo humano característicos das vias respiratórias superiores. Pelo contrário, partículas finas chegam aos brônquios e alvéolos pulmonares, não havendo mecanismos de expulsão das mesmas nas vias aéreas superiores [27].

Salienta-se ainda que as partículas são capazes de absorver e transportar poluentes tóxicos e cancerígenos até ao trato respiratório, como metais tóxicos e moléculas orgânicas, incluindo os PAH. Esta capacidade é maior em partículas finas do que em grossas por as primeiras apresentarem maior superfície específica [27].

A PM emitida pela combustão de biomassa vegetal possui, normalmente, pelo menos 50% de carbono orgânico em massa, sendo este o seu principal constituinte. O carbono elementar (forma inorgânica do carbono) geralmente constitui menos de 10% da PM, mas pode assumir uma percentagem superior dependendo do tipo de vegetação [23].

2.2.3. Outros compostos

Os compostos orgânicos com ponto de ebulição entre 50 °C e 260 °C são classificados como COV e estão associados a vários efeitos adversos para a saúde. Neste contexto, alguns dos COV libertados durante incêndios rurais mais referidos são o benzeno, formaldeído, acroleína, tolueno, etilbenzeno, xileno, fenol, acetaldeído e os PAH [29]. No que concerne ao impacto dos componentes químicos presentes nos fumos de incêndios rurais na saúde humana, o grupo de PAH é o mais estudado [17] e será alvo de maior discussão no capítulo 3.

O benzeno foi classificado como cancerígeno pela IARC e grandes níveis de exposição a este composto podem resultar em defeitos neurológicos, como tonturas, tremores e perda de consciência (300 a 3000 ppm) ou até mesmo morte (20000 ppm) [30, 31]. Adicionalmente, exposição repetida a níveis mais baixos de benzeno (30 a 650 ppm) pode causar irritação ocular e efeitos respiratórios, hematológicos, como leucemia, e imunológicos [23, 31].

O formaldeído e a acroleína são irritantes respiratórios a baixas concentrações (0,3 a 4 ppm, e 0,3 ppm), sendo que a sua exposição pode resultar em irritação nasal, do trato respiratório e ocular [32, 33]. A acroleína é um irritante mais forte e em concentrações altas (>5 ppm) pode provocar lesão pulmonar e morte [33]. O formaldeído é classificado como cancerígeno para o ser humano pela IARC (grupo 1) e como provavelmente cancerígeno para o ser humano pela Agência de Proteção Ambiental Americana (US-EPA) (grupo B1) [30, 34]

O tolueno é um irritante respiratório leve a moderado capaz de causar problemas com o sistema nervoso, sendo exemplos de efeitos temporários dores de cabeça, tonturas e inconsciência. Incoordenação, comprometimento cognitivo e perda de visão e audição podem-se tornar permanentes mediante a exposição repetida a tolueno, no entanto estes efeitos estão mais relacionados com abuso intencional de solventes. Exposição diária a níveis baixos a moderados de tolueno (0,8 a 200 ppm) podem causar cansaço, confusão, fraqueza, náusea, perda de apetite, entre outros. Outros efeitos na saúde incluem problemas imunológicos, renais, hepáticos e reprodutivos [35].

Também o etilbenzeno tem sido associado a problemas neurológicos, tendo sido reportado como um agente neurotóxico, e capaz de inibir a proliferação celular e causar stress oxidativo [36]. A exposição a níveis altos de etilbenzeno no ar (2000 a 5000 ppm) por um curto período de tempo pode irritar os olhos e a garganta, e causar vertigens e tonturas [37]. Este composto é classificado como possivelmente cancerígeno pela IARC (grupo 2B) [30].

O xileno e o fenol são irritantes para os olhos e nariz e não são classificados como cancerígenos para humanos pela IARC ou US-EPA [38, 39]. Exposição prolongada ao xileno pode causar hemorragia alveolar, edema pulmonar, dispneia e diminuição da função pulmonar. Ao xileno foram também associados sintomas cardiovasculares como palpitações e dores no peito, sintomas gastrointestinais como náusea, e sintomas neurológicos como ansiedade, tonturas, dificuldade de concentração e esquecimento [38]. Efeitos a curto prazo do fenol incluem respiração irregular, fraqueza muscular e tremores, perda de coordenação, entre outros. São exemplos de efeitos resultantes de exposição crónica ao fenol vertigens, salivação, anorexia e irritação gastrointestinal [39].

Por sua vez, o acetaldeído pode causar danos a nível celular e genómico, o que está associado a acidente vascular cerebral patológico, encefalopatia de Wernicke, doença de Alzheimer, entre outros [40]. Este é classificado como possivelmente cancerígeno pela IARC (grupo 2B) [30]. O seu principal efeito a curto prazo resultante da exposição por

inalação é a irritação dos olhos, da pele e do trato respiratório. Níveis de exposição superiores (>200 ppm) podem resultar em conjuntivite, tosse, eritema, edema pulmonar e necrose, e em casos mais extremos paragem respiratória [41, 42].

Os NO_x correspondem a uma família de sete compostos, dos quais se destaca o dióxido de azoto (NO₂) por ser a forma mais predominante de NO_x. Estes compostos reagem na atmosfera, formando ozono e chuvas ácidas [43]. O NO₂ induz várias respostas pulmonares, como o declínio da função pulmonar, hiperresponsividade das vias aéreas e broncoconstrição, tendo também sido associado a eventos respiratórios e cardiovasculares. Pessoas com doenças pré-existentes são mais vulneráveis à exposição do NO₂. Os efeitos deste composto estão mais relacionados com concentração do que com a duração de exposição [23].

O SO₂ é capaz de afetar o sistema respiratório, provocando sintomas respiratórios tais como falta de ar e broncoconstrição, sendo que pessoas com asma são mais sensíveis a este poluente. Este foi também associado a alterações no sistema nervoso e mortalidade [44].

O ozono é um poluente secundário, portanto, ao contrário dos poluentes primários, não é emitido diretamente para a atmosfera por uma fonte. Este resulta de uma série de reações químicas na atmosfera que envolvem a interação da luz com poluentes primários precursores de ozono, nomeadamente o CO, o NO₂ e COV. Consequentemente, o ozono é potenciado pelos incêndios rurais [23, 24]. Embora na estratosfera desempenhe uma função indispensável de proteção contra a radiação ultravioleta, na troposfera o ozono provoca efeitos negativos na saúde humana e no ambiente. O ozono afeta principalmente as mucosas, podendo tornar os pulmões mais sujeitos a inflamações, levar a ataques de tosse ou asma e a irritações nos olhos e na garganta [17]. Outras consequências incluem efeitos cardiovasculares e morbidez e mortalidade associadas a doenças respiratórias [23].

As dibenzo-p-dioxinas policloradas e os dibenzofuranos policlorados, comumente chamados de dioxinas e furanos, respetivamente, são duas classes de compostos aromáticos que apresentam propriedades físicas e químicas semelhantes. A estrutura das dioxinas consiste em dois anéis aromáticos ligados por dois átomos de oxigénio, podendo conter 4 a 8 átomos de cloro ligados aos anéis. No caso dos furanos os anéis estão ligados por um só átomo de oxigénio. Existem 75 congêneres de dioxinas e 135 de furanos, que possuem diferentes níveis de toxicidade. De modo geral, exposição prolongada a dioxinas pode debilitar o sistema imunológico e causar alterações no sistema nervoso, endócrino, hormonal e reprodutivo [45, 46].

2.3. Bombeiros

Os corpos de bombeiros profissionais, mistos ou voluntários, de acordo com o Decreto-Lei n.º 248/2012 de 21 de novembro de 2012 [47], desempenham um papel fundamental no socorro às populações. A missão destes prende-se com a proteção de vidas humanas e bens em perigo através da prevenção e combate a incêndios, do socorro às populações em casos de inundações ou desabamentos, do socorro a naufragos, feridos e doentes, e outras atividades relevantes impostas pela legislação. Bombeiro é o indivíduo que, integrado num corpo de bombeiros, tem por atividade cumprir a sua missão [48]. A idade de ingresso nesta carreira está compreendida entre os 18 e os 35 anos, e a idade máxima é de 65 anos [49].

Como resultado das atividades que exercem, os bombeiros são constantemente sujeitos a diversos riscos ocupacionais que, a curto e/ou longo prazo, culminam em efeitos negativos na sua saúde. Alguns destes riscos ou fatores de risco incluem o desconforto térmico, ruído, exposição a agentes biológicos, potencial oncológico, *stress/burnout*, entre muitos outros [1].

O ambiente testemunhado durante um incêndio rural é caracterizado por calor radiante e convectivo, projeção de material incandescente, queda de objetos (como por exemplo pinhas em chamas), fumo, níveis limitados de oxigénio entre outros. O combate a incêndios é fisicamente exigente, havendo longos períodos de trabalho de baixa intensidade e por vezes de esforço moderado e alta intensidade. É de realçar que, perante o comportamento impressível e violento de alguns incêndios, os bombeiros podem sujeitar-se a esta tarefa por durações imprevisíveis [10]. Complicações a curto prazo resultantes incluem irritação dos olhos, nariz e garganta, dor de cabeça, gastroenterites e agravamento de condições respiratórias, nomeadamente asma, rinite e sinusite [50].

Com o intuito de preservar ao máximo a sua saúde e segurança durante o combate a incêndios, os bombeiros devem estar munidos de Equipamento de Proteção Individual (EPI), constituído por vários meios ou dispositivos associados que visam proteger o utilizador contra um ou mais riscos [10].

Os EPIs mais comuns entre os bombeiros são o fato, composto por casaco e calça, capacete, máscara de tecido denominada cogula, luvas e botas [1]. É de salientar que os EPIs utilizados pelos bombeiros não são sempre os mesmos, sendo, pelo contrário, específicos e adequados para uma determinada missão. Por exemplo, os EPIs utilizados

durante incêndios urbanos ou industriais têm características diferentes dos utilizados durante incêndios rurais, que podem ser observados na figura 2.9 [51].



Figura 2.9: EPIs usados pelos bombeiros no combate a incêndios florestais [52].

Os capacetes são relativamente mais leves e arejados em comparação com capacetes utilizados noutras missões, e são feitos de um material resistente ao fogo e calor radiante. Estes não possuem viseira, sendo utilizados óculos de proteção na região ocular acoplados ao capacete [51].

As coagulas (de cor bege na figura 2.9) utilizadas pelos bombeiros durante o combate a incêndios florestais protegem a cabeça, região cervical e ombros contra o fogo e calor por serem feitos por um material ignífugo. Como se pode constatar pela figura 2.9, tapam o nariz e a boca, deixando apenas uma abertura para os olhos. Há ainda uma máscara de partículas também feita de um material ignífugo que, além de proteger a face e o pescoço de queimaduras, obstrói e reduz a inalação de fumo e partículas. Esta possui um orifício central de ventilação que impede a acumulação de CO₂, e não é de uso obrigatório [49].

O vestuário de proteção pode ser um conjunto de calça e camisa de manga comprida como representado na figura 2.9, ou um fato-macaco, reforçado nos ombros, cotovelos, joelhos e interior das pernas. O casaco possui uma gola que deve permanecer fechada aquando combate, e um sistema de extração/resgate por arrastamento na parte superior das costas. As luvas protegem as mãos e punhos do calor e possíveis cortes e perfurações. As botas possuem isolamento interior ao calor, são impermeáveis e resistentes ao escorregamento e possuem atacadores ignífugos. As extremidades possuem um sistema de aperto para ajuste das mangas às luvas e das calças às botas. O equipamento possui faixas de material refletor e fotoluminescente de alta visibilidade para os bombeiros serem mais facilmente visíveis, principalmente durante a noite [51, 49].

É comum utilizar roupa por baixo do fato, como é o caso de uma camisola interior de manga comprida também feita de um material ignífugo. Os bombeiros possuem ainda o abrigo de incêndio rural com a forma de uma tenda de campismo quando desdobrado que transportam consigo à cintura. Estes refletem 95% do calor, permitindo ao bombeiro proteger-se do calor e respirar ar mais fresco ao deitar-se no seu interior [51, 49].

Os acidentes pessoais podem ser reduzidos ou evitados quando os EPIs são adequados, de qualidade e utilizados corretamente. No entanto, é necessário compreender que mesmo verificadas estas condições todo o equipamento tem limitações e não garante, por si só, a segurança do utilizador. Outros fatores importantes para segurança passam pela formação e capacidade física e mental do bombeiro. Para além disso, é deveras importante referir que o uso dos EPIs nem sempre é correto [51].

Embora os EPIs sejam essenciais para a proteção dos bombeiros podem contribuir para um certo desconforto, incluindo o peso adicional que pode variar conforme a situação [49].

Para além dos riscos descritos anteriormente resultantes da exposição a emissões de incêndios rurais, os bombeiros estão ainda sujeitos a outros, tais como desconforto térmico, *stress* e desidratação.

A capacidade de trabalhar num ambiente a temperaturas elevadas é significativamente inferior à de trabalhar em ambientes mais frios. Uma pessoa encontra-se em conforto térmico quando a temperatura interna verifica pequenas oscilações entre 35 e 37 °C. Perante condições extremas de frio ou calor, o corpo pode não conseguir produzir ou dissipar a quantidade de calor necessária para manter equilíbrio térmico, encontrando-se numa situação de *stress* térmico. A principal defesa do organismo contra o calor é a transpiração que, ao evaporar, provoca o arrefecimento da temperatura

corporal. No entanto, o calor e a transpiração podem ficar retidos dentro do equipamento de proteção, dificultando o trabalho do bombeiro e podendo levar a problemas como desidratação. Durante as pausas, os bombeiros devem remover os EPIs e hidratar-se devidamente [1, 10].

A exposição repetida a temperaturas elevadas pode enfraquecer o sistema imunitário, tornando o organismo mais sensível a infeções e problemas oncológicos. Para além disso, a atividade física intensa associada a altas temperaturas pode tornar os indivíduos mais suscetíveis a atividade inflamatória, aumentando a rigidez arterial, diminuindo o volume sistólico de ejeção e potenciando a coagulação do sangue [1].

O *stress* é um fator inerente à ocupação de bombeiro por estes se depararem com situações onde a vida humana é ameaçada, quer seja a sua, de colegas ou de cidadãos, sobrecarga de tarefas, falta de segurança, falta de reconhecimento, cansaço entre outros. O *stress*, por sua vez, pode levar a outras complicações, como alterações no sono ou na tensão arterial. Em casos extremos o *stress* ocupacional pode levar à perda de emoções e motivação, e depressão [1].

Os eventos cardiovasculares e o cancro são duas das maiores preocupações a nível de saúde dos bombeiros. Verifica-se uma incidência superior de acidentes cardiovasculares e mortalidade associada nos bombeiros do que na população geral [53]. Isto deve-se à combinação de fatores como exposição ao fumo, desconforto térmico, desidratação, *stress*, esforço físico, e ainda a fatores de riscos cardiovasculares pessoais [1]. A principal causa de morte em serviço durante o combate a incêndios são paragens cardíacas, tendo sido responsáveis por 42% das mortes entre 2008 e 2018. Por cada um destes casos, ocorrem perto de 17 acidentes cardíacos não fatais durante ou imediatamente após o combate a incêndios [54].

A IARC classificou a atividade de combate ao fogo como possivelmente cancerígena para humanos (grupo 2B), por considerar a evidência entre esta atividade e a patologia oncológica limitada. Os principais riscos oncológicos associados aos bombeiros são o mieloma múltiplo, linfoma não Hodgkin, leucemia, cancro cerebral, nos rins, nos pulmões, no esófago, na bexiga e uretra, da mama, da próstata e do testículo [50, 1].

Os problemas crónicos são difíceis de avaliar de forma clara e quantitativa devido a todas as influências ambientais e de comportamento na saúde. É de notar, que a exposição dos bombeiros a compostos prejudiciais à sua saúde vai para além dos incêndios rurais. Outras fontes incluem incêndios urbanos, as queimadas, veículos e fumo de tabaco [17, 50].

Como foi referido, os EPIs nem sempre são utilizados de forma correta. O calor associado ao cansaço e atmosfera adversa dificulta a respiração e há uma certa tendência a retirar a máscara de proteção. A título de exemplo, um estudo português realizado em 2008 com uma amostragem de 357 bombeiros concluiu que apenas 38% destes usava proteção respiratória durante o combate a incêndios e que apenas 9,5% o fazia sem exceções [1].

Capítulo 3

Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos

Os PAH são um vasto grupo de compostos orgânicos de átomos de carbono e hidrogénio agrupados em 2 a 7 anéis aromáticos condensados, com diferentes configurações [55].

Os PAH são formados durante a pirólise e combustão incompleta de matéria orgânica. De acordo com isto, e como foi discutido até agora, a combustão resultante de incêndios rurais é acompanhada da emissão significativa destes compostos. Os incêndios rurais e as erupções vulcânicas são as principais fontes naturais de PAH [50]. As fontes antropogénicas incluem a queima de combustíveis fósseis como o petróleo e o carvão, produção de coque e de metal, incineração de lixo, emissões resultantes do tráfego automóvel, desgaste de pneus, fumo do tabaco, aquecimentos domésticos como lareiras, queima de velas ou incenso e cozinhar [55, 56, 50].

As suas propriedades físico químicas fazem dos PAH compostos de alta mobilidade no ambiente, podendo ser transportados por longas distâncias na atmosfera antes de se depositarem nos solos, vegetações ou água, através da precipitação. Como resultado da sua presença ubíqua e como alguns destes hidrocarbonetos são cancerígenos, mutagénicos e teratogénicos, estes representam uma séria ameaça para a saúde [57]. Assim, a monitorização destes compostos torna-se essencial em matrizes biológicas e ambientais [55].

Foram identificados até este momento centenas de PAH. No entanto, para avaliar a exposição a estes compostos são selecionados aqueles normalmente encontrados em concentrações mais significativas no meio ambiente. Dos PAH identificados, 16 são classificados como poluentes prioritários na lista de poluentes atmosféricos perigosos da US-EPA. Para além destes, estudos sobre PAH podem incluir outros compostos, como é o caso do benzo(j)fluoranteno, uma vez que foi classificado como possivelmente

cancerígeno [58]. As estruturas químicas dos 18 PAH analisados na presente dissertação estão representadas na figura 3.1.

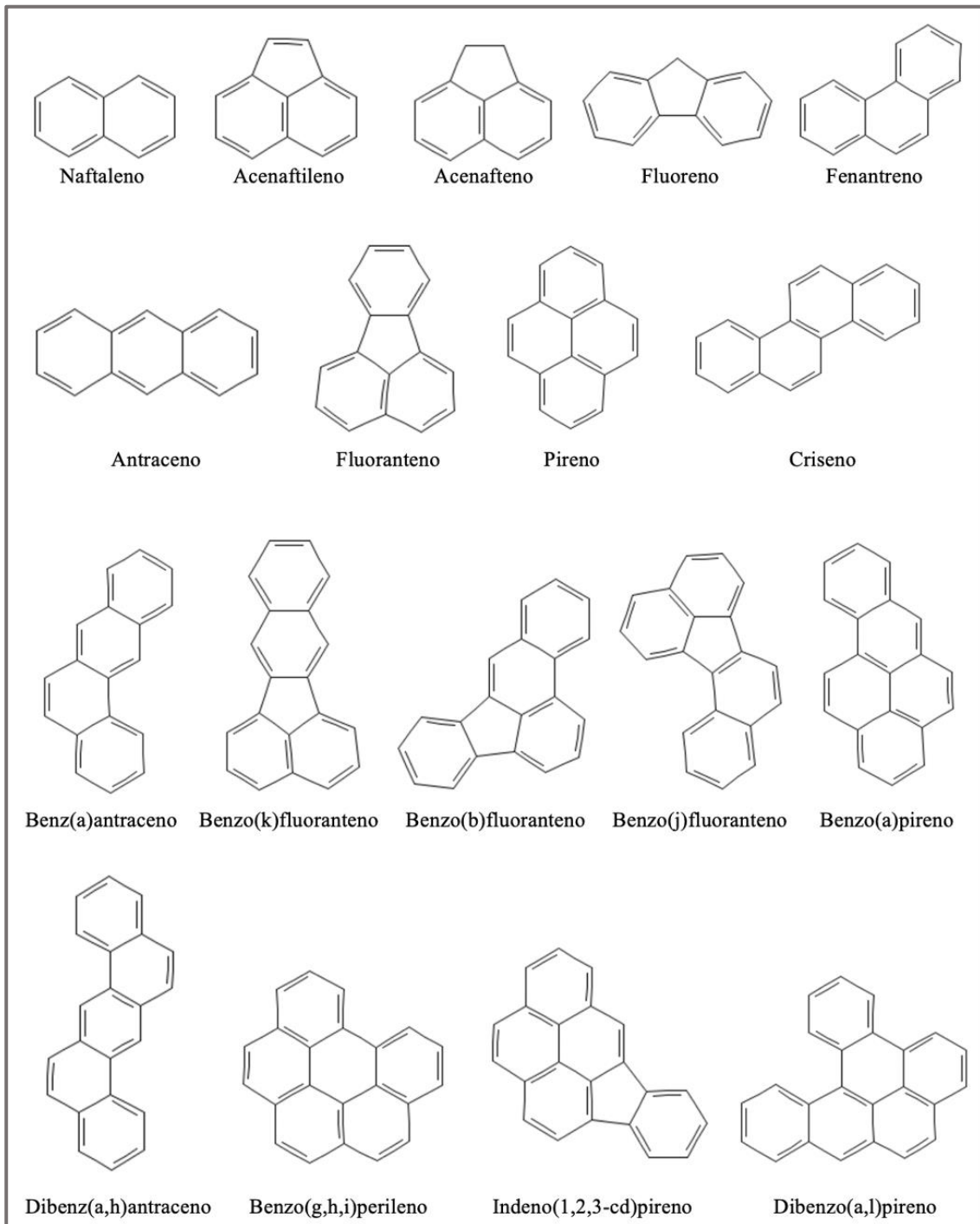


Figura 3.1: Estruturas químicas dos 18 PAH analisados na presente dissertação [59].

3.1. Propriedades físico-químicas

Os PAH puros são normalmente coloridos, cristalinos e sólidos à temperatura ambiente, apresentando elevadas temperaturas de fusão e ebulição [55]. Algumas propriedades dos PAH incluídos nesta dissertação são apresentadas na tabela 3.1.

As propriedades físico-químicas dos PAH variam com a sua massa molar e estrutura química. Estes podem ser divididos em duas categorias de acordo com a sua massa molar. PAH de baixa massa molecular possuem menos de quatro anéis aromáticos, e PAH de alta massa molecular possuem quatro ou mais anéis aromáticos. De modo geral, quanto maior a massa molar dos PAH, menor é a sua pressão de vapor, o que significa que menor é a sua volatilidade [55].

Estes compostos são altamente lipofílicos, ou seja, altamente solúveis em solventes orgânicos, facto pelo que se pode comprovar pelos seus coeficientes de partição octanol-água. Os valores desta propriedade (tabela 3.1) indicam que os PAH podem ser absorvidos através de tecidos biológicos como a pele [55]. Pelo contrário, a sua solubilidade em solventes aquosos é reduzida, e diminui com o aumento da massa molecular [55, 60].

Estes hidrocarbonetos possuem espectros de absorção na zona do ultravioleta (UV) característicos. Como a estrutura de cada composto possui um espectro de UV único, a identificação destes compostos pode ser feita através da espectrofotometria de UV. Alguns PAH também apresentam fluorescência, emitindo comprimentos de onda característicos quando excitados [55].

Tabela 3.1: Principais propriedades físico-químicas dos PAH determinados neste estudo. MM: Massa molecular (g/mol), PF: Ponto de fusão (°C), PE: Ponto de ebulição (°C), P_v: Pressão de vapor a 25 °C (mmHg), S: solubilidade em água a 25 °C (mg/L), K_{ow}: coeficiente de partição octanol-água, H: Constante de Henry a 25 °C (atm.m³/mol) [59].

PAH		Nº de anéis	Fórmula	MM (g/mol)	PF (°C)	PE (°C)	P _v a 25 °C (mmhg)	S a 25 °C (mg/L)	log (K _{ow})	H a 25 °C (atm.m ³ /mol)
Nome	Abreviatura									
Naftaleno	Nap	2	C ₁₀ H ₈	128,17	80,2	217,9	0,085	31	3,30	4,40×10 ⁻⁴
Acenaftileno	Acy	3	C ₁₂ H ₈	152,19	92,5	280,0	0,0048	3,93	3,93	1,25×10 ⁻⁴
Acenafteno	Ace	3	C ₁₂ H ₁₀	154,21	93,4	279,0	0,0022	3,90	3,92	1,84×10 ⁻⁴
Fluoreno	Flu	3	C ₁₃ H ₁₀	166,22	114,8	295,0	6,00×10 ⁻⁴	1,69	4,18	9,62×10 ⁻⁵
Fenantreno	Phe	3	C ₁₄ H ₁₀	178,23	99,2	340,0	1,21×10 ⁻⁴	1,15	4,46	4,23×10 ⁻⁵
Antraceno	Ant	3	C ₁₄ H ₁₀	178,23	215,0	339,9	6,56×10 ⁻⁶	7,3×10 ⁻² [61]	4,45	4,88×10 ⁻⁵
Fluoranteno	Fln	4	C ₁₆ H ₁₀	202,25	107,8	384,0	9,22×10 ⁻⁶	0,260 [61]	5,16	9,45×10 ⁻⁶ (20 °C)
Pireno	Pyr	4	C ₁₆ H ₁₀	202,25	151,2	404,0	4,5×10 ⁻⁶	0,135	4,88	1,19×10 ⁻⁵
Benz(a)antraceno	B(a)A	4	C ₁₈ H ₁₂	228,30	162,0	437,6	2,1×10 ⁻⁷	9,4×10 ⁻³	5,76	1,20×10 ⁻⁵
Criseno	Chry	4	C ₁₈ H ₁₂	228,30	258,2	448,0	6,23×10 ⁻⁹	2,0×10 ⁻³	5,73	5,23×10 ⁻⁶
Benzo(b)fluoranteno	B(b)F	5	C ₂₀ H ₁₂	252,30	168,0	481,0	5,0×10 ⁻⁷	2,0×10 ⁻³ [61]	5,78	6,67×10 ⁻⁷
Benzo(j)fluoranteno	B(j)F	5	C ₂₀ H ₁₂	252,30	166,0	480,0 [61]	2,7×10 ⁻⁸	2,5×10 ⁻³ [61]	6,11	2,0×10 ⁻⁷
Benzo(k)fluoranteno	B(k)F	5	C ₂₀ H ₁₂	252,30	217,0	480,0	9,65×10 ⁻¹⁰	8,0×10 ⁻⁴	6,11	5,84×10 ⁻⁷
Benzo(a)pireno	B(a)P	5	C ₂₀ H ₁₂	252,30	176,5	495,0	5,49×10 ⁻⁹	1,62×10 ⁻³	6,13	4,57×10 ⁻⁷
Dibenzo(a,l)pireno	D(a,l)P	6	C ₂₄ H ₁₄	302,40	162,4	630,6	4,8×10 ⁻¹⁰	3,62×10 ⁻³	7,71	1,41×10 ⁻⁸
Dibenz(a,h)antraceno	D(a,h)A	5	C ₂₂ H ₁₄	278,30	268,5	524,0	9,55×10 ⁻¹⁰	2,49×10 ⁻³	6,50	1,4×10 ⁻⁷
Benzo(g,h,i)perileno	B(g,h,i)P	6	C ₂₂ H ₁₂	276,30	278,0	550,0	1,0×10 ⁻¹⁰	2,6×10 ⁻⁴	6,63	2,66×10 ⁻⁷ (20 °C)
Indeno(1,2,3-cd)pireno	InP	6	C ₂₂ H ₁₂	276,30	163,6	536,0	1,25×10 ⁻¹⁰	6,2×10 ⁻²	6,58	3,48×10 ⁻⁷

3.2. PAH no meio ambiente

Os PAH distribuem-se pelo ar na forma de vapor ou adsorvidos/absorvidos em PM, dependendo das suas propriedades, das propriedades dos aerossóis e das condições atmosféricas (temperatura, pressão e humidade) [55].

De modo geral, PAH de baixa massa molecular existem maioritariamente na fase gasosa, uma vez que apresentam maior volatilidade e uma menor constante de Henry. Estes podem também encontrar-se associados a PM a partir da sua condensação. No caso de PAH com mais de quatro anéis aromáticos, estes não apresentam vaporização significativa independentemente das condições ambientais, devido às suas baixas pressões de vapor. Consequentemente, estes estão predominantemente associados a PM. PAH com quatro anéis aromáticos, como o pireno e o fenantreno, encontram-se tanto na fase gasosa como na fase particulada, sendo mais suscetíveis a influências ambientais [55, 62, 60].

A quantidade de PAH na fase particulada tende a aumentar com o aumento de partículas no ar (fuligem, poeira, cinzas voláteis, óxidos metálicos pirogénicos, pólen, entre outros). Assim, sendo que estão presentes mais partículas na atmosfera em climas mais frios, as concentrações de PAH na fase gasosa são maiores em zonas tropicais e aumentam no verão, enquanto as concentrações na fase particulada são superiores em zonas árticas e aumentam durante o inverno. Para além disso, quanto maior a temperatura do meio em que se encontram, mais o equilíbrio se desloca no sentido dos PAH estarem na fase gasosa [55, 62].

A distribuição de PAH na atmosfera está também relacionada com a humidade na atmosfera. Nuvens e nevoeiros promovem a formação de partículas, tendo-se como exemplo a oxidação de dióxido de enxofre em sulfatos, e a remoção de partículas, por exemplo, favorecendo a sua nucleação, seguida da deposição ou incorporação na precipitação. A concentração de PAH no nevoeiro é superior à concentração na chuva, e a concentração de PAH na atmosfera diminui após ambos. É ainda de notar que a concentração de PAH de baixa massa molecular é superior aos de alta massa molecular, devido à crescente solubilidade em água com a redução da massa molecular [63].

Um outro fator relevante na presença de PAH na atmosfera é a sazonalidade. Na grande parte das zonas urbanas e rurais, onde as fontes de PAH estão relacionadas com o aquecimento, verificam-se variações significativas das concentrações destes hidrocarbonetos, aumentando durante épocas frias. Em zonas onde as fontes de PAH são

dominantemente industriais, as concentrações destes não apresentam variações significativas, isto porque as emissões tendem a ser constantes ao longo do ano [55].

Os PAH associados à PM podem ser depositados na biosfera, principal via pela qual estes compostos passam do ar para os restantes meios, nomeadamente solo, água, fauna e flora [55].

3.3. Exposição

Devido ao carácter ubíquo dos PAH e facilidade de se distribuírem pelos vários compartimentos ambientais, a exposição do ser humano a estes componentes acontece por inalação, ingestão ou através da derme [56, 64]. As principais vias de exposição da população em geral são a respiração do ar, tanto em ambientes externos como internos, o consumo de alimentos e água contendo PAH, a inalação de fumo provenientes de lareiras, o hábito de fumar e a inalação do fumo resultante. A exposição pode ainda ocorrer através do contacto dérmico com o solo ou poeiras, sendo mais relevante em crianças ou em grupos ocupacionalmente expostos [55, 56, 64].

Como foi mencionado anteriormente, os PAH presentes no ar ambiente provêm de diversas fontes, como a queima de combustíveis fósseis e o tráfego automóvel. No que toca ao ar em ambientes internos, este é contaminado não só pelo ar exterior, mas também por fontes internas, principalmente lareiras e a preparação de alimentos [56].

A exposição resultante de alimentos provém não só das emissões resultantes da confeção dos mesmos através, por exemplo, de processos como grelha e defumação, como também do produto final, principalmente se este foi grelhado ou carbonizado. Para além disso, os próprios alimentos podem conter PAH, uma vez que as culturas podem absorvê-los do solo, água ou ar [55].

Relativamente à exposição ocupacional a PAH, esta verifica-se em trabalhadores que respiram gases de exaustão como mecânicos, vendedores ambulantes e motoristas de veículo motorizados, mineiros, trabalhadores da indústria metalúrgica e petrolífera, e bombeiros [55]. A exposição dérmica assume um papel preponderante para algumas ocupações, tais como carpinteiros, pavimentadores de estrada, trabalhadores de asfalto e, claro, bombeiros. É, portanto, de realçar a importância dos EPIs para minimizar este efeito [64]. Algumas exposições ocupacionais envolvem múltiplas vias, todas contribuindo para a dose total de PAH no organismo [55].

3.4. Efeitos na saúde

Os PAH entram no corpo humano pelos pulmões, trato gastrointestinal e pele, uma vez que são facilmente absorvidos por estes devido ao seu carácter altamente lipofílico [55, 57]. Os efeitos dos PAH na saúde humana dependem principalmente da duração da exposição, da concentração de PAH durante a exposição, da toxicidade dos PAH e da via de exposição. Outros fatores incluem condições de saúde pré-existentes e idade [55].

A exposição a PAH a curto prazo causa dor de cabeça, tonturas, náusea e vômitos, irritação dos olhos e vias respiratórias e desenvolvimento e/ou agravamento de distúrbios respiratórios pré-existentes, nomeadamente tosse, rinite e asma [50]. Alguns PAH são também conhecidos por causar irritação e inflamação da pele. O antraceno e benzo(a)pireno são sensibilizadores da pele, isto é, causam uma resposta alérgica da pele em animais e humanos e, assim como o naftaleno são irritantes para a pele [55].

Efeitos a longo prazo a que os bombeiros podem estar sujeitos são cataratas, diminuição da função imunológica, danos nos rins e fígado, problemas respiratórios, anormalidades da função pulmonar e sintomas semelhantes à asma. Sabe-se ainda que a exposição ao PAH pode promover o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e afetar o sistema reprodutor. Após transformações metabólicas, os PAH podem reagir com o ácido desoxirribonucleico (ADN), tornando-os assim potencialmente mutagénicos e cancerígenos [58, 50]. Associações positivas foram relatadas entre a exposição ocupacional de bombeiro e o desenvolvimento de leucemia, cancro da pele, do rim, do pulmão, do testículo e urotelial [50].

Apesar dos PAH de baixa massa molecular serem considerados menos tóxicos, é importante referir que estes podem reagir com outros poluentes, formando compostos com toxicidade mais significativa. Como exemplo tem-se o ozono, óxidos de nitrogénio e dióxido de enxofre, que reagindo com PAH dão origem a dicetonas, nitro-PAH e dinitro-PAH, e ácido sulfúrico, respetivamente [55].

Por representarem riscos severos para a saúde humana, a toxicidade destes compostos tem sido avaliada por várias organizações nacionais e internacionais, como a US-EPA, a IARC, o Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) e o Comité Misto Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO)/Organização Mundial de Saúde (OMS) de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA) [29]. A classificação do potencial cancerígeno pela IARC e pela US-EPA dos PAH considerados na presente dissertação é apresentada na tabela 3.2

Tabela 3.2: Classificação de alguns PAH pela IARC e a US-EPA quanto ao seu potencial carcinogénico, respetivos fatores de equivalência tóxica, TEF, e riscos unitários de inalação. TEF: fatores de equivalência tóxica; IUR: riscos unitários de inalação.

Composto	Classificação		TEF ^[29]	IUR ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) ⁻¹ [65]
	IARC ^[30]	US-EPA ^[34]		
Naftaleno	2B	C	0,0001	$3,4 \times 10^{-5}$
Acenaftileno	-	D	0,0001	-
Acenafteno	3	-	0,0001	-
Fluoreno	3	D	0,0001	-
Fenantreno	3	D	0,0001	-
Antraceno	3	D	0,001	-
Fluoranteno	3	D	0,0001	-
Pireno	3	D	0,0001	-
Benz(a)antraceno	2B	B2	0,1	$6,0 \times 10^{-5}$
Criseno	2B	B2	0,001	$6,0 \times 10^{-7}$
Benzo(b)fluoranteno	2B	B2	0,1	$6,0 \times 10^{-5}$
Benzo(j)fluoranteno	2B	-	0,1	-
Benzo(k)fluoranteno	2B	B2	0,1	$6,0 \times 10^{-6}$
Benzo(a)pireno	1	A	1	$6,0 \times 10^{-4}$
Dibenzo(a,l)pireno	2A	-	-	-
Dibenz(a,h)antraceno	2A	B2	1	$6,0 \times 10^{-4}$
Benzo(g,h,i)perileno	3	-	0,001	-
Indeno(1,2,3-cd)pireno	2B	B2	0,1	$6,0 \times 10^{-5}$

Classificação IARC - Grupo 1: cancerígeno para humanos; Grupo 2A: provavelmente cancerígeno para humanos; Grupo 2B: possivelmente cancerígeno para humanos; Grupo 3: não classificável como cancerígeno para humanos.
Classificação US-EPA - Grupo A: cancerígeno para humanos; Grupo B1: provavelmente cancerígeno para humanos (evidências limitadas); Grupo B2: provavelmente cancerígeno para humanos (evidências inadequadas); Grupo C: possivelmente cancerígeno para humanos; Grupo D: não classificável como cancerígeno para humanos; Grupo E: não cancerígeno para humanos.

A toxicidade de uma mistura complexa pode ser avaliada através de fatores de equivalência tóxica (TEF), que expressam o potencial carcinogénico de um dado composto em relação a um composto de referência bem caracterizado. A toxicidade da respetiva mistura é expressa em termos de concentração de toxicidade equivalente (TEQ) deste composto [66].

Devido ao seu potencial carcinogénico e ao facto da sua toxicidade estar bem caracterizada, o benzo(a)pireno tem vindo a ser utilizado como indicador de risco carcinogénico da exposição humana a misturas de PAH no ar ambiente. Para este efeito, existem TEF para certos PAH (tabela 3.2), que expressam o seu potencial carcinogénico em relação ao benzo(a)pireno [58, 66]. Deste modo, o potencial carcinogénico de misturas de PAH pode ser apresentado em concentração equivalente de benzo(a)pireno ($B(a)P_{eq}$) e resulta da soma das concentrações individuais de cada PAH, multiplicada pelo respetivo TEF, como dita a equação 3.1 [66].

$$TEQ = \sum (C_i \times TEF_i) \quad (3.1)$$

Onde,

TEQ é a concentração de toxicidade equivalente ($\mu\text{g}/\text{m}^3$);

C_i é a concentração do PAH i ($\mu\text{g}/\text{m}^3$);

TEF é o fator de toxicidade equivalente do PAH i (adimensional).

Várias metodologias para estimar o risco ao longo da vida podem ser usadas para determinar o risco de um indivíduo desenvolver uma doença específica resultante da exposição a um ou vários compostos. Uma dessas metodologias, desenvolvida pela US-EPA, consiste em determinar o aumento do risco de cancro ao longo da vida (ILR), que corresponde ao aumento da probabilidade de um indivíduo desenvolver cancro ao longo da sua vida devido à exposição a um agente carcinogénico [67]. O IRL resultante da exposição por inalação de PAH pode ser estimado através do produto da concentração de exposição e do risco unitário de inalação, como dita a equação 3.2 [68, 69].

$$ILR = EC \times IUR = \frac{EF \times ED \times ET \times C_i}{AT} \times IUR_i \quad (3.2)$$

Onde,

ILR é o risco aumentado de cancro ao longo da vida (adimensional);

EC é a concentração de exposição ($\mu\text{g}/\text{m}^3$);

EF é a frequência de exposição (dias/ano);

ED é a duração da exposição (anos);

ET corresponde à fração de horas de exposição diárias (n° de horas de exposição/24 horas);

C_i é a concentração do PAH i no ar ($\mu\text{g}/\text{m}^3$);

IUR_i é o risco unitário de inalação do PAH *i* (($\mu\text{g}/\text{m}^3$)⁻¹);

AT é o período de exposição (dias).

O IUR corresponde ao máximo risco estimado de desenvolver cancro ao longo da vida como resultado da exposição contínua a um agente carcinogénico na concentração de $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ no ar [68]. Níveis de IRL aceitáveis variam entre 10^{-6} e 10^{-4} , o que representa um risco de desenvolver cancro durante a vida humana de 1 em 1000000 e 1 em 10000, respetivamente [69]. Níveis superiores a 10^{-4} representam um risco potencialmente alto de desenvolver cancro [70].

3.5. Biomonitorização

A quantidade de um determinado poluente num organismo é determinada por fatores como a concentração do poluente no meio em que o organismo se encontra, o tempo de exposição, as propriedades física e químicas do poluente, absorção por diferentes vias, metabolismo e taxas de excreção do mesmo. A biomonitorização humana é um método de avaliação da exposição a produtos químicos, através da medição desses químicos ou dos seus metabolitos em matrizes humanas, tendo em conta os fatores mencionados [29]. Um biomarcador de exposição consiste numa substância exógena, metabolito ou produto de interação poluente com uma molécula ou célula-alvo no corpo humano que permite avaliar a exposição interna de forma satisfatória. Estes biomarcadores podem corresponder a medidas quantitativas diretas do químico e/ou seu metabolito, ou a uma medida de uma alteração biológica reversível precoce devido à exposição [50].

No que toca a poluentes com múltiplas vias de exposição, de modo a se obter uma avaliação de risco mais completa, pode-se relacionar os biomarcadores de exposição determinados em diferentes amostras biológicas com os níveis de poluentes no ar ambiente, e analisar dados sobre os padrões comportamentais individuais que afetem a exposição [29].

A biomonitorização envolve a medição de biomarcadores em fluidos corporais, tais como sangue, urina, leite materno, saliva, fezes e respiração. Devido à facilidade da recolha, a urina é a matriz humana de eleição e menos invasiva para avaliar biomarcadores ocupacionais de efeito e exposição [50]. No entanto, algumas dificuldades na análise desta matriz estão relacionadas com a variabilidade das taxas de excreção urinária entre

os indivíduos, e com a variabilidade temporal da composição urinária de cada indivíduo. Para minimizar estas variações os resultados podem ser corrigidos com a massa volúmica da amostra ou serem expressos por massa de creatinina, solução mais comum [29, 50].

Após serem absorvidos pelo corpo humano, os PAH são distribuídos pelo sistema circulatório para vários tecidos onde são oxidados por ação do citocromo P450. A metabolização dos PAH dá-se nos pulmões, mucosa intestinal, pele, rins, entre outros, sendo o fígado o principal compartimento metabólico. Durante a sua metabolização, os PAH são transformados em intermediários eletrofílicos, hidroxilados e conjugados com macromoléculas como glutatona, glucuronidos e sulfatos que podem ser eliminados através da urina, fezes e leite materno [64, 50].

Os PAH hidroxilados (OH-PAH) urinários refletem a dose total de exposição, tornando-se, assim, numa ferramenta valiosa para estimar a quantidade de PAH que entram no corpo em comparação com a exposição ambiental aos mesmos. O pireno é abundante e é maioritariamente eliminado na forma de 1-hidroxipireno (1-OH-Pyr) [64, 50]. Foram observados níveis elevados de 1-OH-Pyr em indivíduos expostos a misturas de PAH em cenários ocupacionais, e níveis altos em fumadores e indivíduos que consumiram alimentos grelhados ou defumados [71]. Por esta razão, o 1-OH-Pyr é o biomarcador mais utilizado para avaliar a dose interna de exposição aos PAH. No entanto, este biomarcador apenas reflete a exposição ao pireno, um dos PAH menos tóxicos da lista de poluentes prioritários da US-EPA, pelo que é deveras pertinente considerar outros biomarcadores [64, 50].

Por exemplo, o benzo(a)pireno é cancerígeno para humanos, pelo que a análise do seu biomarcador 3-hidroxibenzo(a)pireno (3-OH-B(a)P) é de elevado interesse [64, 50]. A estrutura química dos 6 metabolitos de PAH analisados na presente dissertação estão representados na figura 3.2.

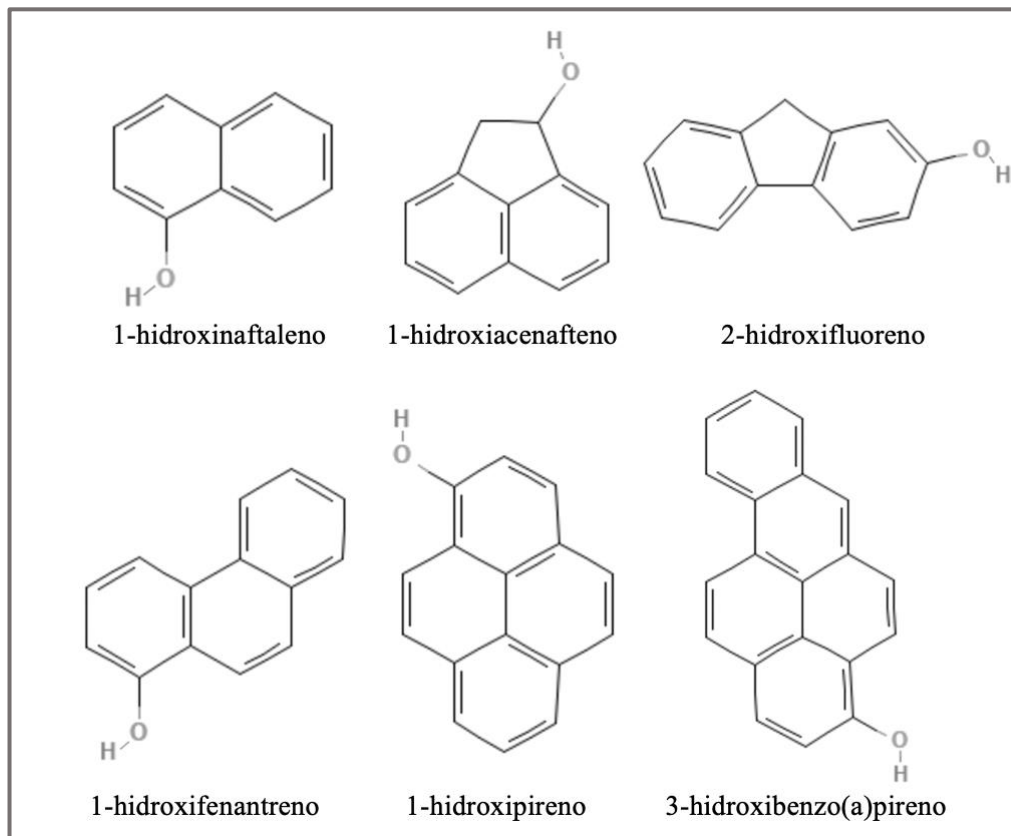


Figura 3.2: Estruturas químicas dos 6 OH-PAH analisados na presente dissertação [59].

A abreviatura destes OH-PAH, o PAH do qual derivam, a sua fórmula química e a sua massa molar encontram-se listados na tabela 3.3.

Tabela 3.3: Nome e abreviatura dos OH-PAH analisados na dissertação, PAH de origem, fórmula química e massa molecular. MM: massa molecular (g/mol).

OH-PAH		PAH	Fórmula química ^[59]	MM (g/mol) ^[59]
Nome	Abreviatura			
1-hidroxinaftaleno	1-OH-Nap	Nap	C ₁₀ H ₈ O	114,17
1-hidroxiacenafteno	1-OH-Ace	Ace	C ₁₂ H ₁₀ O	170,21
2-hidroxi fluoreno	2-OH-Flu	Flu	C ₁₃ H ₁₀ O	182,22
1-hidroxifenantreno	1-OH-Phe	Phe	C ₁₄ H ₁₀ O	194,23
1-hidroxi pireno	1-OH-Pyr	Pyr	C ₁₆ H ₁₀ O	218,25
3-hidroxi benzo(a)pireno	3-OH-B(a)P	B(a)P	C ₂₀ H ₁₂ O	268,30

Capítulo 4

Materiais e Métodos

Com o intuito de avaliar a exposição de bombeiros a PAH, foram quantificados PAH em amostras de ar e OH-PAH em amostras de urina. Os resultados de OH-PAH foram normalizados com a concentração de creatinina na urina.

4.1. Análise dos PAH no ar pessoal

4.1.1. Amostragem

Este estudo mereceu um Parecer favorável da Comissão de Ética da Universidade do Porto. Foram recolhidas amostras de 20 bombeiros saudáveis do sexo masculino com idades entre 21 e 52 anos pertencentes a 3 corporações localizadas na região norte de Portugal no distrito de Bragança: Bragança, Vinhais e Alfândega da Fé. Estas foram recolhidas entre 1 de julho e 12 de julho de 2021.

A recolha das amostras foi realizada durante um período contínuo de 4 h durante um turno de trabalho regular num único dia, de acordo com o método USEPA IP-10A [72]. Para esse efeito usou-se uma bomba de amostragem de ar pessoal portátil (Gilian, modelo GilAir 3; Sensidyne, EUA) colocada à cintura do bombeiro de modo a não interferir na sua rotina normal de trabalho. Esta encontrou-se acoplada a um ciclone com cassete para recolha de partículas respiráveis (PM_{2,5}) colocado no peito de cada bombeiro (a uma altura entre 152 e 178 cm) de modo a captar o ar da zona de respiração. O caudal de aspiração foi de 2 L/min e a fração particulada do ar (PM_{2,5}) foi recolhida em filtros de membrana de politetrafluoroetileno com anel de suporte de polimetilpenteno (porosidade de 2 µm; Ø37 mm; SKC Ltd.; Reino Unido). Os filtros foram colocados em caixas de Petri vedadas com parafilme e armazenados a -20 °C até serem analisados. Durante a recolha das amostras, os bombeiros moveram-se livremente dentro dos respetivos quartéis e realizaram as suas atividades comuns, sendo estas registadas. Os

quartéis encontravam-se com as janelas abertas para ventilar o espaço, e não foi permitido fumar no seu interior.

Cada bombeiro preencheu um questionário para obter informações gerais sobre o bombeiro, nomeadamente o género, a idade, o número de anos de carreira e o tempo dedicado ao combate a incêndios nas 48 h anteriores à recolha das amostras. Uma vez que os PAH são compostos ubíquos, com o questionário procura-se também obter informação relacionada com a sua exposição não ocupacional. Deste modo, este inclui questões acerca do consumo de tabaco, do uso de lenha/carvão para aquecer as casas, e dos hábitos alimentares (tipo de comida mais consumido: cozidos, assados, grelhados). Bombeiros expostos a emissões da combustão de lenha/carvão e/ou que tenham consumido refeições grelhadas ou defumadas nos últimos 3 dias antes da recolha das amostras não foram considerados.

4.1.2. Extração

O procedimento seguido foi originalmente validado e descrito por trabalhos anteriores do mesmo grupo de investigação, e posteriormente ligeiramente modificado em estudos no âmbito do projeto BioFirEx [73, 74, 70]. O procedimento consiste em extrair os PAH retidos nas partículas dos filtros PM_{2.5} com recursos a uma extração assistida por micro-ondas (Marsx; CEM Corporation; Carolina do Norte, EUA), utilizando acetonitrilo (pureza $\geq 99,9\%$; Carlo Erba Reagents, Dasit Group; França) como solvente durante 20 minutos à temperatura de 110 °C. Em seguida, após arrefecimento até à temperatura ambiente, o conteúdo dos vasos foi transferido para tubos e evaporado (Büchi R200 rotavapor; Büchi Vac V-500 pump). Por fim, os extratos foram redissolvidos em 300 μ L de acetonitrilo (pureza $> 99,9\%$; Riedel-de Haën; Alemanha), agitados num vortex (Analog vortex mixer, Model 945304, VWR International) e filtrados através de filtros PTFE de 0,22 μ m (Teknokroma; Barcelona, Espanha) para viais devidamente identificados. Estes foram armazenados a -20 °C até serem analisados. O material utilizado foi lavado com água e detergente, posteriormente passado por acetona, n-hexano e metanol, e seco na estufa a 50 °C.

4.1.3. Separação e quantificação

A separação e quantificação dos PAH presentes nos extratos provenientes de urina foi efetuada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com deteção por fluorescência e fotodíodos em série.

O cromatógrafo de HPLC (Shimadzu LC system, Corporation; Quioto, Japão), encontra-se equipado com uma bomba (DGU-20AS), um desgaseificador (DGU-20AS), um injetor automático (SIL- 20A), um detetor de fluorescência RF-10AXL (FLD) e um detetor de fotodíodos (radiação ultravioleta; PAD) SPD-M20A. A separação cromatográfica foi efetuada numa coluna C18 (CC 150/4 Nucleosil 100-5 C18 PAH; 150 mm × 4,0 mm e 5µm de tamanho de partícula; Macherey–Nagel; Duren, Alemanha), mantida a temperatura controlada de 25 °C num forno. Cada amostra foi analisada em triplicado e com programação de solventes com acetonitrilo e água ultrapura, um caudal de 0,8 mL/min e um volume de injeção de 15 µL. A composição da fase móvel inicial foi de 50% de água ultrapura e 50% de acetonitrilo durante 5 minutos, subindo esta percentagem de forma linear durante 15 min até ser igual a 100% acetonitrilo. Após 14 min, a composição voltou a ser igual a 50% de acetonitrilo e 50% de água ultrapura. A composição permaneceu assim durante 6 min, sendo o tempo da análise igual a 40 min.

Os PAH analisados no ar foram detetados por fluorescência, à exceção do Acy que apresenta baixa fluorescência e foi, em alternativa, analisado através do detetor de fotodíodos a 254 nm. Os comprimentos de onda de excitação e emissão dos PAH detetados por fluorescência são apresentados na tabela 4.1.

Tabela 4.1: Comprimento de onda de excitação e emissão de cada PAH. λ excitação/ emissão: comprimento de onda de excitação e emissão (nm).

PAH	λ excitação/ emissão (nm)
Nap; Ace; Flu	260/315
Phe	260/366
Ant; Fln; Pyr; B(a)A; Chry; B(b)F; B(k)F; B(j)F; B(a)P; D(a,h)A; B(g,h,i)P; D(a,l)P	260/430
InP	290/505

Foram construídas curvas de calibração com recurso a soluções padrão mistas de PAH em acetoneitrilo, com concentrações entre 1,300 µg/L e 150,5 µg/L de Nap e Ace, 74,38 µg/L e 600,0 µg/L de Acy, 0,2600 µg/L e 30,00 µg/L de Flu, Fln, B(g,h,i)P e de D(a,h)A, 0,1300 µg/L e 15,06 µg/L de Phe, Ant, Pyr, B(a)A, Chry e de InP, 1,000 µg/L e 80,16 µg/L de B(b)F + B(j)F, e entre 0,2500 µg/L e 20,06 µg/L de B(k)F e de B(a)P. As concentrações detalhadas das soluções padrão podem ser consultadas no anexo A.

4.2. Análise dos OH-PAH na urina

4.2.1. Amostragem

Numa fase inicial, no mesmo período da recolha das amostras de ar, foram recolhidas amostras de urina dos 20 bombeiros referidos anteriormente, estando estes não-expostos. Consideraram-se como bombeiros não-expostos aqueles que não estiveram envolvidos no combate a incêndios nas 48 h precedentes à recolha das amostras. Posteriormente, no dia 11 de outubro de 2021 foi realizada uma nova amostragem com bombeiros expostos, na qual participaram 3 dos 20 bombeiros não-expostos, todos eles pertencentes à corporação de Bragança. As questões colocadas no questionário mencionado anteriormente são também pertinentes para as a análise dos OH-PAH.

As amostras foram recolhidas para frascos esterilizados de policarbonato de 50 mL, no final do turno de trabalho. Após recolha, estas foram armazenadas a -20 °C até serem analisadas.

4.2.2. Extração

O procedimento utilizado na análise de amostras de ar foi anteriormente validado pela mesma equipa de investigadores e, posteriormente, adotado em estudos no âmbito do projeto BioFirEx [75, 64]. Este consiste em hidrolisar os PAH na urina recorrendo à enzima β-Glucuronidase/Arylsulfatase (Helix pomatia; EC 3.2.1.31/EC3.1.6.1; 5.5/2.6 U/mL; Roche Diagnostics; Indianápolis, USA), cuja atividade máxima ocorre a pH 5 a 37 °C, e extrair os metabolitos com recurso à extração em fase sólida (SPE).

A preparação da amostra iniciou-se pelo seu descongelamento à temperatura ambiente. De seguida a 10,00 mL de amostra adicionou-se 20,00 mL de solução tampão

de acetato (0,0357 mol/L de ácido acético e 0,0643 mol/L de acetato de sódio), de modo acertar o pH para 5. Para evitar a reação dos metabolitos com o oxigénio presente no meio foram adicionados 150 µL do antioxidante terc-butil-hidroquinona (TBHQ) a 20,0 g/L (pureza > 98.0%; Sigma-Aldrich; Steinheim, Alemanha) e procedeu-se à purga com azoto antes da incubação durante 30 minutos. As amostras foram incubadas (Binder KBWF; Tuttlingen, Alemanha) a 37 °C durante 2 horas com ausência de luz e agitação constante a 120 rpm (Bunsen AO.400 orbital shaker; Madri, Espanha), e 80 µL da enzima β-Glucuronidase/Arylsulfatase capaz de clivar as ligações dos metabolitos dos PAH com a glucuronidos e os sulfatos.

Posteriormente as amostras foram submetidas a colunas individuais de SPE (Sep-Pak® Light Plus C18; 55-105 µm, 125 Å, 360 mg; Waters; Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha), acondicionadas com 5,00 mL de metanol (pureza ≥ 99,9%; Honeywell; Seelze, Alemanha) e 10,00 mL de água ultrapura. Após a passagem das amostras pelas respectivas colunas, estas foram lavadas com 10,00 mL de água ultrapura e 10,00 mL de uma solução água/metanol a 80:20 v/v, e posteriormente secadas com azoto durante 15 minutos. Após secagem, os metabolitos retidos foram eluídos com 20,00 mL de uma solução metanol/acetato de etilo (pureza ≥ 99,9%; Carlo Erba Reagents, Dasit Group; França) a 10:90 v/v para um tubo, sendo esta posteriormente evaporada num evaporador rotativo (Büchi R200 rotavapor; Büchi Vac V-500 pump), de modo a concentrar os OH-PAH extraídos. Seguidamente, procedeu-se a uma redissolução em 500 µL de metanol e filtração através de filtros PTFE de 0,22 µm (Teknokroma; Barcelona, Espanha) para viais de cromatografia devidamente identificados.

4.1.3. Separação e quantificação

A separação e quantificação dos OH-PAH presentes nos extratos provenientes de urina foi efetuada por HPLC com deteção por fluorescência. O equipamento foi o mesmo que o utilizado na análise de extratos provenientes do ar, e as amostras foram também analisadas em triplicado e com um volume de injeção de 15 µL. Neste caso, a fase móvel consistiu em metanol e água ultrapura com um caudal de 1,0 mL/min. Quanto à programação de solventes, a percentagem inicial de metanol foi 50%, que, após 2 min, subiu para 70% durante 10 min de forma linear. Após 7 min, esta subiu para 100% de forma linear durante 6 min, onde permaneceu durante 5 min até ao fim do ensaio.

Os comprimentos de onda de excitação e emissão de fluorescência dos OH-PAH quantificados na urina são apresentados na tabela 4.2. Uma vez que o 1-OH-Nap e o 1-OH-Ace eluem no mesmo tempo de retenção com a mesma composição de fase móvel (70:30 v/v de metanol/água) para o par de comprimento de onda de excitação/emissão ótimo, estes metabolitos foram quantificados em conjunto (1-OH-Nap + 1-OH-Ace).

Tabela 4.2: Comprimento de onda de excitação e emissão de cada OH-PAH. λ excitação/ emissão: comprimento de onda de excitação e emissão (nm).

OH-PAH	λ excitação/ emissão (nm)
1-OH-Nap	232/337
1-OH-Ace	232/337
2-OH-Flu	265/335
1-OH-Phe	263/363
1-OH-Pyr	242/388
3-OH-B(a)P	308/432

Foram construídas curvas de calibração com recurso a soluções padrão mistas de OH-PAH em metanol, com concentrações entre 6,04 $\mu\text{g/L}$ e 121,2 $\mu\text{g/L}$ de 1-OH-Nap + 1-OH-Ace, e entre 0,0400 $\mu\text{g/L}$ e 0,6000 $\mu\text{g/L}$ de 2-OH-Flu, 1-OH-Phe, 1-OH-Pyr e 3-OH-B(a)P. As concentrações destas soluções podem ser consultadas no anexo A.

4.3. Quantificação dos níveis de creatinina

A creatinina foi quantificada nas amostras de urina pelo método colorimétrico de Jaffe [76]. Este baseia-se na reação da creatinina com o ácido pícrico em meio alcalino, que resulta na formação de um complexo de cor vermelha, posteriormente medida espectrofotometricamente [76]. O procedimento experimental original para amostras de plasma/soro sanguíneo foi adaptado e validado para amostras de urina em estudos anteriores no âmbito do projeto BioFirEx [76, 64].

Para tornar o meio alcalino recorreu-se uma solução de 8,8 g/L de hidróxido de sódio (pureza $\geq 99,0\%$; labkem; Barcelona, Espanha), 19 g/L de fosfato trissódico dodecahidratado (pureza $\geq 98,0\%$; Honeywell; Seelze, Alemanha) e 19 g/L de tetraborato

de sódio decahidratado (pureza $\geq 99,5\%$; Honeywell Fluka; Seelze, Alemanha) (reagente A). Inicialmente prepararam-se soluções padrão de creatinina com concentrações entre 10 mg/L e 140 mg/L, sendo os volumes perfeitos com uma solução de 0,1 mol/L de ácido clorídrico (%m/m $\geq 37,0\%$; Honeywell Fluka; Áustria). Para falcons de 15 mL adicionaram-se 4,5 mL de reagente A, 4,5 mL de uma solução de 10 g/L de ácido pícrico (1,3% em água; Sigma-Aldrich; Suíça) e 600 μ L de cada solução padrão. Após agitação, as soluções foram deixadas em repouso com ausência de luz durante 30 minutos. Foi preparado um branco de modo semelhante, utilizando água ultrapura em vez dos padrões.

As amostras foram preparadas em duplicado de modo análogo às soluções padrão. Neste caso foram misturados 4,5 mL de reagente A, 4,5 mL de ácido pícrico, 550 μ L de água ultrapura e 50 μ L de amostra em falcons de 15 mL.

As absorvâncias das soluções padrão e das amostras foram lidas num espectrofotómetro UV/Vis de feixe duplo (Thermo Scientific, Evolution 300 BB, Inglaterra) a um comprimento de onda de 505 nm, em triplicado, com recurso ao *software* Vision Pro (Windows 95, Vision version 4.1, Math version 24.00, App software V.2.06, Bot software V.2.00).

4.4. Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi feita no Microsoft Excel (v. 16.61.1, Microsoft Corporation, EUA). Verificou-se que médias dos valores obtidos diferiram significativamente das respetivas medianas, sendo inferiores a estas. Assim, e tendo em conta o número limitado de amostras ($n < 30$), concluiu-se que os valores obtidos não seguem uma distribuição normal. Desta forma, os resultados foram comparados usando medianas, uma vez que estas são mais representativas do que as médias nestes casos. A comparação destas foi feita pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney, para uma significância de 0,05.

Capítulo 5

Resultados e Discussão

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos com a monitorização do ar pessoal e a biomonitorização das urinas dos bombeiros, sendo feita uma comparação por corporação e entre bombeiros não expostos e expostos.

5.1. Caracterização do local de recolha das amostras e das amostras

Na tabela 5.1 apresentam-se algumas informações acerca do local de recolha das amostras, assim como os dados obtidos através dos questionários que permitem caracterizar as mesmas. Foram recolhidas um total de 20 amostras de ar e 23 amostras biológicas de bombeiros pertencentes às corporações de Bragança (BRG), Vinhais (VNH) e Alfândega da Fé (AFF).

As 3 corporações, assinaladas no mapa da figura 5.1, situam-se no distrito de Bragança, localizado no nordeste de Portugal. A corporação BRG é a única situada numa cidade, encontrando-se rodeada por residências e vários estabelecimentos públicos, incluindo de ensino, de restauração, hospitalares, hoteleiras e religiosas, farmácias, centros desportivos, vários estabelecimentos comerciais, entre outros, num raio de 1 km. A corporação VNH, localizada numa vila, está maioritariamente rodeada por residências, encontrando-se alguns estabelecimentos públicos num raio de 1 km, como de restauração, de saúde e abastecimento de combustíveis. Esta zona abrange também várias zonas verdes. À semelhança da corporação VNH, a corporação AFF situa-se numa área maioritariamente residencial, com alguns estabelecimentos públicos num raio de 1 km como os mencionados anteriormente. Em frente da corporação encontra-se um terreno arborizado, e existem várias zonas desocupadas num raio de 1 km da corporação. Deste modo, a corporação BRG situa-se na área mais movimentada e com mais população, seguida da corporação VNH e, por fim, AFF. A corporação AFF encontra-se a cerca de

54 km da BRG e da VNH. As corporações BRG e VNH situam-se a 20 km uma da outra [77].

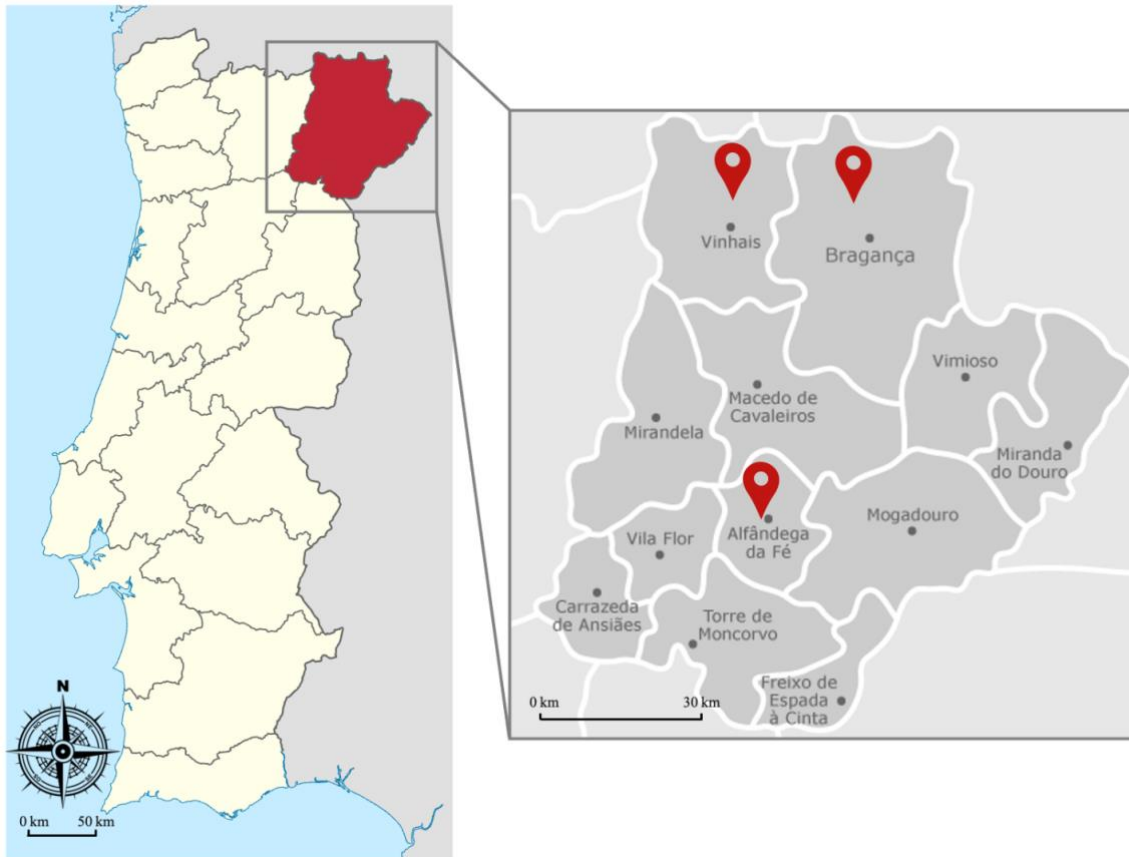


Figura 5.1: Mapa de Portugal e do distrito de Bragança com a localização das corporações de Bragança, Vinhais e Alfândega da Fé assinaladas [78, 79]

As idades médias dos bombeiros incluídos neste estudo foram de 34 anos na corporação BRG (21 a 46 anos), 32 anos em VNH (21 a 42 anos) e 38 anos em AFF (21 a 52), não tendo sido observada diferença estatística entre os grupos. Estas idades são semelhantes às dos grupos estudados na literatura consultada. Todos os bombeiros incluídos neste estudo eram saudáveis e do sexo masculino. As amostras das 3 corporações incluem bombeiros fumadores e não fumadores, sendo VNH aquela com maior percentagem de fumadores (80%), seguida de BRG (67%) e AFF (33%).

A corporação de Bragança foi a única onde foram recolhidas amostras biológicas pré e pós exposição a incêndios rurais. Dos 6 bombeiros que participaram numa fase de pré exposição, 3 participaram numa fase posterior de pós exposição, tendo combatido um incêndio rural durante 2h30.

Tabela 5.1: Caracterização das corporações e das amostras estudadas. BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé; n: tamanho da amostra; n.a.: não aplicável.

Característica	BRG	VNH	AFF
Localização	Cidade	Vila	Vila
Habitantes	22693	2245	2055
n	6	5	9
Idade (anos)	34 (21-46)	32 (21-42)	38 (21-52)
Género			
Masculino (%)	100	100	100
Exposição a incêndios			
Nº de expostos	3	0	0
Tempo passado no combate a incêndios nas últimas 48 h antes da recolha das amostras (h)	2,5	n.a.	n.a.
Tabaco			
Fumador ativo (%)	67	80	33
Não fumador (%)	33	20	67

5.2. PAH no ar pessoal

A concentração dos 18 PAH no ar foi quantificada com recurso a curvas de calibração individuais para cada PAH, à exceção do B(b)F e do B(j)F, que foram quantificados em conjunto. Todas as curvas apresentaram altos coeficientes de determinação (0,9965 a 1,0000). Os limites de deteção (LOD) e quantificação (LOQ) foram determinados a partir dos desvios padrão e declives da respetiva curva de calibração [80]. Os LOD variaram entre 0,077 µg/L (B(a)P) e 24,8 µg/L (Acy), e os LOQ entre 0,26 µg/L e 82,6 µg/L. Nos casos em que a concentração dos PAH foi inferior ao respetivo LOD, esta foi substituída por $LOD/\sqrt{2}$. Os tempos de retenção, as curvas de calibração, respetivos coeficientes de determinação, LOD e LOQ podem ser consultados no anexo B. Neste anexo está também incluído um cromatograma representativo do padrão 7.

Dos 18 PAH incluídos neste estudo, o Acy foi o único não detetado em nenhuma das amostras. A deteção de PAH nas zonas de respiração dos bombeiros comprova que estes profissionais se encontram expostos a estes hidrocarbonetos por inalação, mesmo

fora do ambiente de combate a incêndios. Os níveis dos 17 PAH quantificados na fase particulada do ar pessoal dos bombeiros das corporações BRG, VNH e AFF estão representados na figura 5.2. Os indivíduos das corporações de BRG e AFF apresentaram uma concentração total de PAH (Σ PAH) no ar de $26,7 \text{ ng/m}^3$ e $26,4 \text{ ng/m}^3$, respetivamente, sendo a diferença entre estas concentrações de 1%, e não existindo diferença estatística entre as mesmas. A corporação com a maior concentração Σ PAH foi VNH, com $72,1 \text{ ng/m}^3$, valor 2,7 vezes superior ao das outras corporações, sendo este estatisticamente diferente das mesmas.

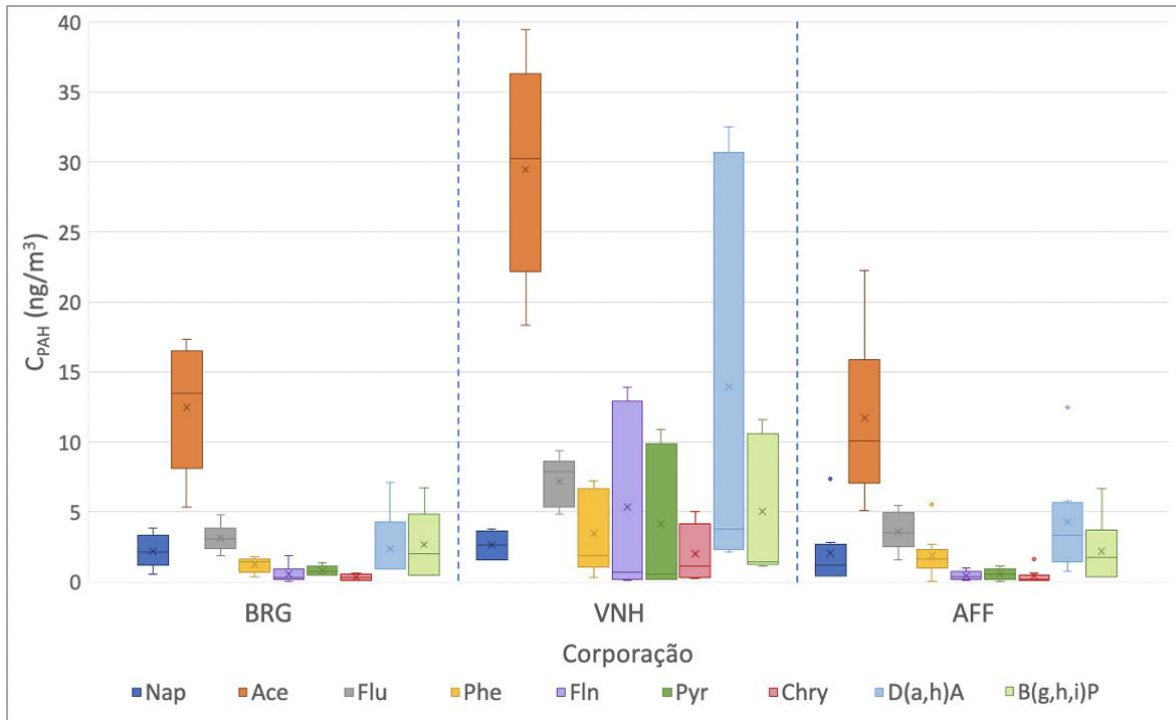
Com base nas localizações das corporações, BRG é a mais movimentada, ou seja, com maior influência do tráfego automóvel nos níveis de PAH. Contudo, há muitos outros fatores determinantes para a concentração de PAH no ar, principalmente em zonas com menos população [81]. As corporações BRG, na localização mais movimentada, e AFF, na localização menos movimentada, apresentarem níveis semelhantes de PAH na zona de respiração dos bombeiros. Deste modo, outras fontes de emissão contribuíram de forma mais preponderante para os níveis de PAH na zona de respiração dos bombeiros.

Estas amostras foram recolhidas durante um turno (4 h) normal de trabalho, em que os bombeiros passaram o seu tempo no interior e/ou exterior da corporação, dependendo das suas tarefas. Os níveis de PAH em espaços interiores e a exposição pessoal dependem de vários fatores para além da sua localização, tais como as atividades realizadas pelos bombeiros, as características das corporações, ventilação e meteorologia [81]. Quanto mais antigo for um edifício, maior será o impacto das fontes exteriores no seu interior, uma vez que o ar exterior se infiltra mais facilmente [81]. Neste caso, AFF é a corporação mais antiga (construída em 1991 [70]), enquanto das corporações BRG e VNH foram renovadas mais recentemente (depois de 2007 [81]). Assim, a contaminação do ar interior com PAH provenientes de ar exterior será mais propícia na corporação de AFF, no entanto, esta é a corporação no local menos movimentado. Já na corporação de BRG, esta influência poderá ter sido minimizada por o edifício ser mais recente. Outra fonte relevante são os camiões dos bombeiros que ficam estacionados nas garagens das respetivas corporações, podendo influenciar o ar interior das mesmas. Mesmo que as garagens não tenham acesso direto aos restantes espaços do quartel, situação das 3 corporações [81, 70], este pode infiltrar-se, efeito mais sentido em AFF devido à idade do edifício. Para além disso, os bombeiros deslocaram-se livremente durante a recolha das amostras, pelo que podem ter passado mais ou menos tempo nas garagens, aquando da chegada e partida dos veículos. Num estudo que caracterizou o ar de corporações de

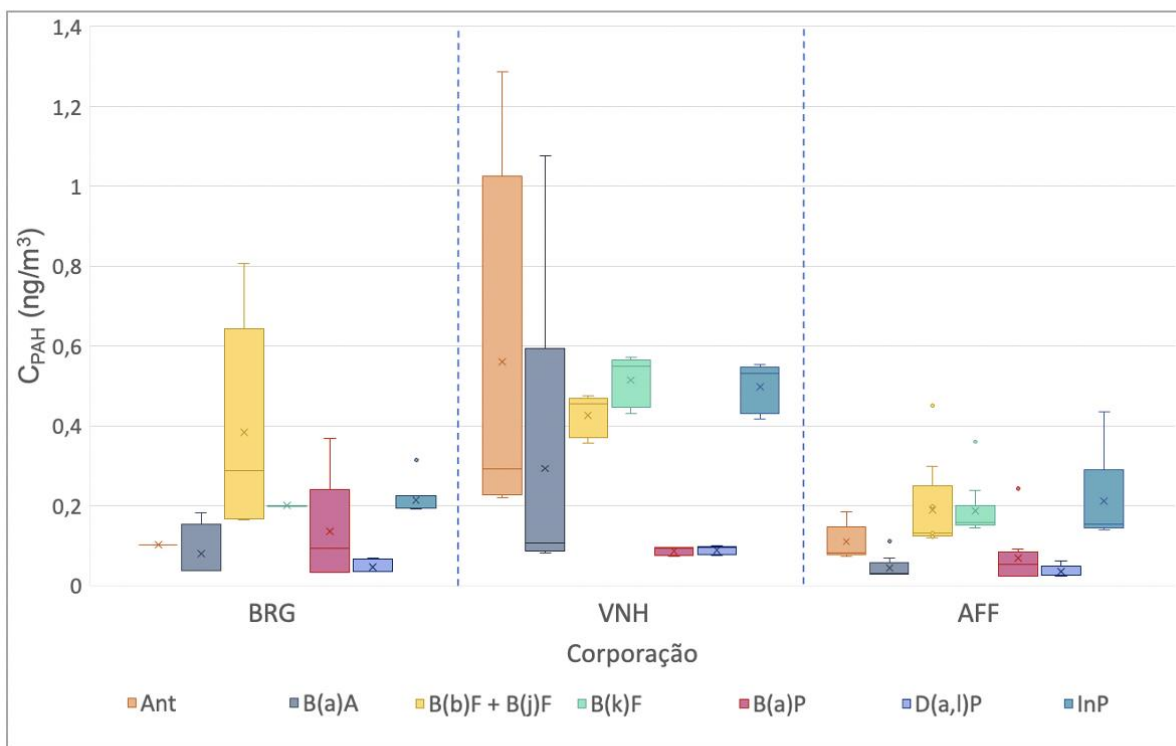
bombeiros na Polónia nas fases gasosa e particulada (PM₄), verificou-se que, de modo geral, as concentrações de PAH no interior da corporação eram superiores às concentrações no ar no exterior das mesmas [82]. Esta diferença foi mais significativa nos vestiários, o que foi explicado pela contaminação dos EPIs durante o combate a incêndios, que são deixados nessas áreas. Assim, os EPIs contaminados podem ter sido outra possível fonte de PAH nestas corporações. Também nas zonas de garagem se verificou uma maior concentração de PAH do que no ar exterior, sendo esta a zona onde a concentração de PAH na fase particulada foi superior.

Não foi possível avaliar o efeito do consumo de tabaco nos níveis de PAH devido ao número insuficiente de amostras. No entanto, outra hipótese que poderá explicar os níveis mais elevados de PAH no ar de bombeiros em VNH poderá ser o facto de estes apresentarem a maior percentagem de fumadores, uma vez que o tabaco é uma fonte relevante de PAH. Esta exposição depende, por exemplo, do número de cigarros fumados por dia, ou durante as 4 h de recolha das amostras. Mesmo bombeiros não fumadores poderão estar expostos ao fumo de cigarro de forma passiva, se se encontrarem próximos de bombeiros a fumar. Assim, apesar dos bombeiros em VNH apresentarem uma maior percentagem de fumadores, isto não significa, necessariamente, que sejam os mais expostos aos PAH provenientes do fumo de cigarro. Um estudo com mais participantes fumadores e não fumadores em cada corporação, e com informação acerca dos hábitos dos fumadores seria necessário para se poder chegar a respostas mais conclusivas.

Em todas as corporações verificaram-se concentrações inferiores ao limiar de proteção de PM_{2,5} para o interior de edifícios de comércio e serviços que diz respeito a uma média de 8 h (25 µg/m³ com uma margem de tolerância de 100%) estabelecido na legislação portuguesa através da Portaria n.º 138-G/2021 [83]. Também em todas as corporações se verificou que as concentrações foram inferiores às diretrizes globais de qualidade do ar da OMS atualizadas em 2021, sendo o limite a curto prazo (24 h) para PM_{2,5} igual a 15 µg/m³ [84].



(a)



(b)

Figura 5.2 Boxplot das concentrações de PAH individuais obtidas na fração particulada 2,5 μm do ar pessoal dos bombeiros nas três corporações: (a) Nap: naftaleno; Ace: acenafteno; Flu: fluoreno; Phe: fenantreno; Pyr: pireno; Chry: criseno; D(a,h)A: dibenz(a,h)antraceno; B(g,h,i)P: Benzo(g,h,i)perileno; e (b) Ant: antraceno; B(a)A: Benz(a)antraceno; B(b)F + B(j)F: Benzo(b)fluoranteno e Benzo(j)fluoranteno; B(k)F: Benzo(k)fluoranteno; B(a)P: Benzo(a)pireno; D(a,l)P; InP: Indeno(1,2,3-cd)pireno. C_{PAH}: concentração do PAH (ng/m³); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.

Foram publicados artigos no âmbito do projeto BioFirEx [81, 70] em que foram quantificados os mesmos 18 PAH nas zonas de respiração de bombeiros de várias corporações localizadas no nordeste de Portugal, incluindo as abordadas no presente trabalho. Nestes, os níveis totais de PAH variaram entre 46,4 ng/m³ e 428 ng/m³ [81] e entre 46,8 ng/m³ e 154 ng/m³ [70]. Neste estudo, os níveis de ΣPAH encontrados nas zonas de respiração dos bombeiros das corporações BRG e AFF foram aproximadamente metade do limite inferior dos níveis encontrados nestes artigos. Quanto a VNH, os níveis encontrados situaram-se dentro das gamas obtidas em ambos os artigos.

Comparando as concentrações corporação a corporação, em VNH a fração particulada do ar pessoal dos bombeiros apresentou uma concentração de ΣPAH aproximadamente igual à dos artigos (74,6 ng/m³) [81]. Entre os bombeiros de BRG, obtiveram-se níveis de ΣPAH inferiores aos dos reportados anteriormente (55,0 ng/m³) [81], assim como nos de AFF (77,3 ng/m³) [70]. Note-se que, também nestes artigos, BRG não foi a corporação onde os níveis de PAH na zona de respiração dos bombeiros foi superior, apesar de se localizar na área mais movimentada, reforçando a ideia de que os bombeiros destas corporações estão sujeitos a outras fontes mais significativas de PAH. É de notar que a recolha das amostras destes artigos ocorreu entre maio e julho de 2014, e as amostras analisadas na presente tese que foram em julho de 2021.

Num estudo conduzido na Polónia [82], que incluiu 15 dos 18 PAH estudados, registaram-se concentrações do ΣPAH entre 1882 ng/m³ (área comum) e 5924 ng/m³ (vestiários), valores claramente acima dos observados no presente trabalho. Esta diferença deve-se maioritariamente ao facto destes autores terem contabilizado PAH na fase particulada (PM₄) e na fase gasosa. Note-se que a massa de PM_{2,5-4} em PM₄ revelou-se desprezável em relação à massa de PM_{2,5}, pelo que os valores deste estudo são comparáveis ao da presente tese [82]. A maior percentagem de PAH na fase particulada foi registada nas garagens e nas áreas comuns (aproximadamente 5% e 4%), sendo que isto resulta numa concentração de ΣPAH associada à PM₄ igual a 128,9 ng/m³ e 91,88 ng/m³, respetivamente. Estes valores vão mais de encontro aos valores encontrados em trabalhos do projeto, sendo superiores aos observados na presente tese.

Na figura 5.2 pode-se verificar que, de modo geral, as concentrações dos PAH individuais foram superiores na corporação de VNH (1,2 a 4,1 vezes superiores às de BRG; 1,1 a 5,6 vezes superiores às de AFF). As exceções são o Pyr e o B(g,h,i)P, cujas concentrações foram superiores na corporação de BRG, seguida da de AFF, e o B(a)P, cuja concentração foi semelhante nas corporações de BRG e VNH.

Os estudos do projeto mencionados anteriormente reportaram o Acy como o PAH mais abundante nas zonas de respiração dos bombeiros da maior parte das corporações [81, 70]. Por outro lado, neste trabalho o Acy foi o único PAH não detetado em nenhuma das corporações. As corporações dos artigos mencionados em que o Acy não foi detetado encontravam-se localizadas em vilas com população inferior a 3000 habitantes, como é o caso de Vinhais e Alfândega da Fé. Contudo, é de referir que estas corporações foram incluídas nestes artigos, e que o Acy foi detetado no ar dos bombeiros das mesmas. Este PAH está presente em alcatrão e petróleo bruto, e a sua presença no ar pode ser devida à sua evaporação a partir destes. Outra fonte deste PAH é a combustão de madeira, que resulta na emissão de fumo com abundância predominante deste composto. Mesmo que os bombeiros não se tenham encontrado diretamente expostos a incêndios durante a amostragem, poderá ter havido uma contaminação pontual do ar através de material de proteção contaminado, ou por absorção através da pele [82].

O Ace foi o PAH predominante em todas as corporações, contribuindo com 53%, 58% e 43% para o total de PAH nas corporações de BRG, VNH e AFF, respetivamente. Este é um PAH abundante no alcatrão e utilizado para produzir corantes, tintas, plásticos, inseticidas e fungicidas, sendo libertado a partir destes. Este é também libertado a partir de motores a gasolina e a diesel, tabaco, combustão de biomassa e carvão e inceneração de lixo [85, 86].

O Flu foi o segundo PAH mais abundante, representando 12% do total de PAH em Bragança e 15% em VNH e AFF. De modo geral, as concentrações de Flu foram superiores às quantificadas anteriormente nos artigos mencionados [81, 70]. Nestes, verificou-se uma contribuição do Flu entre 0,26% e 1,6%. A gama de concentrações do Flu na presente tese foi de 1,86 ng/m³ a 9,38 ng/m³, enquanto nos estudos foi de 0,272 ng/m³ a 1,86 ng/m³, com a exceção de uma das corporações que apresentou uma concentração de 6,73 ng/m³ (contribuição de 1,6%) [81, 70]. O Flu é libertado para a atmosfera como resultado das emissões da combustão de biomassa, carvão, gasolina e tabaco. O Flu é também usado na fabricação de corantes e resinas, podendo ser libertado a partir dos seus resíduos [87].

O D(a,h)A foi o terceiro PAH mais abundante em VNH e AFF, contribuindo para 7,2 e 14% do ΣPAH, e o sexto PAH mais abundante em BRG, representando 3,6% do ΣPAH. Estes valores apontam para a influência de emissões veículos de gasolina leve nas áreas circundante destas corporações [81]. Os restantes PAH mais abundantes foram o

Nap, B(g,h,i)P, e Phe com contribuições entre 5,0% e 8,5%, 2,7% e 7,9%, 3,6% e 5,7%, respetivamente.

Num dos estudos [81] o Ace (16% a 39%), o Nap (4,5% a 17%) e o Phe (2,7% a 7,8%) foram reportados como os PAH mais abundantes em algumas corporações a seguir ao Acy, estando as gamas de contribuição do Nap e do Phe obtidas na presente tese dentro das respetivas obtidas neste artigo. As concentrações de Ace, no entanto, apresentaram grande variabilidade, com valores entre 1,62 ng/m³ e 97,3 ng/m³ [81]. Assim, as concentrações obtidas (10,1 ng/m³ a 30,3 ng/m³) estão dentro desta gama. Neste mesmo artigo, em outras corporações, incluindo a de VNH, o D(a,h)A foi o segundo e terceiro PAH mais abundante, sendo a contribuição em VNH igual a 7,8%, percentagem próxima da obtida na presente tese (7,2%) [81].

Em 2 corporações do trabalho de Oliveira et al. [70] do outro estudo verificaram-se perfis de PAH nas zonas de respiração de bombeiros ligeiramente diferentes, tendo sido observadas contribuições de Ace entre 43% e 55%, semelhante ao observado na presente tese [70]. Mais uma vez, as concentrações encontraram-se dentro da gama obtida no artigo, de 1,62 ng/m³ a 65,8 ng/m³. Ainda neste artigo foram observadas contribuições entre 2% e 8% de B(g,h,i)P, o que também se verificou [70].

A distribuição da concentração dos PAH de acordo com o seu número de anéis aromáticos pode ser vista na figura 5.3. Os PAH com 2 a 3 anéis aromáticos (Nap, Ace, Flu, Phe e Ant) constituíram a maioria do ΣPAH, contribuindo entre 69% (BRG) e 71% (VNH) para o ΣPAH. Os PAH de 4 anéis aromáticos (Flu, Pyr, B(a)A, Chry) representaram entre 3,0% (VNH) e 6,1% (BRG) do ΣPAH, e os de 5 a 6 anéis entre 25% (BRG) e 26% (VNH). Apesar dos PAH de baixa massa molar apresentarem as maiores percentagens do ΣPAH, as concentrações destes podem estar, mesmo assim, subestimadas considerando que estes PAH se encontram predominantemente na fase gasosa, fração não analisada na presente tese. Foram reportadas na literatura percentagens de PAH encontradas na fase particulada de 2%, 4%, 5%, 9% e 8% para o Nap, Ace, Flu, Phe e Ant, respetivamente. Por exemplo, para o Pyr, que apresenta 4 anéis aromáticos, distribuindo-se entre a fase gasosa e a fase particulada (dependendo das condições meteorológicas, tipo de fontes, entre outros fatores), esta percentagem foi de 55%; para o B(a)P, um PAH de alta massa molar, a percentagem foi de 89% [88]. No estudo realizado na Polónia mencionado anteriormente [82], em que foram quantificados PAH na fase gasosa e na fase particulada (PM₄) em diferentes zonas de 2 quartéis de bombeiros, verificou-se a mesma tendência: PAH com 2 a 3 anéis encontraram-se maioritariamente

na fase gasosa, os de 4 anéis igualmente distribuídos pelas duas fases e os de 5 a 6 anéis predominantemente na fase particulada. Neste estudo, o Nap e o Ace foram os PAH mais abundantes (76% e 23%, respetivamente) e apenas foram encontrados na fase gasosa.

De modo geral, quanto maior o número de anéis do PAH maior é a sua toxicidade, pelo que PAH de maiores massas molares são mais prejudiciais à saúde. Como se pode constatar pela figura 5.3, VNH é a corporação onde a fração particulada fina do ar pessoal dos bombeiros possuiu maior concentração destes PAH, e também dos PAH com 2 a 3 anéis e com 4 anéis. Assim, os bombeiros desta corporação encontraram-se expostos a maiores concentrações de PAH, incluindo aqueles mais tóxicos.

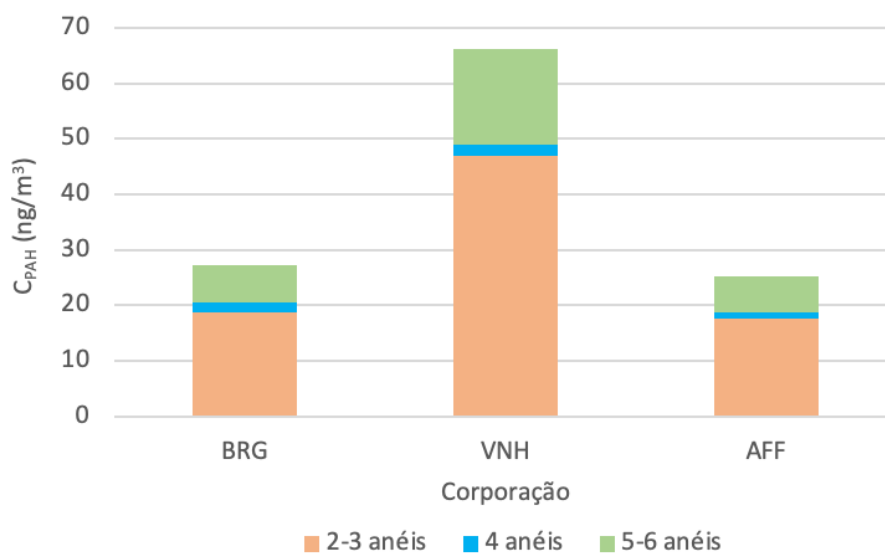


Figura 5.3: Distribuição das concentrações de PAH obtidas nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações de acordo com o número de anéis. C_{PAH} : concentração do PAH (ng/m^3); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.

De modo geral, na literatura verificou-se de igual modo uma contribuição predominante de PAH de baixa massa molar, de 74% a 96% [81]. A contribuição de PAH de 5 a 6 anéis aromáticos variou entre 2,7% e 35%.

5.2.1. PAH carcinogénicos

Dos 18 PAH incluídos neste estudo, 7 são considerados possivelmente ou provavelmente carcinogénicos (Nap, B(a)A, Chry, B(b)F, B(j)F, B(k)F, D(a,l)P, D(a,h)A e InP), e 1 deles, o B(a)P é classificado como cancerígeno para o ser humano. Tal como se verificou com o ΣPAH , VNH foi a corporação onde a zona de respiração dos bombeiros apresentou a maior concentração total de PAH carcinogénicos (ΣPAH_{carc}), no valor de

11,9 ng/m³ (figura 5.4). Esta foi seguida pela corporação AFF com 7,35 ng/m³, e por fim BRG com 3,94 ng/m³. Estas concentrações representaram 17%, 28% e 15% do total de PAH, respetivamente. Deste modo, embora VNH tenha sido alvo de uma maior exposição aos PAH analisados, AFF apresentou uma maior percentagem de PAH carcinogénicos.

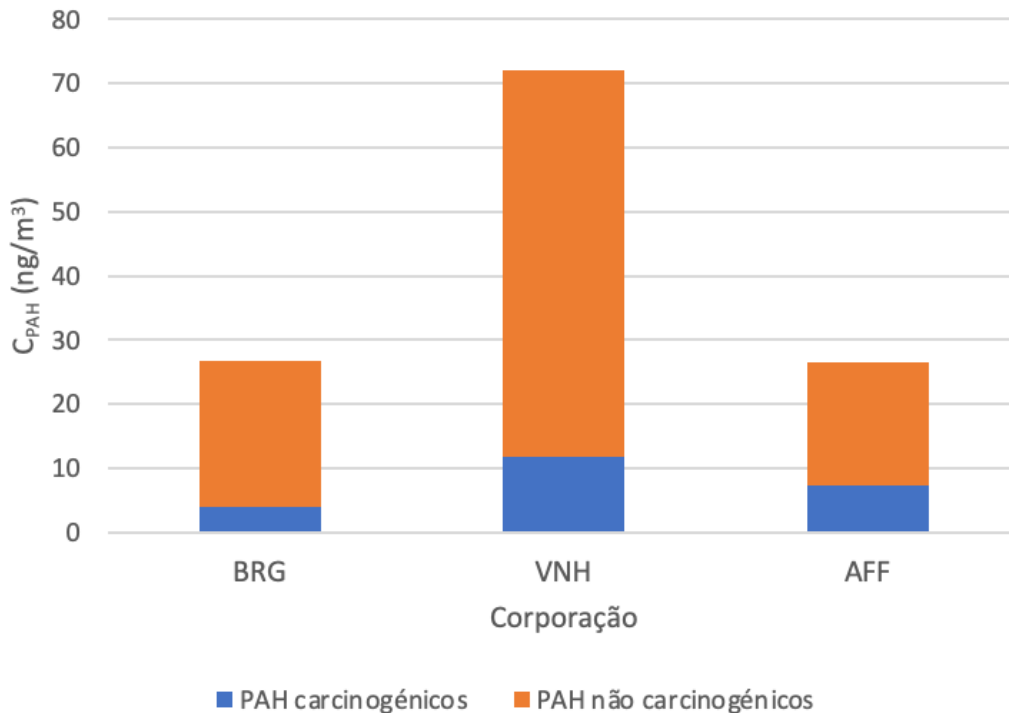


Figura 5.4: Contribuição da concentração dos PAH carcinogénicos obtidas nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações. C_{PAH} : concentração do PAH (ng/m³); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.

Na figura 5.5 estão representadas as concentrações individuais de cada PAH carcinogénico. Observou-se que, na corporação BRG, o PAH carcinogénico predominante foi o Nap, contribuindo para 41% do ΣPAH_{carc} . O segundo PAH carcinogénico foi o D(a,h)A, representando 31% do ΣPAH_{carc} . Isto está de acordo com o observado na literatura do projeto BioFirEx, em que o Nap foi o PAH carcinogénico mais abundante na maior parte das corporações, com contribuições entre 44% e 59% [70], e entre 39% e 78% [81], e em que foram observadas contribuições entre 9% e 22% [70] e entre 4,1% a 32% do D(a,h)A [81]. Nas corporações de VNH e AFF o mais abundante foi o D(a,h)A, com contribuições de 44% e 57%, respetivamente. Em ambos os casos, o Nap foi o segundo PAH carcinogénico mais abundante, representando 13% e 18% do ΣPAH_{carc} , respetivamente. Também na literatura, se verificou que numa das corporações o D(a,h)A foi o PAH carcinogénico mais abundante (34%), seguido do Nap (24%) [81].

A OMS reconhece o Nap como um relevante poluidor em espaços interiores, e estabeleceu um valor de referência anual nestes espaços de 1000 ng/m³. As concentrações do Nap nas amostras recolhidas variaram entre 0,437 ng/m³ e 7,37 ng/m³, estando, portanto, claramente abaixo deste limite. É, no entanto, de notar que o Nap é um PAH de baixa massa molar, pelo que é predominantemente encontrado na fase gasosa, e a sua concentração pode estar, conseqüentemente, subestimada. Da mesma forma, estas concentrações encontram-se abaixo do valor de referência de 50 mg/m³ estabelecido pelo Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH) para exposição ocupacional, nomeadamente turnos de 8 horas [70].

Quanto ao B(a)P, o marcador de exposição a PAH carcinogénicos, este apresentou contribuições entre 0,78% (VNH) e 1,4% (BRG) para o ΣPAH_{carc}. As concentrações medianas de B(a)P nas zonas de respiração dos bombeiros nas corporações de BRG, VNH e AFF foram iguais a 0,0931 ng/m³, 0,0930 ng/m³ e 0,0530 ng/m³, respetivamente, valores estes inferiores ao valor alvo de 1 ng/m³ definido no Decreto-Lei nº 102/2010 de 23 de setembro [89]. Verificou-se que este valor não foi excedido em nenhuma das amostras. Note-se, que este valor de referência diz respeito à média anual na fração PM₁₀, não existindo legislação para os níveis de PAH na fração PM_{2,5}.

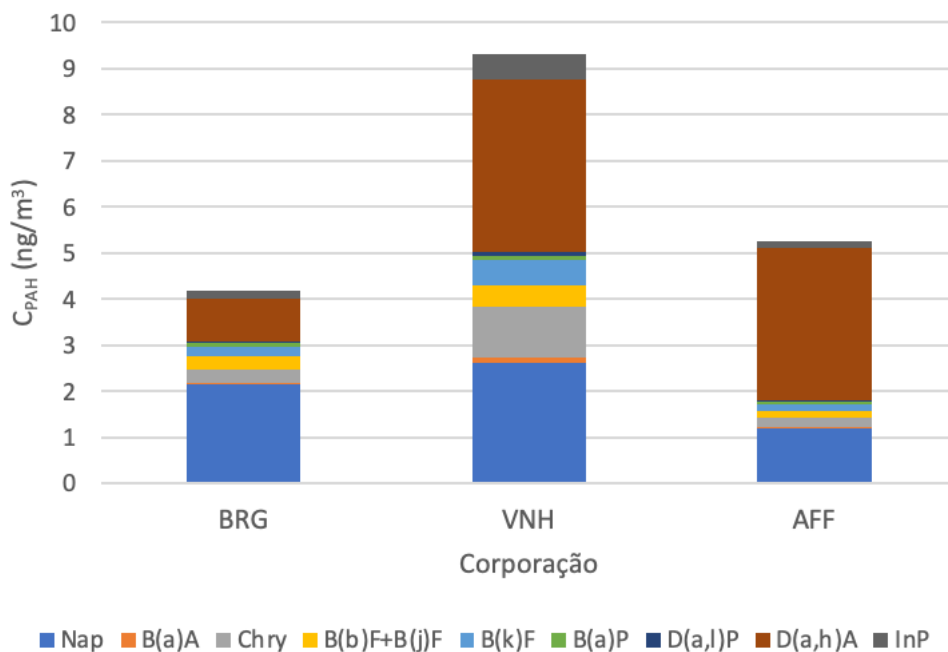


Figura 5.5: Contribuição da concentração individual dos PAH carcinogénicos obtidas nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações. C_{PAH}: concentração do PAH (ng/m³); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.

5.2.2. Análise de risco

Na figura 5.6 encontram-se representadas as concentrações equivalentes de B(a)P nas 3 corporações estudadas. Como se pode observar, e como seria de esperar de acordo com os resultados apresentados anteriormente, VNH é a corporação com maiores concentrações de B(a)P equivalente. Comparando as TEQ medianas, entre VNH e AFF verificou-se uma diferença de 9,6%, sendo a de VNH superior à de AFF. A TEQ mediana de VNH foi 3,6 vezes superior à de BRG, e a de AFF foi 3,3 vezes superior à de BRG. VNH foi também a corporação onde se observou uma maior variabilidade das TEQ, obtendo-se valores entre $2,33 \times 10^{-3}$ B(a)P_{eq} e $3,27 \times 10^{-2}$ B(a)P_{eq}. Já em BRG e AFF obtiveram-se menores variabilidades, com gamas de $1,01 \times 10^{-3}$ B(a)P_{eq} a $7,60 \times 10^{-3}$ B(a)P_{eq}, e de $7,80 \times 10^{-4}$ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de B(a)P_{eq} a $1,25 \times 10^{-4}$ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de B(a)P_{eq}.

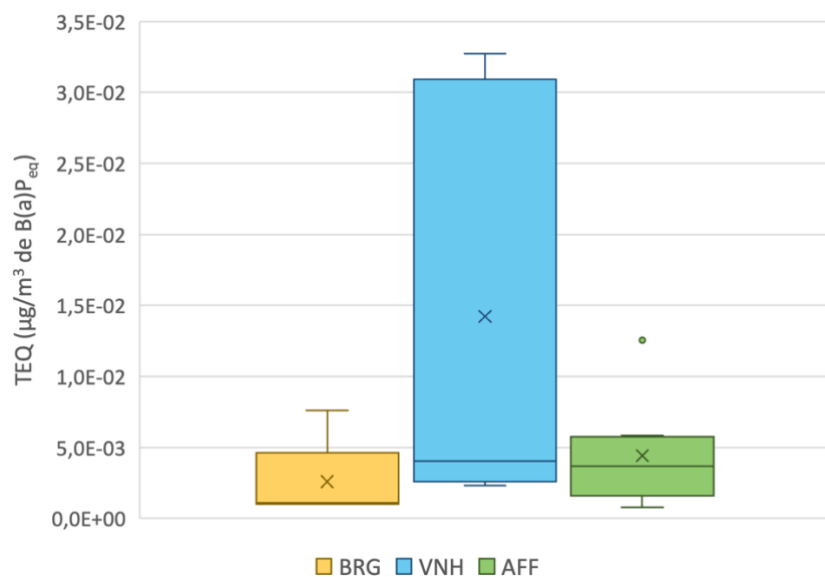


Figura 5.6: Boxplot das TEQ totais obtidas nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações. TEQ: concentração de toxicidade equivalente de B(a)P_{eq} ($\mu\text{g}/\text{m}^3$); B(a)P_{eq}: concentração equivalente de benzo(a)pireno; BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.

Globalmente, o D(a,h)A foi o PAH com maior percentagem equivalente de benzo(a)pireno, sendo esta igual a 91% em BRG, 93% em VNH e 96% em AFF. Encontram-se diferentes TEF para os PAH na literatura, sendo que neste trabalho o TEF utilizado para o D(a,h)A foi igual a 1 [29], supondo, com este valor, uma toxicidade semelhante à do B(a)P. O B(a)P foi o PAH com as segundas maiores percentagens equivalentes de benzo(a)pireno, iguais a 3,7%, 2,4% e 2,1% em BRG, VNH e AFF, respetivamente.

Na figura 5.7 encontram-se representados os ILR estimados para os bombeiros das 3 corporações. A região sombreada representa a gama de níveis aceitáveis de ILR (10^{-6} a 10^{-4}) abrangida pela escala do gráfico. Note-se que apenas foram incluídos nesta estimativa os PAH com IUR (Nap, B(a)A, Chry, B(k)F, B(a)P, D(a,h)A e InP). À semelhança do verificado para as TEQ, VNH foi a corporação que apresentou maiores ILR. O ILR mediano da corporação de VNH foi 11% superior da corporação de AFF, e 3,5 vezes superior ao da corporação BRG. Por sua vez, o ILR mediano de AFF foi 3,2 vezes superior ao da corporação BRG. Quanto à variabilidade, os ILR variaram entre $6,16 \times 10^{-8}$ e $4,48 \times 10^{-7}$ em BRG, entre $1,43 \times 10^{-7}$ e $1,91 \times 10^{-6}$ em VNH, e entre $4,51 \times 10^{-8}$ e $7,37 \times 10^{-7}$ em AFF. VNH foi, mais uma vez, a corporação onde se registou maior variabilidade. Note-se que para a duração de exposição foi assumida uma estimativa do tempo médio de carreira dos bombeiros igual a 30 anos, não havendo distinção entre as corporações. Assim, os maiores níveis de ILR verificados em VNH deveram-se às concentrações de PAH superiores na zona de respiração dos bombeiros.

De acordo com estes valores, ambas as corporações de BRG e AFF apresentaram ILR inferiores a 10^{-6} . Assim, os bombeiros destas duas corporações apresentam um risco de desenvolver cancro ao longo da vida inferior a 1 em 1000000 [69]. Quanto à corporação VNH, nesta obtiveram-se ILR dentro da gama de níveis aceitáveis, e também inferiores a esta, sendo o ILR máximo igual a $1,91 \times 10^{-6}$. Desta forma, os bombeiros desta corporação apresentam um risco de desenvolver cancro ao longo da vida inferior a 1 em 100000.

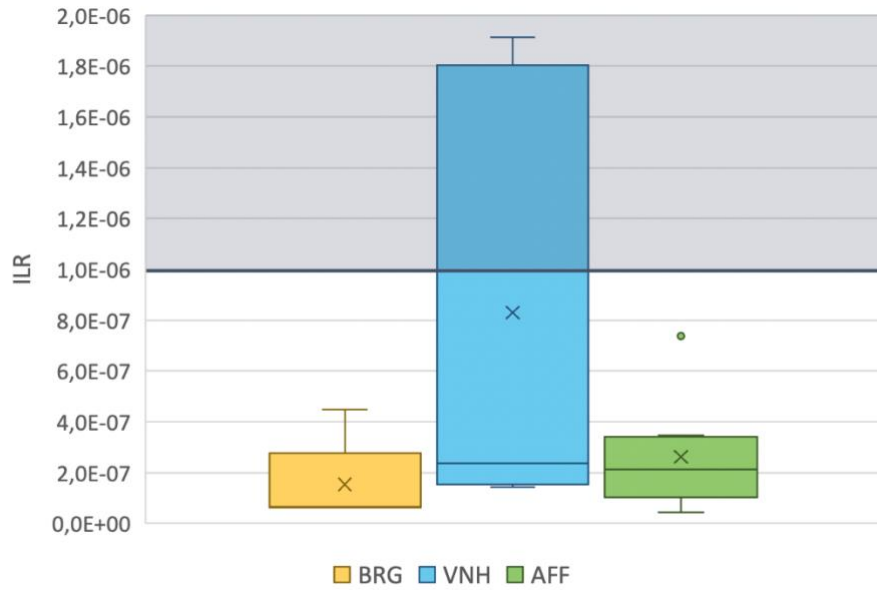


Figura 5.7: Boxplot dos ILR totais obtidos nas zonas de respiração de bombeiros nas três corporações. ILR: risco aumentado de cancro ao longo da vida; BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.

Mais uma vez, o D(a,h)A foi o PAH que mais contribuiu para os ILR em todas as corporações, sendo esta percentagem igual a 87%, 92% e 95% nas corporações de BRG, VNH e AFF, respetivamente. Salienta-se que o D(a,h)A e o B(a)P são os PAH incluídos caracterizados com maiores IUR ($6,00 \times 10^{-4} (\mu\text{g}/\text{m}^3)^{-1}$). Isto significa que o risco estimado de desenvolver cancro ao longo da vida como resultado da exposição contínua ao D(a,h)A e ao B(a)P na concentração de $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ no ar, é superior ao risco resultante da exposição contínua aos restantes PAH na mesma concentração. Posto isto, o B(a)P foi o segundo PAH que mais contribuiu para o ILR na corporação AFF (2,1%) e o terceiro PAH nas corporações de BRG (3,6%) e VNH (2,4%). O Nap foi o terceiro PAH predominante para o ILR na corporação de AFF (1,9%) e o segundo nas corporações de BRG (6,5%) e VNH (3,1%). Salienta-se mais uma vez que a concentração deste PAH pode estar subestimada, uma vez que este, habitualmente, encontra-se predominantemente na fase gasosa.

5.3. OH-PAH na urina

5.3.1. Creatinina

A creatinina é uma substância produzida pelo corpo humano que é excretada de forma constante pelos rins na urina e reflete a quantidade de tecido muscular no corpo humano [64, 90]. Como a creatinina é excretada de forma constante, a normalização da concentração dos OH-PAH com a mesma permite minimizar a variabilidade individual e entre indivíduos, nomeadamente a ingestão de líquidos, o exercício físico e a temperatura corporal [64]. Esta também é aceite como um biomarcador de várias doenças renais e cardiovasculares [90]. Em pessoas saudáveis, os níveis de creatinina na urina variam entre 0,3 g/L e 3 g/L [64].

As concentrações dos OH-PAH nas urinas de cada bombeiro foram normalizados com a respetiva concentração de creatinina. As concentrações de creatinina nas urinas de bombeiros (figura 5.8) variaram entre 1,27 g/L e 4,06 g/L na corporação BRG, entre 0,95 g/L e 2,33 g/L em VNH e entre 0,25 g/L e 2,68 g/L em AFF. As concentrações de creatinina na urina são também usadas para apurar se a amostra é válida [91]. Apenas um dos pontos ficou ligeiramente abaixo da gama de concentrações de creatinina na urina para pessoas saudáveis (0,3 g/L a 3,0 g/L), sendo este o ponto mínimo da corporação de AFF. Note-se, no entanto, que esta diferença não foi considerada significativa, uma vez que comparando este valor com o limite mínimo da gama para pessoas saudáveis, com o mesmo número de algarismos significativos, estes coincidem. Assim, este não foi excluído.

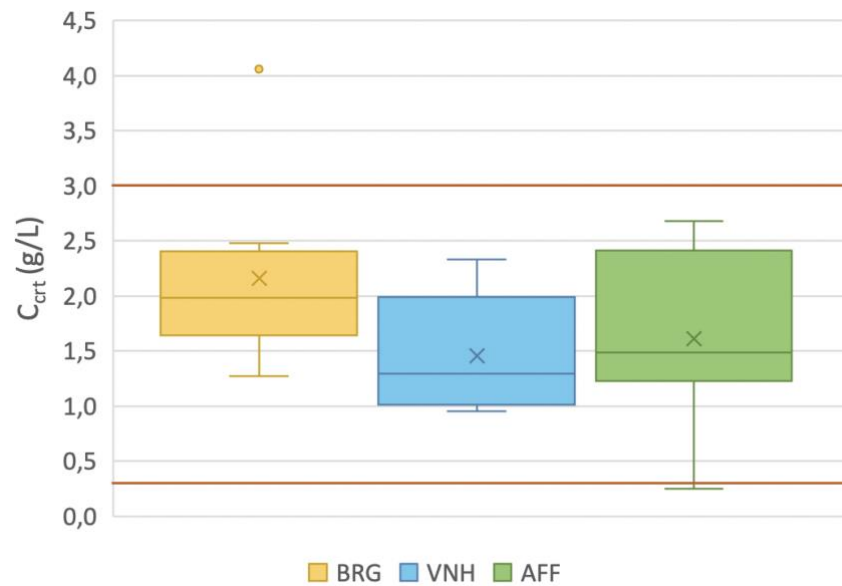


Figura 5.8: Boxplot das concentrações de creatinina obtidas nas urinas dos bombeiros caracterizados por corporação. C_{crit} : concentração de creatinina (g/L); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.

Na corporação de BRG um dos bombeiros expostos apresentou uma concentração de creatinina na urina igual a 4,06 g/L (outlier da figura 5.8). Esta concentração é superior à gama estabelecida para pessoas saudáveis, o que pode indicar um possível problema de saúde renal ou cardiovascular desconhecido, uma vez que não foi indicado nenhuma condição médica no questionário. A desidratação também pode levar a um aumento dos níveis de creatinina na urina, uma vez que pode provocar alterações da secreção, excreção e/ou reabsorção dos metabolitos nos rins [91]. Assim, outra possibilidade é que o bombeiro se poderá ter encontrado num estado de desidratação aquando da recolha da amostra, uma vez que esta situação é passível de acontecer durante e após o combate a incêndios. Apesar deste ponto se encontrar fora da gama de concentrações para pessoas saudáveis, não foi excluído devido ao número limitado de amostras de bombeiros expostos. Não foi observada diferença estatística entre as concentrações das diferentes corporações.

5.3.2. OH-PAH em bombeiros não expostos

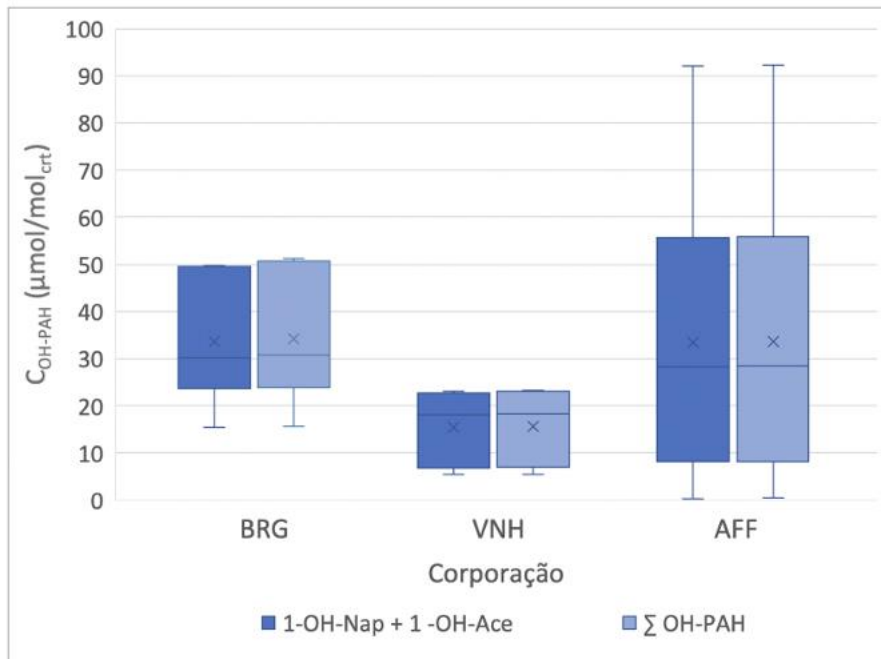
A concentração dos 6 PAH na urina dos bombeiros foi quantificada através de curvas de calibração individuais para cada OH-PAH, à exceção do 1-OH-Nap e do 1-OH-Ace, tendo estes sido quantificados em conjunto. Todas as curvas apresentaram boas correlações, com coeficientes de determinação entre 0,9953 e 0,9993. Analogamente ao

que foi feito para os PAH no ar, os LOD e LOQ foram determinados a partir dos desvios padrão e declives da respetiva curva de calibração [80]. Os LOD encontraram-se entre 0,015 µg/L (1-OH-Pyr) e 5,50 µg/L (1-OH-Nap + 1-OH-Ace), e os respetivos LOQ entre 0,049 µg/L e 18,3 µg/L. Sempre que a concentração dos OH-PAH foi inferior ao respetivo LOD, esta foi substituída por $LOD/\sqrt{2}$. Os tempos de retenção, as curvas de calibração, respetivos coeficientes de determinação, LOD e LOQ, e um cromatograma representativo do padrão 7 podem ser consultados no anexo B.

Enquanto o estudo dos PAH presentes nas zonas de respiração dos bombeiros demonstra que estes se encontram expostos a estes hidrocarbonetos por inalação, a deteção de OH-PAH na urina comprova a exposição a PAH por todos os meios de exposição (inalação, ingestão, dérmico). A figura 5.9 ilustra as concentrações dos OH-PAH quantificados nas urinas dos bombeiros das 3 corporações.

O 3-OH-B(a)P, principal metabolito do B(a)P, que, por sua vez, é o marcador carcinogénico dos PAH, não está incluído na figura 5.9, uma vez que não foi detetado em nenhuma das amostras. Este resultado está de acordo com o previamente verificado em vários artigos no âmbito do projeto BioFirEx [92].

Relativamente à concentração total de OH-PAH (Σ OH-PAH) nas urinas dos bombeiros, na corporação BRG este valor foi igual a 30,7 µmol/mol_{cr}, e na corporação VNH igual a 18,3 µmol/mol_{cr}. Estes valores revelaram-se estatisticamente diferentes, sendo a concentração de Σ OH-PAH entre os bombeiros BRG 68% superior à dos bombeiros da corporação VNH. Em AFF as concentrações Σ OH-PAH apresentaram maior variabilidade, encontrando-se entre 0,459 µmol/mol_{cr} e 92,3 µmol/mol_{cr}, valores mínimos e máximos registados. Quanto à concentração Σ OH-PAH mediana, esta foi 55% superior à observada em VNH e 7,4% inferior à observada em BRG. Não se observou diferença estatística entre as corporações de VNH e AFF, ou entre as de BRG e AFF.



(a)

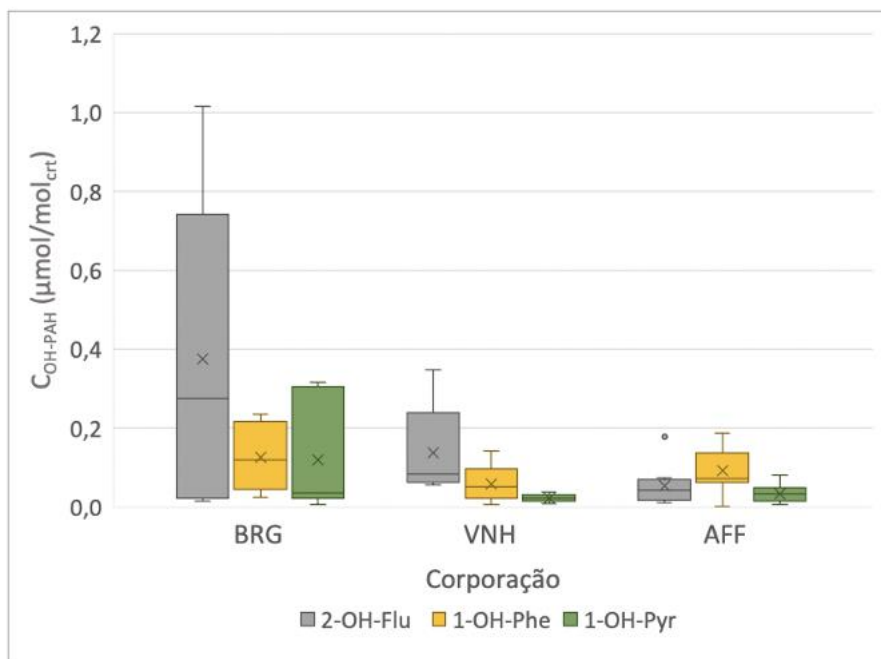


Figura 5.9: Boxplot das concentrações de OH-PAH individuais e totais obtidas nas urinas de bombeiros nas três corporações: (a) 1-OH-Nap + 1-OH-Ace: 1-hidroxi-naftaleno e 1-hidroxiacenafteno; ΣOH-PAH: total dos OH-PAH; e (b) 2-OH-Flu: 2-hidroxi-fluoreno; 1-OH-Phe: 1-hidroxi-fenantreno; 1-OH-Pyr: 1-hidroxi-pireno. COH-PAH: concentração de OH-PAH (μmol/mol_{crt}); BRG: Bragança; VNH: Vinhais; AFF: Alfândega da Fé.

Estas concentrações foram superiores às existentes em trabalhos em que foram estudados os mesmos 6 OH-PAH em urinas de bombeiros pertencentes a corporações localizadas no nordeste de Portugal [64, 81, 93, 25]. De modo geral, nestes artigos registaram-se concentrações ΣOH-PAH entre 0,160 μmol/mol_{crt} e 3,71 μmol/mol_{crt} nas

urinas dos bombeiros. Deste modo, os valores obtidos com a presente tese foram 4,9 vezes a 8,3 vezes superiores à concentração Σ OH-PAH máxima observada nestes artigos. É de notar que estes valores dizem respeito apenas a bombeiros não fumadores, ao contrário da amostra de bombeiros da presente tese, que inclui bombeiros fumadores e não fumadores. Contudo, comparando os resultados obtidos na presente tese com os resultados de um artigo onde esta distinção foi feita verifica-se a mesma tendência. Neste, as concentrações Σ OH-PAH para bombeiros fumadores não expostos pertencentes variaram entre 0,740 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ e 2,06 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ [93]. As concentrações encontradas na presente tese excederam até aquelas de bombeiros expostos a incêndios. A concentração Σ OH-PAH máxima registada em qualquer um destes artigos foi igual a 8,75 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ [93, 25, 64] sendo as da presente tese 2,1 vezes a 3,5 vezes superiores a este valor.

Comparando as concentrações Σ OH-PAH na urina dos bombeiros com as concentrações Σ PAH no ar, verificaram-se tendências diferentes. Enquanto nas zonas de respiração de bombeiros, VNH foi a corporação onde se registaram maiores níveis totais de PAH na fração particulada 2,5 μm , nas urinas, esta foi também a corporação onde se registaram menores níveis totais de OH-PAH. Relembrando que se obtiveram concentrações Σ PAH inferiores ao quantificado anteriormente em artigos do projeto, seria de esperar que o mesmo acontecesse para os níveis de OH-PAH nas urinas. Assumindo que as amostras recolhidas são representativas de um dia normal para os bombeiros quando estes não estão a combater incêndios, esta discrepância entre os níveis de PAH e OH-PAH pode estar relacionada com as vias de exposição. Como foi dito, os níveis de OH-PAH resultam de todos os meios de exposição, e neste estudo apenas foram quantificadas os PAH associados a $\text{PM}_{2,5}$, excluindo PAH na fase gasosa, por ingestão ou contacto dérmico.

A informação acerca da cinética de eliminação dos OH-PAH em seres humanos é limitada. De modo geral, foi observado por alguns autores que PAH de baixa massa molar são principalmente eliminados através da urina conjugados com macromoléculas. A complexidade do metabolismo dos PAH aumenta com a sua massa molecular, pelo que os metabolitos de PAH com mais de 5 anéis aromáticos são predominantemente eliminados nas fezes em vez de na urina [93]. Inclusive, o 3-OH-B(a)P é predominantemente eliminado nas fezes, em vez de na urina, o que pode explicar não ter sido detetado nas amostras recolhidas [25]. Foram reportadas tempos de semi-vida de 6,6 h para o 1-OH-Nap, entre de 8,4 h para o 2-OH-Flu, de 13,8 h para o 1-OH-Phe e de 23,5

h para o 1-OH-Pyr, após 2 h de exposição a fumo resultante da combustão de madeira [25].

Note-se que as amostras de ar e urina foram recolhidas no mesmo dia, não tendo havido tempo suficiente para ocorrer a metabolização dos PAH. Deste modo, os níveis elevados de Σ OH-PAH na urina podem ser resultado de uma exposição que terá ocorrido algumas horas antes das recolhas das amostras, ou até mesmo no dia anterior, o que pode explicar as diferentes tendências observadas entre as amostras de ar e nas urinas.

O 1-OH-Nap + 1-OH-Ace foram os OH-PAH predominantes nas urinas dos bombeiros de todas as corporações, representando 99% do total de OH-PAH. As concentrações medianas destes foram, respetivamente, 30,2 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$, 18,1 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$, e 28,2 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ em BRG, VNH e AFF. Tal como se verificou para os níveis totais de OH-PAH, os níveis de 1-OH-Nap + 1-OH-Ace na urina foram superiores aos determinados em estudos anteriores, em que as concentrações medianas foram no máximo 3,56 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$; as concentrações obtidas de 1-OH-Nap + 1-OH-Ace foram 5,1 vezes a 8,5 vezes superiores a este valor. Relacionando-se estes valores com aqueles obtidos nas amostras de ar, o Ace foi o PAH predominante em todas as corporações, representando 53%, 58% e 43% do total de PAH nas corporações de BRG, VNH e AFF, respetivamente. O Nap foi o terceiro, o quarto e o sexto PAH mais abundante no ar das zonas de respiração dos bombeiros das corporações de BRG, VNH e AFF, respetivamente, contribuindo entre 8,5%, 5,0% e 5,2% para o total de PAH. Reforça-se mais uma vez, que as concentrações de Nap e Ace no ar podem estar subestimados, mas que tanto os seus níveis na fase gasosa como na fase particulada contribuem para a concentração de 1-OH-Nap + 1-OH-Ace na urina.

Em termos de abundância decrescente depois do 1-OH-Nap + 1-OH-Ace, verificou-se a ordem seguinte: 2-OH-Flu > 1-OH-Phen > 1-OH-Pyr em BRG e VNH e 1-OH-Phen > 2-OH-Flu > 1-OH-Pyr em AFF. A concentração de 2-OH-Flu nas urinas dos bombeiros em VNH (0,0842 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$) revelou-se estatisticamente diferente da dos bombeiros de AFF (0,0427 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$). Não se verificou diferença estatística em relação a estes OH-PAH entre nenhuma das corporações. Na literatura portuguesa, as concentrações medianas variaram de 0,139 a 0,200 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ para o 2-OH-Flu, de 0,0080 a 0,0744 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ para o 1-OH-Phen e de 0,0090 a 0,146 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ para o 1-OH-Pyr [64, 81, 93, 25]. Nas corporações de VNH e AFF, as concentrações medianas dos três OH-PAH encontraram-se dentro das respetivas gamas. No caso da corporação de BRG, a concentração do 1-OH-Pyr encontrou-se dentro da respetiva gama, contudo, o 2-

OH-Flu e o 1-OH-Phe apresentaram concentrações 38% e 61% superiores aos limites superiores das suas gamas, respetivamente. De acordo com estes resultados, o 1-OH-Pyr, que é o biomarcador urinário de exposição aos PAH, foi o PAH menos abundante em todas as corporações, com concentrações medianas entre 0,0215 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ e 0,0330 $\mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$, que resultaram em contribuições de 0,12% a 0,14%.

Relativamente aos PAH dos quais derivam estes 3 OH-PAH, nas 3 corporações a ordem decrescente das suas concentrações no ar de respiração dos bombeiros foi Flu > Phe > Pyr em todas as corporações. Esta ordem coincide com a dos respetivos OH-PAH nas corporações de BRG e VNH. Em AFF houve uma inversão da ordem do 2-OH-Flu e do 1-OH-Phe. Os níveis destes PAH no ar podem estar subestimados, uma vez que o Flu e o Phe possuem 3 anéis aromáticos e o Pyr possui 4.

Assim, pode-se concluir que os níveis de $\Sigma\text{OH-PAH}$ 4,9 vezes a 8,3 vezes superiores à concentração $\Sigma\text{OH-PAH}$ máxima de estudos anteriores se deveram à contribuição do 1-OH-Nap + 1-OH-Ace.

Constatou-se que, de modo geral, as concentrações dos OH-PAH variam inversamente com a sua massa molecular, como previamente descrito por outros autores [25, 81]. Assim, quanto maior a massa molar dos OH-PAH, menor foi a sua concentração na urina. A única exceção foi na corporação de AFF, onde a concentração de 1-OH-Pyr foi superior à do 1-OH-Phe.

5.3.3. Correlação entre PAH e OH-PAH

Para avaliar a relação entre as concentrações de PAH no ar e OH-PAH na urina foram estimados coeficientes de correlação de Spearman (r_s) entre a soma das concentrações individuais do Nap, Ace, Flu, Phe e Pyr no ar e a concentração total de OH-PAH (1-OH-Nap + 1-OH-Ace, 2-OH-Flu, 1-OH-Phe, e 1-OH-Pyr), e entre os PAH individuais e os respetivos OH-PAH.

Relativamente às concentrações totais, em BRG a correlação observada foi fraca ($r_s=0,0857$), em VNH foi forte ($r_s=0,800$) e em AFF foi moderada ($r_s=0,333$). As correlações positivas indicam que os níveis excretados de OH-PAH aumentam com o aumento da exposição aos respetivos PAH. A corporação de VNH, onde a correlação foi mais forte, terá sido aquela onde a exposição a PAH associados a $\text{PM}_{2,5}$ teve o maior impacto na exposição total a PAH, seguida da corporação de AFF e, por fim, BRG.

Num trabalho anterior do projeto foi também avaliada esta correlação, com os mesmos PAH e OH-PAH, tendo-se obtido coeficientes entre 0,367 e 0,886 [81]. Deste modo, as correlações observadas em BRG e AFF foram inferiores às obtidas previamente em bombeiros em corporações no nordeste de Portugal. Neste artigo verificou-se ainda que a influência dos PAH nos OH-PAH foi mais evidente em bombeiros expostos a maiores quantidades destes PAH. O mesmo se verificou no presente trabalho, uma vez que a soma das concentrações de Nap, Ace, Flu, Phe e Pyr no ar foi superior em VNH (43,2 ng/m³), seguida de BRG (20,9 ng/m³) e AFF (17,0 ng/m³).

Relações variadas foram observadas quando se compararam os níveis PAH no ar com os respetivos OH-PAH na urina individualmente. Para o Nap + Ace e 1-OH-Nap + 1-OH-Ace a relação mais forte foi observada entre os bombeiros de VNH ($r_s=0,400$). Já em AFF, o coeficiente de correlação foi negativo ($r_s=-0,250$), o que sugere que quanto maior a exposição ao Nap e ao Ace através de PM_{2,5}, menor é a quantidade de 1-OH-Nap e 1-OH-Ace na urina. Isto pode significar que a exposição total a estes PAH foi mais significativa por outros meios de exposição. Tendências semelhantes foram observadas para os restantes compostos. Para o Flu constatou-se uma correlação negativa em VNH ($r_s=-0,100$) e AFF ($r_s=-0,0500$), tendo sido fraca em BRG ($r_s=0,0286$). Não foi observada correlação entre os níveis de Phe e 1-OH-Phe em VNH ($r_s=0,000$) e a observada em BRG e AFF foi negativa ($r_s=-0,371$ e $r_s=-0,533$). Por fim, para o Pyr observou-se uma correlação negativa em BRG ($r_s=-0,657$) e positiva forte e moderada em VNH ($r_s=0,900$) e AFF ($r_s=0,383$), respetivamente.

De modo geral, foram observadas correlações mais fortes no estudo prévio, com coeficientes de correlação de Spearman a chegarem a 0,833 para o Nap + Ace e o 1-OH-Nap + 1-OH-Ace, 0,771 para Flu e o 2-OH-Flu, 0,971 para o Phe e o 1-OH-Phe e 0,878 para o Pyr e o 1-OH-Pyr [81]. Correlações mais fracas, mas, ainda assim mais fortes das obtidas na presente tese, foram reportadas num outro estudo cujo alvo foram operadores de fornos de coque [92]. Neste observaram-se coeficientes de correlação de 0,493 entre o Nap (na fase particulada) e o 1-OH-Nap e de 0,701 entre o Nap e o 2-hidroxinaftaleno (2-OH-Nap), pelo que o segundo pode ser um marcador mais forte à exposição do Nap na fase particulada do que o 1-OH-Nap. Neste também foram reportadas correlações moderadas a fortes entre outros PAH e OH-PAH individuais ($r=0,568$ para o Pyr e 1-OH-Pyr; $r=0,706$ para o Flu e o 2-OH-Flu).

Note-se que, tal como foi mencionado anteriormente, as amostras de ar e urina foram recolhidas no mesmo dia, podendo não ter havido tempo suficiente para a metabolização dos PAH.

5.3.4. OH-PAH em bombeiros não expostos vs. expostos

Com o intuito de avaliar o efeito da exposição a PAH em bombeiros antes e após o combate a incêndios rurais, as concentrações de OH-PAH dos 3 bombeiros expostos foram comparados com as concentrações dos 20 bombeiros não expostos. Tendo em conta que os únicos bombeiros expostos pertenciam à corporação de Bragança, os níveis de OH-PAH destes foram também comparados com os 6 bombeiros não expostos desta corporação (figura 5.10). Como se pode constatar, de modo geral, as concentrações de Σ OH-PAH na urina foram maiores nos bombeiros expostos, do que nos bombeiros não expostos (de todas as corporações e da corporação de BRG). A concentração mediana de Σ OH-PAH dos bombeiros expostos ($84,43 \mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$) foi 3,4 vezes superior à dos bombeiros não expostos, e 2,8 vezes superior à dos bombeiros não expostos de BRG. Esta tendência está de acordo com o observado na literatura [25, 93, 64]. Quanto à concentração, esta foi superior à relatada em estudos anteriores ($0,973$ a $8,75 \mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$) como aconteceu com as concentrações dos bombeiros não expostos [25, 93, 64].

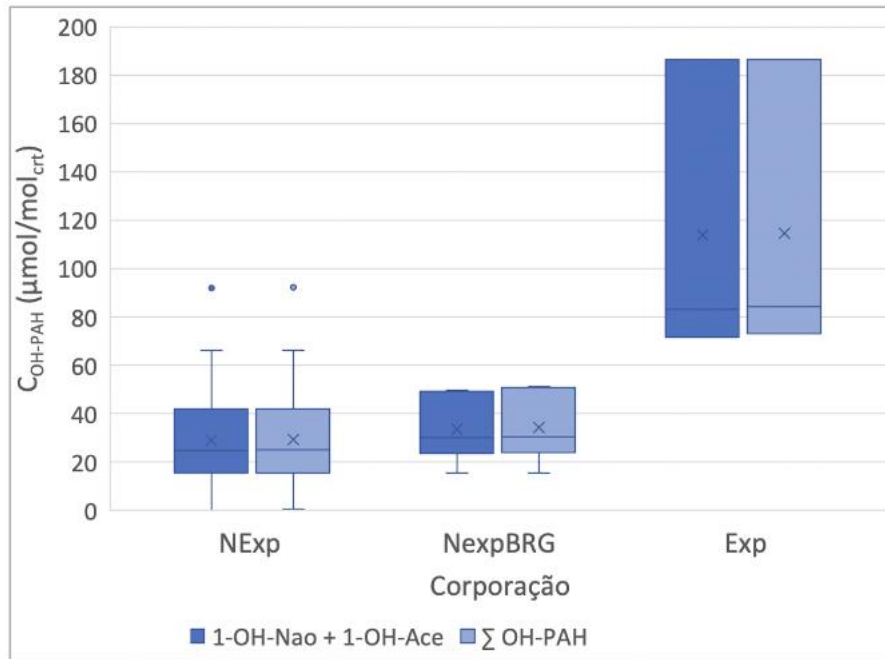
Tal como se verificou nos bombeiros não expostos, também nos bombeiros expostos o OH-PAH predominante foi o 1-OH-Nap e o 1-OH-Ace. Neste caso a contribuição foi de 99%, igual à contribuição destes OH-PAH nos bombeiros não expostos. A concentração destes OH-PAH em bombeiros expostos foi 234% superior à em bombeiros não expostos. A concentrações mediana destes metabolitos foi $83,1 \mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$, superior ao observado na literatura do projeto com concentrações medianas a variarem entre $0,6$ e $8,2 \mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$. Mesmo assim, também nestes artigos estes foram os metabolitos com maior contribuição para o total de OH-PAH em bombeiros expostos (72% a 98%) [25, 93, 64].

Foi também verificado um aumento da concentração mediana do 1-OH-Pyr ($0,0259 \mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$) de 27% em relação aos bombeiros não expostos e de 6,8% em relação aos bombeiros não expostos em Bragança. Embora o 1-OH-Pyr seja comumente usado como o biomarcador de exposição a PAH, foi o que menos contribui para Σ OH-PAH (0,073%), à semelhança do verificado nos bombeiros não expostos (0,12% a

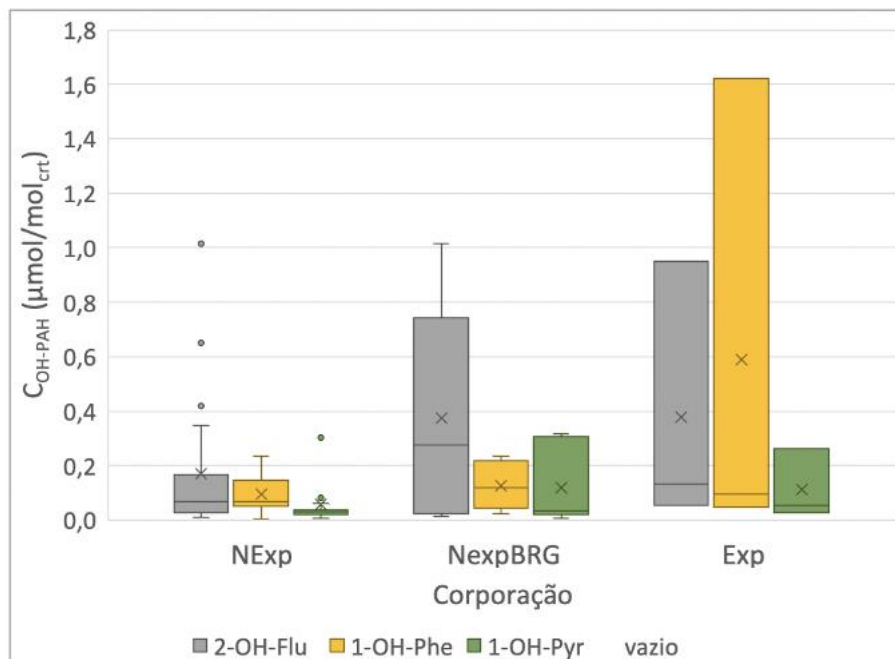
0,14%), apesar de se tratar de um número limitado de amostras e, portanto, sem relevância estatística. Também em estudos anteriores, este foi o biomarcador que menos contribuiu para o Σ OH-PAH pós exposição, com concentrações entre 0,0173 e 0,153 $\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$, sendo que a concentração obtida no presente trabalho está dentro desta gama [25, 93, 64].

Um estudo conduzido nos Estados Unidos avaliou as concentrações de 9 biomarcadores urinários de PAH em bombeiros, antes e após turnos de trabalho (7,6 h) onde foram expostos a fogos controlados, incluindo o 1-OH-Nap, o 2-OH-Flu, o 1-OH-Phe e o 1-OH-Pyr [94]. Neste estudo, 1-OH-Pyr foi o metabolito com o menor aumento de concentração após exposição ao incêndio (83%), em oposição ao 1-OH-Nap, que sofreu o maior aumento (323%). Em termos de concentração, a do 1-OH-Pyr pós exposição neste estudo foi 5,6 vezes superior à observada no presente trabalho. É de notar que as florestas americanas diferem das portuguesas, o que afeta a composição da mistura de PAH libertados, e que estes bombeiros não utilizaram proteção respiratória, pelo que se espera uma maior exposição. Retomando a ideia de que o 2-OH-Nap pode ser um marcador mais forte à exposição do Nap do que o 1-OH-Nap, também neste estudo foi quantificado o 2-OH-Nap, sendo o metabolito com maior concentração pré e pós exposição. No entanto, a razão entre a concentração pós e pré exposição foi superior para o 1-OH-Nap (4,23) do que para o 2-OH-Nap (2,98). Assim, os dados aparentam indicar que a excreção do 1-OH-Nap é mais afetada pela exposição a incêndios rurais do que a do 2-OH-Nap, fazendo do primeiro um biomarcador mais forte para avaliar este tipo de exposição.

Quanto ao 2-OH-Flu, a concentração mediana em bombeiros expostos foi o dobro da de bombeiros não expostos. Simultaneamente verificou-se uma diminuição de 51% desta concentração em relação aos bombeiros não expostos de BRG. Uma tendência semelhante foi verificada para o 1-OH-Phe, uma vez que a sua concentração em bombeiros expostos foi 42% superior à concentração dos bombeiros não expostos, mas 19% inferior à concentração dos bombeiros não expostos em BRG. Da mesma forma, estudos do projeto também não registaram subidas destes dois biomarcadores pós exposição em todas as corporações, observando-se concentrações entre 0,0280 $\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$ e 1,50 $\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$ de 2-OH-Flu e entre 0,0400 $\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$ e 0,180 $\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$ de 1-OH-Phe [25, 93, 64]. As concentrações obtidas no presente estudo encontram-se dentro destas gamas (0,134 $\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$ para o 2-OH-Flu e 0,0970 $\mu\text{mol}/\text{mol}_{\text{crt}}$ para o 1-OH-Phen).



(a)



(b)

Figura 5.10: Boxplot das concentrações de OH-PAH individuais e totais obtidas nas urinas dos bombeiros não expostos e dos bombeiros não expostos / expostos de Bragança: (a) 1-OH-Nap + 1-OH-Ace: 1-hidroxi-naftaleno e 1-hidroxi-acenafteno; ΣOH-PAH: total dos OH-PAH; e (b) 2-OH-Flu: 2-hidroxi-fluoreno; 1-OH-Phe: 1-hidroxi-fenantreno; 1-OH-Pyr: 1-hidroxi-pireno. C_{OH-PAH} : concentração de OH-PAH ($\mu\text{mol}/\text{mol}_{crt}$); NExp: Não expostos; NExpBRG: Não expostos em Bragança; Exp: Expostos.

No estudo conduzido nos Estados Unidos, à semelhança do observado para o 1-OH-Pyr, as concentrações foram superiores às obtidas com o presente estudo (6,9 vezes

para o 2-OH-Flu e 3,3 vezes para o 1-OH-Phe) [94]. Neste estudo, registou-se em ambos os metabolitos uma subida da sua concentração pós exposição, o que pode estar relacionado com o facto de não terem utilizado proteção das vias respiratórias, ou com a composição das emissões libertadas.

Foi também realizada uma comparação das concentrações totais de OH-PAH na urina dos bombeiros antes e após exposição a um incêndio rural (duração de 2h30) indivíduo a indivíduo (figura 5.11). Como se pode constatar pela observação da figura 5.11, a concentração dos Σ OH-PAH foi sempre significativamente superior (84% a 1098%) após exposição ao incêndio rural. A concentração Σ OH-PAH após exposição foi 1,6 vezes superior à concentração pré exposição para o bombeiro 1, foi 12 vezes superior para o bombeiro 2 e 2,8 vezes superior para o bombeiro 3. O bombeiro 2 foi o que experienciou um maior aumento da concentração dos Σ OH-PAH, uma vez que apresentou a menor concentração Σ OH-PAH pré exposição e a maior concentração pós exposição. Uma razão para este apresentar uma menor concentração pré exposição pode estar relacionado com o facto de este ser o único não fumador dos 3 bombeiros, ou poderá ter sido menos exposto, por exemplo, por ingestão. A concentração superior pós exposição poderá estar relacionada com a própria exposição durante o incêndio. Por exemplo, este pode ter ficado numa zona com maior concentração de PAH no ar durante mais tempo, ou, em alternativa, poderá ter retirado ou não utilizado os EPIs de forma correta. Para além disso, os indivíduos podem apresentar velocidades de metabolização diferentes, portanto mesmo que tenham sido expostos a concentrações de PAH semelhantes durante o incêndio, os seus biomarcadores podem apresentar diferentes concentrações na urina. Adicionalmente, a exposição repetida a emissões de incêndios rurais ao longo da época de incêndios pode resultar numa exposição cumulativa da dose interna individual de cada indivíduo. Assim, se o bombeiro 2 se encontrou envolvido em mais episódios de combate a incêndios do que os bombeiros 1 e 3, a concentração de Σ OH-PAH na sua urina pode também ser influenciada pela exposição repetida.

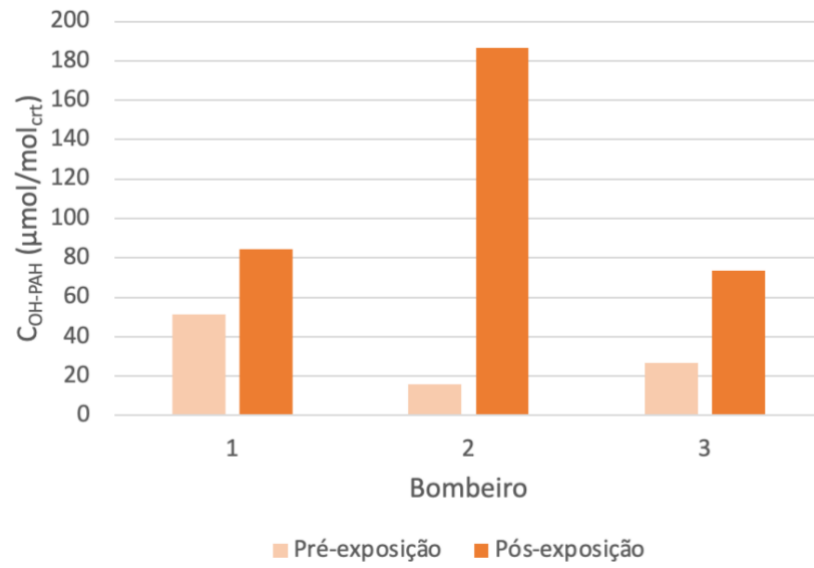


Figura 5.11: Gráfico de barras das concentrações de ΣOH-PAH obtidas em bombeiros antes e após exposição. C_{OH-PAH} : concentração de OH-PAH ($\mu\text{mol}/\text{mol}_{cr}$)

Capítulo 6

Conclusão e Sugestões para Trabalho Futuro

O principal objetivo do presente trabalho foi avaliar a exposição ocupacional dos bombeiros a PAH em ambiente de quartel e após o combate a incêndios rurais. Para isso, durante um turno de trabalho normal em quartel, foi monitorizado o ar pessoal de bombeiros pertencentes a 3 corporações do distrito de Bragança (BRG, VNH e AFF) e quantificados 18 PAH na fase particulada PM_{2,5}. Foram também quantificados 6 OH-PAH em amostras de urina dos mesmos bombeiros recolhidas em ambiente de quartel e de alguns destes após cerca de 2h30 de combate a um incêndio rural.

A concentração total de PAH (Σ PAH) foi semelhante em BRG e AFF (26,7 ng/m³ e 26,4 ng/m³, respetivamente), e 2,7 vezes superior em VNH (72,1 ng/m³). Nas 3 corporações, o limiar de proteção de PM_{2,5} para o interior de edifícios de comércio e serviços para 8 h (25 μ g/m³ com uma margem de tolerância de 100%) definido na Portaria n.º 138-G/2021 foi respeitado, assim como o limite a curto prazo (24 h) para PM_{2,5} (15 μ g/m³) proposto pela OMS. A concentração Σ PAH em VNH encontrou-se dentro da gama de valores registados previamente em estudos com corporações situadas no nordeste de Portugal (46,4 ng/m³ a 428 ng/m³), enquanto nas corporações de BRG e AFF foram observadas concentrações inferiores a estas. VNH foi também a corporação onde se verificaram maiores concentrações de PAH individuais (superiores até 4,1 vezes em BRG e até 5,6 vezes em AFF), à exceção do Pyr e do B(g,h,i)P. A ordem decrescente de predominância dos PAH mais abundantes no ar foi: Ace (43% a 58%), Flu (12% a 15%), D(a,h)A (7,2% a 14%), Nap (5,0% a 8,5%), B(g,h,i)P (2,7% a 7,9%) e Phe (3,6% a 5,7%). Constatou-se um predomínio dos PAH com 2 a 3 anéis aromáticos, representando entre 69% (BRG) e 71% (VNH) do Σ PAH. Os PAH de 4 anéis aromáticos apresentaram contribuições entre 3,0% e 6,1%, e os PAH com 5 a 6 anéis aromáticos entre 25% e 26%.

Os PAH carcinogénicos constituíram entre 15% (BRG) e 28% (AFF) do Σ PAH, sendo que VNH foi a corporação onde o ar pessoal dos bombeiros apresentou a maior

concentração total de PAH carcinogénicos ($\Sigma\text{PAH}_{\text{carc}}$), com $11,9 \text{ ng/m}^3$. VNH foi também a corporação com maiores concentrações de B(a)P equivalente (9,6% superior a AFF; 3,6 vezes superior a BRG) e maiores ILR (3,5 vezes superior a BRG; 11% superior a AFF). O ILR máximo verificado nesta corporação foi igual a $1,91 \times 10^{-6}$, inferior ao limite máximo da gama de níveis aceitáveis de ILR proposta pela US-EPA (10^{-6} a 10^{-4}). De acordo com isto, o risco máximo que os bombeiros apresentam de desenvolver cancro ao longo da vida é inferior a 1 em 100000, pelo que se concluiu que, embora estes operacionais se encontrem expostos a PAH na fase $\text{PM}_{2,5}$ nos quartéis, esta exposição não representa um risco para a sua saúde. A concentração do Nap, que variou entre $0,437 \text{ ng/m}^3$ e $7,37 \text{ ng/m}^3$, foi inferior ao valor de referência para espaços interiores estabelecido pela OMS (1000 ng/m^3) e ao valor de referência para exposição ocupacional estabelecido pela NIOSH (50 mg/m^3). O marcador de exposição a PAH carcinogénicos, B(a)P, com concentrações entre $0,0530 \text{ ng/m}^3$ e $0,0931 \text{ ng/m}^3$, encontrou-se abaixo do valor alvo de 1 ng/m^3 na fração PM_{10} definido no Decreto-Lei nº 102/2010 de 23 de setembro.

Apenas uma das amostras de urina possuiu uma concentração de creatinina superior à gama definida para pessoas saudáveis ($0,3 \text{ g/L}$ a $3,0 \text{ g/L}$). Nas restantes, esta variou entre $0,25 \text{ g/L}$ e $2,68 \text{ g/L}$ validando assim as amostras. Em ambiente de quartel, a concentração total de OH-PAH ($\Sigma\text{OH-PAH}$) nas urinas dos bombeiros foi $30,7 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$, $18,3 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ e $28,4 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$ nas corporações de BRG, VNH e AFF, respetivamente. Em BRG, a concentração $\Sigma\text{OH-PAH}$ foi 68% superior à de VNH, sendo as concentrações verificadas nas duas corporações estatisticamente diferentes. Não se verificou diferença estatística entre a corporação de AFF e as restantes devido à elevada variabilidade das concentrações desta. Estas concentrações excederam as máximas observadas em estudos no nordeste de Portugal para bombeiros não fumadores não expostos ($3,71 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$), fumadores não expostos ($2,06 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$) e fumadores expostos ($8,75 \text{ } \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$). Constatou-se, assim, que, apesar de VNH ter sido a corporação com maior exposição aos PAH na fase $\text{PM}_{2,5}$, esta foi a corporação que, de modo geral, apresentou menores níveis de OH-PAH, registando-se valores superiores em BRG e AFF. Estas diferenças podem explicadas por alguns fatores, nomeadamente as vias de exposição, uma vez que os OH-PAH refletem a exposição por todos os meios de exposição. O 1-OH-Nap + 1-OH-Ace constituíram 99% do total de OH-PAH, e os PAH dos quais derivam (Nap e Ace) são PAH de baixa massa molecular, pelo que são predominantemente encontrados na fase gasosa, fração não avaliada neste trabalho. Para além disso, pode não ter havido tempo suficiente para a metabolização dos PAH entre a

colheita da fração particulada do ar e das amostras de urina. Quanto aos restantes OH-PAH, o 3-OH-B(a)P, principal metabolito do B(a)P e marcador carcinogénico dos PAH, não foi detetado em nenhuma das amostras. Foram observadas correlações variadas entre os PAH e os OH-PAH. VNH foi a corporação em que se observou a correlação mais forte ($r=0,800$), pelo que foi aquela onde a exposição a PAH na fase $PM_{2,5}$ mais contribuiu para a exposição total a PAH. Por outro lado, em BRG a correlação foi fraca ($r=0,0857$) reforçando a ideia da contribuição de outras vias de exposição.

No que concerne ao efeito dos incêndios rurais na exposição dos PAH, a concentração Σ OH-PAH na urina de bombeiros expostos ($84,4 \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$) foi 3,4 vezes superior à dos bombeiros não expostos e 2,8 vezes superior à dos bombeiros não expostos de BRG. Este valor foi superior ao obtido em estudos anteriores ($0,973$ a $8,75 \mu\text{mol/mol}_{\text{crt}}$) como o verificado para as concentrações dos bombeiros não expostos. O OH-PAH predominante continuou a ser o 1-OH-Nap e o 1-OH-Ace (99%). Foi verificada um incremento de 27% da concentração mediana do 1-OH-Pyr em relação aos bombeiros não expostos e de 6,8% em relação aos bombeiros não expostos em BRG. No entanto, este continuou a ser o OH-PAH que menos contribui para Σ OH-PAH (0,073%). Comparando as concentrações Σ OH-PAH pré e pós exposição, indivíduo a indivíduo, estas foram entre 1,6 a 12 vezes superiores nas urinas dos bombeiros após exposição. Assim, reforça-se a ideia de que as emissões de incêndios rurais contribuem de forma significativa para a exposição de bombeiros a PAH.

Na realização de trabalhos futuros sugere-se a quantificação de PAH, não só na fase particulada, mas também na fase gasosa, principalmente daqueles com baixa massa molecular. Quando se fizer a recolha de amostras de ar e urina sugere-se também que as urinas sejam recolhidas no dia seguinte às do ar, de forma a permitir tempo suficiente à metabolização dos PAH. Por último, se possível, sugere-se que sejam incluídos no estudo apenas bombeiros não fumadores para eliminar a variabilidade associada ao tabaco, ou, na melhor das hipóteses, que sejam incorporados mais participantes fumadores e não fumadores, de forma a poder fazer esta distinção por corporação.

Bibliografia

- [1] M. Santos e A. Almeida, “Principais riscos e fatores de risco ocupacionais associados aos bombeiros, eventuais doenças profissionais e medidas de proteção recomendadas,” *Revista Portuguesa de Saúde Ocupacional (RPSO)*, 2016.
- [2] L. Hernández, “Paisagens corta-fogos. Proposta da ANP|WWF e WWF Espanha para um território ibérico adaptado aos incêndios.,” ANP|WWF e WWF Espanha, Espanha, 2021.
- [3] V. M. d. S. Martins, “Impacto dos Incêndios Florestais na Qualidade do Ar,” Tese de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Universidade de Aveiro, Departamento de Ambiente e Ordenamento, 2007.
- [4] M. Oliveira, C. Delerue-Matos, M. C. Pereira e S. Morais, “Environmental Particulate Matter Levels during 2017 Large Forest Fires and Megafires in the Center Region of Portugal: A Public Health Concern?,” *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17(3), pp. 1-20, 2020.
- [5] S. M. S. V. Barbosa, “Comparação das causas reais dos incêndios florestais em Portugal e a perceção da população do parque natural de Sintra-Cascais,” Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Gestão e Conservação de Recursos Naturais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, 2020.
- [6] United Nations Environment Programme, “Spreading like wildfire - The rising threat of extraordinary landscape fires,” Nairobi, 2022.
- [7] J. Ventura e M. J. Vasconcelos, “O Fogo como Processo Físico-Químico e Ecológico,” em *Incêndios Florestais em Portugal: Caracterização, Impactes e Prevenção*, Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, 2006, pp. 93-113.
- [8] Secretaria de Segurança Pública e Administração Penitenciária, “História da Corporação,” CBMGO, Estado de Goiás, 2016.
- [9] L. Hernández, “Um planeta em chamas: Proposta Ibérica da WWF para a prevenção de incêndios rurais,” ANP|WWF e WWF Espanha, Espanha, 2020.
- [10] P. E. D. S. Quintal, “Caracterização do stresse térmico no combate a incêndios e avaliação de sistemas de arrefecimento individual,” Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Mecânica na Especialidade de Energia e Ambiente, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Departamento de Engenharia Mecânica, 2012.
- [11] International Organization for Standardization, “ISO 13943:2017(en) Fire safety — Vocabulary,” 2017.
- [12] L. Lourenço, G. Serra, L. Mota, J. J. Paúl, S. Correia, J. Parola e J. Reis, *Manual de Combate a Incêndios Florestais para Equipas de Primeira Intervenção*, Sintra: Escola Nacional de Bombeiros, 2006.
- [13] ICNF: Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, “8.º Relatório provisório de incêndios rurais - 2021,” Divisão de Gestão do Programa de Fogos Rurais, ICNF – SGIF/Sistema de Gestão de Informação de Incêndios Florestais, 18 Outubro 2021.
- [14] A. Campos, F. A. Mendes, P. Guerreiro, C. C. Silva e P. Pimenta, “Há reacendimentos em Mação. Incêndio fez 12 feridos e destruiu casas,” 2019. [Online]. Available: <https://www.publico.pt/2019/07/21/sociedade/noticia/fogos-serta-dominados-chamas-lavram-macao-1880687>. [Acedido em 22 Dezembro 2021].

- [15] Presidência do Conselho de Ministros, “Decreto-Lei n.º 82/2021 de 13 de outubro,” *Diário da República, Série I de 2021-10-13*, pp. 2-47, 2021.
- [16] A. M. Guerra, J. A. Coelho e L. Elvas, *Fenomenologia da combustão e extintores* (vol. VII), Sintra: Escola Nacional de Bombeiros, 2006.
- [17] C. A. Pio, T. P. Silva e J. M. C. Pereira, “Emissões e Impacte na Atmosfera,” em *Incêndios Florestais em Portugal: Caracterização, Impactes e Prevenção*, Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, 2006, pp. 165-198.
- [18] Ministério da Agricultura e do Mar - Gabinete do Secretário de Estado das Florestas e do Desenvolvimento Rural, “Despacho n.º 7511/2014 de 9 de Junho,” *Diário da República n.º 110/2014, Série II de 2014-06-09*, pp. 15109-15118, 2014.
- [19] T. Pultarova, “The devastating wildfires of 2021 are breaking records and satellites are tracking it all,” *Space.com*, 2021. [Online]. Available: <https://www.space.com/2021-record-wildfire-season-from-space>. [Acedido em 2 Março 2022].
- [20] ICNF: Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, “Perfil Florestal de Portugal,” Lisboa, 2021.
- [21] Direcção de Unidade de Defesa da Floresta, “Relatório anual de áreas ardidas e ocorrências 2010 - 1 de Janeiro a 31 de Dezembro,” Autoridade Florestal Nacional, 2011.
- [22] ICNF: Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, “8.º Relatório provisório de incêndios rurais – 2020,” Divisão de Gestão do Programa de Fogos Rurais, ICNF – SGIF/Sistema de Gestão de Informação de Incêndios Florestais, 2020.
- [23] O. Adetona, T. E. Reinhardt, J. Domitrovich, G. Broyles, A. M. Adetona, M. T. Kleinman, R. D. Ottmar e L. P. Naeher, “Review of the health effects of wildland fire smoke on wildland firefighters and the public,” *Inhalation Toxicology*, vol. 28(3), pp. 95-139, 26 february 2016.
- [24] J. Chen, C. Li, Z. Ristovski, A. Milic, Y. Gu, M. S. Islam, S. Wang, J. Hao, H. Zhang, C. He, H. Guo, H. Fu, B. Miljevic, L. Morawska, P. Thai, Y. F. LAM, G. Pereira e D., “A review of biomass burning: Emissions and impacts on air quality, health and climate in China,” *Science of the Total Environment*, p. 1000–1034, 2016.
- [25] M. Oliveira, S. Costa, J. Vaz, A. Fernandes, K. Slezakova, C. Delerue-Matos, J. P. Teixeira, M. C. Pereira e S. Morais, “Firefighters exposure to fire emissions: Impact on levels of biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and genotoxic/oxidative effects,” *Journal of Hazardous Materials*, vol. 383, pp. 1-10, 2020.
- [26] Linde, “Conselhos de Segurança. 12–Trabalhar com dióxido de carbono CO2 .,” [Online]. Available: https://www.linde-gas.pt/pt/news_and_media/download/safety_advice/index.html. [Acedido em 3 Janeiro 2022].
- [27] L. C. Magalhães, “Estudo do material particulado atmosférico e metais associados às partículas totais em suspensão na cidade de ouro preto, MG,” Tese de Mestrado em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto - MG, 2005.
- [28] G. F. S. Brito, F. F. Sodré e F. V. Almeida, “O Impacto do Material Particulado na Qualidade do Ar,” *Revista Virtual de Química*, vol. 10(5), 2018.
- [29] WHO Regional Office for Europe, “Human biomonitoring: facts and figures,” Copenhagen, 2015.

- [30] International Agency for Research on Cancer, “IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans, Agents classified by the IARC monographs, Volumes 1-130,” World Health Organization, 2022. [Online]. Available: <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>. [Acedido em 25 Março 2022].
- [31] U.S. Department of Health and Human Services, “Toxicological Profile for Benzene,” Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia, 2007.
- [32] U.S. Department of Health and Human Services, “Toxicological Profile for Formaldehyde,” Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia, 1999.
- [33] U.S. Department of Health and Human Services, “Toxicological Profile for Acrolein,” Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia, 2007.
- [34] United States Environmental Protection Agency, “Integrated Risk Information System Assessments,” [Online]. Available: https://iris.epa.gov/AtoZ/?list_type=alpha. [Acedido em 28 Março 2022].
- [35] U.S. Department of Health and Human Services, “Toxicological Profile for Toluene,” Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia, 2017.
- [36] A. HalimHarrath, AbdulkaremAlrezaki, M. Jalouli, N. Aldawood, W. Aldahmash, L. Mansour e S. Alwasel, “Ethylbenzene exposure disrupts ovarian function in Wistar rats via altering folliculogenesis and steroidogenesis-related markers and activating autophagy and apoptosis,” *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 229, pp. 1-11, 2022.
- [37] U.S. Department of Health and Human Services, “Toxicological Profile for Ethylbenzene,” Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, Georgia, 2010.
- [38] S. T. Rajan e N. Malathi, “Health Hazards of Xylene: A Literature Review,” *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, vol. 8(2), pp. 271-274, 2014.
- [39] United States Environmental Protection Agency, “National Service Center for Environmental Publications (NSCEP),” 2020. [Online]. Available: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockkey=P100ZSJN.txt>. [Acedido em 5 Abril 2022].
- [40] B. Gautam, G. Gyanwali e D. W. Ussery, “Assessment of Bacterial Load in Polyethylene Terephthalate (PET) Bottled Water Marketed in Kathmandu Valley, Nepal,” *International Journal of Polymer Science*, vol. 2021, pp. 1-10, 2021.
- [41] United States Environmental Protection Agency, “Health Assessment Document for Acetaldehyde,” Office of Health and Environmental Assessment, Washington DC, 1987.
- [42] Chemicals Evaluation and Research Institute; National Institute of Technology and Evaluation, “Hazard Assessment Report Acetaldehyde,” New Energy and Industrial Technology Development Organization, Tokyo, Japan, 2007.
- [43] Clean Air Technology Center (MD-12); Information Transfer and Program Integration Division; Office of Air Quality Planning and Standards; U.S. Environmental Protection Agency, “Nitrogen Oxides (NO_x), Why and How They Are Controlled,” North Carolina, 1999.
- [44] World Health Organization, Air Quality Guidelines, Global Update 2005: Particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide, Copenhagen, 2006.
- [45] I. C. Pussente, “Avaliação da presença de dioxinas e PCBs no meio ambiente através de estudos de caso e a viabilidade do uso de cromatografia gasosa acoplada a

- espectrometria de massas sequencial na análise destes compostos.” Tese de Douturamento em Ciências - Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.
- [46] J. V. d. Assunção e C. R. Pesquero, “Dioxinas e furanos: origens e riscos,” *Revista de Saúde Pública*, vol. 33(5), pp. 523-530, 1999.
- [47] Ministério da Administração Interna, “Decreto-Lei n.º 248/2012 de 21 de novembro,” *Diário da República n.º 225/2012, Série I de 2012-11-21*, pp. 6678 - 6689, 2012.
- [48] Ministério da Administração Interna, “Decreto-Lei n.º 247/2007 de 27 de Junho,” *Diário da República n.º 122/2007, Série I de 2007-06-27*, pp. 4064 - 4069, 2007.
- [49] V. I. R. Veiga, “Condições de satisfação com o uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI) no combate a incêndios urbanos e florestais por bombeiros no distrito de Bragança,” Dissertação de Mestrado em Gestão das Organizações, Ramo de Gestão de Empresas, Instituto Politécnico de Bragança, 2019.
- [50] B. Barros, M. Oliveira e S. Morais, “Chapter Six - Urinary biohazard markers in firefighters,” *Advances in Clinical Chemistry*, vol. 105, pp. 243-319, 2021.
- [51] A. M. Guerra, “Segurança e proteção individual (vol. VIII),” Escola Nacional de Bombeiros, Sintra, 2006.
- [52] n.d., “Câmara Municipal de Castro Verde entrega equipamentos de proteção individual aos Bombeiros Voluntários,” Município Castro Verde, 2014. [Online]. Available: <https://www.cm-castroverde.pt/pt/noticias/1554/camara-municipal-de-castro-verde-entrega-equipamentos-de-protecao-individual-aos-bombeiros-voluntarios.aspx>. [Acedido em 30 Dezembro 2021].
- [53] B. Barros, M. Oliveira e S. Morais, “Firefighters’ occupational exposure: Contribution from biomarkers of effect to assess health risks,” *Environment International*, vol. 156, 2021.
- [54] K. W. Fent, D. E. Evans, K. Babik, C. Striley, S. Bertke, S. Kerber, D. Smith e G. P. Horn, “Airborne contaminants during controlled residential fires,” *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, vol. 15(5), pp. 399-412, 2018.
- [55] IARC, Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 92, Lyon, 2010.
- [56] H. Choi, R. Harrison, H. Komulainen e J. M. D. Saborit, “6. Polycyclic aromatic hydrocarbons,” em *WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants*, Copenhagen, World Health Organization, 2010.
- [57] K.-H. Kim, S. A. Jahan, E. Kabir e R. J. Brown, “A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects,” *Environment International*, vol. 60, pp. 71-88, 2013.
- [58] M. d. S. Albuquerque, “Análise da série temporal dos dados de Monitorização da Qualidade do Ar da LIPOR II: PCDD/F, PAH e metais,” Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Universidade de Aveiro Departamento de Ambiente e Ordenamento, 2015.
- [59] National Library of Medicine, “PubChem: Explore Chemistry,” National Center for Biotechnology Information, Maryland, USA, [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. [Acedido em 29 Março 2022].
- [60] A. d. F. Costa, “Avaliação da Contaminação Humana por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHS): 1-Hidroxipireno Urinário,” Dissertação de Mestrado

- em Saúde Pública , Centro de Estudos de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2001.
- [61] International Programme on Chemical Safety (IPCS) and World Health Organization (WHO), “Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons,” Geneva, 1998. [Online]. Available: <https://incem.org/documents/ehc/ehc/ehc202.htm>. [Acedido em 4 April 2022].
- [62] B. Maliszewska-Kordybach, “Sources, Concentrations, Fate and Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the Environment. Part A: PAHs in Air,” *Polish Journal of Environmental Studies*, vol. 8(3), pp. 131-136, 1999.
- [63] X. Li, P. Li, L. Yan, J. Chen, T. Cheng e S. Xu, “Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in fog–rain events,” *Journal of Environmental Monitoring*, vol. 13(11), pp. 2988-2993, 2011.
- [64] M. Oliveira, K. Slezakova, M. J. Alves, A. Fernandes, J. P. Teixeira, C. Delerue-Matos, M. d. C. Pereira e S. Morais, “Firefighters’ exposure biomonitoring: Impact of firefighting activities on levels of urinary monohydroxyl metabolites,” *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 219, pp. 857-866, 2016.
- [65] United States Environmental Protection Agency (USEPA), *Regional Screening Level (RSL) Composite Worker Ambient Air Table (TR=1E-06, HQ=0.1)*, 2021.
- [66] D. Delistraty, “Toxic equivalency factor approach for risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons,” *Toxicological & Environmental Chemistry*, vol. 64, pp. 81-108, 1997.
- [67] Department of Environmental Protection, “Vapor Intrusion Evaluation Guidance,” Bureau of Remediation and Waste Management, Maine, 2010.
- [68] Office of Superfund Remediation and Technology Innovation, *Risk Assessment Guidance for Superfund, Volume I: Human Health Evaluation Manual (Part F, Supplemental Guidance for Inhalation Risk Assessment)*, Washington, D.C.: Environmental Protection Agency , 2009.
- [69] M. Oliveira, K. Slezakova, C. Delerue-Matos, M. d. C. Pereira e S. Morais, “Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor and outdoor air of preschool environments (3-5 years old children),” *Environmental Pollution*, vol. 208, pp. 382-394, 2015.
- [70] M. Oliveira, K. Slezakova, A. Fernandes, J. P. Teixeira, C. Delerue-Matos, M. d. C. Pereira e S. Morais, “Occupational exposure of firefighters to polycyclic aromatic hydrocarbons in non-fire work environments,” *Science of the Total Environment*, vol. 592, pp. 277-287, 2017.
- [71] E. Sochacka-Tatara, R. Majewska, F. P. Pereira, D. Camann, J. Spengler, K. Wheelock, A. Sowa, R. Jacek, E. Mróz e A. Pac, “Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites among 3-year-old children from Krakow, Poland,” *Environmental Research*, vol. 164, pp. 212-220, 2018.
- [72] US-EPA, “Compendium of methods for the determination of air pollutants in indoor air,” Engineering-Science, Inc., Cary, EUA, 1990.
- [73] D. Castro, K. Slezakova, C. Delerue-Matos, M. d. C. Alvim-Ferraz, S. Morais e M. d. C. Pereira, “Polycyclic aromatic hydrocarbons in gas and particulate phases of indoor environments influenced by tobacco smoke: Levels, phase distributions, and health risks,” *Atmospheric Environment*, vol. 45(10), pp. 1799-1808, 2011.
- [74] D. Castro, K. Slezakova, M. T. Oliva-Teles, C. Delerue-Matos, M. C. Alvim-Ferraz, S. Morais e M. C. Pereira, “Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons

- inatmospheric particulate samples by microwave-assisted extraction and liquid chromatography,” *Journal of Separation Science*, vol. 32, pp. 501-510, 2009.
- [75] T. Chetiyankornkul, A. Toriba, T. Kameda, N. Tang e K. Hayakawa, “Simultaneous determination of urinary hydroxylated metabolites of naphthalene, fluorene, phenanthrene, fluoranthene and pyrene as multiple biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons,” *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 386, p. 712–718, 2016.
- [76] A. Kanagasabapathy e S. Kumari, Guidelines on Standard Operating Procedures for Clinical Chemistry, Regional Office for South-East Asia, New Delhi: World Health Organization, 2000, pp. 26-30.
- [77] Google, “Google Maps,” [Online]. Available: <https://www.google.com/maps/@41.508685,-7.0055301,10.31z>. [Acedido em 26 Maio 2022].
- [78] Wikipedia, “Arquivo: Distrikt Braganca in Portugal,” [Online]. Available: https://es.m.wikipedia.org/wiki/Arquivo:Distrikt_Braganca_in_Portugal.svg. [Acedido em 12 Junho 2022].
- [79] idealista, “Mapa de Bragança distrito,” [Online]. Available: https://www.idealista.pt/arrendar-lojas_ou_armazens/braganca-distrito/mapa. [Acedido em 12 Junho 2022].
- [80] J. N. Miller e J. C. Miller, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, Sixth edition, Harlow, Reino Unido: Pearson Education, 2010.
- [81] M. Oliveira, K. Slezakova, M. J. Alves, A. Fernandes, J. P. Teixeira, C. Delerue-Matos, M. d. C. Pereira e S. Morais, “Polycyclic aromatic hydrocarbons at fire stations: firefighters’ exposure monitoring and biomonitoring, and assessment of the contribution to total internal dose,” *Journal of Hazardous Materials*, vol. 323, pp. 184-194, 2017.
- [82] W. Rogula-Kozłowska, K. Bralewska, P. Rogula-Kopiec, R. Makowski, M. Majder-Łopatka, A. Łukawski, A. Brandyk e G. Majewski, “Respirable particles and polycyclic aromatic hydrocarbons at two Polish fire stations,” *Building and Environment*, vol. 184, pp. 1-11, 2020.
- [83] Saúde e Ambiente e Ação Climática, “Portaria n.º 138-G/2021, de 1 de julho,” *Diário da República n.º 126/2021, 2º Suplemento, Série I de 2021-07-01*, pp. 2-6, 2021.
- [84] World Health Organization, WHO global air quality guidelines: Particulate matter (PM_{2.5} and PM₁₀), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide, Geneva, 2021.
- [85] L. B. Salam, O. S. Obayorib, M. O. Iloric e O. O. Amundc, “Acenaphthene biodegradation and structural and functional metagenomics of the microbial community of an acenaphthene-enriched animal charcoal polluted soil,” *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 32, pp. 1-16, 2021.
- [86] PubChem, “PubChem Acenaphthene (Compound),” 2022. [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acenaphthene#section=Environmental-Fate-Exposure-Summary>. [Acedido em 2 Junho 2022].
- [87] PubChem, “PubChem Fluorene (Annotation),” 2017. [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/2165#section=Environmental-Fate-Exposure-Summary>. [Acedido em 2 Junho 2022].

- [88] K.-H. Kim, S. A. Jahan, E. Kabir e R. J. Brown, “A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects,” *Environment International*, vol. 60, pp. 71-80, 2013.
- [89] Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território, “Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro,” *Diário da República n.º 186/2010, Série I de 2010-09-23*, pp. 4177-4205, 2012.
- [90] R. Kumar, M. O. Shaikh e C.-H. Chuang, “A review of recent advances in non-enzymatic electrochemical creatinine biosensing,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 1183, pp. 1-29, 23 Outubro 2021.
- [91] D. B. Barr, L. C. Wilder, S. P. Caudill, A. J. Gonzalez, L. L. Needham e J. L. Pirkle, “Urinary Creatinine Concentrations in the U.S. Population: Implications for Urinary Biologic Monitoring Measurements,” *Environmental Health Perspectives*, vol. 113(2), pp. 192-200, 2005.
- [92] Y. Yamano, K. Hara, M. Ichiba, T. Hanaoka, G. Pan e T. Nakadate, “Urinary 1-hydroxypyrene as a comprehensive carcinogenic biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a cross-sectional study of coke oven workers in China,” *International Archives of Occupational and Environmental Health*, vol. 87, p. 705–713, 2013.
- [93] M. Oliveira, K. Slezakova, C. P. Magalhães, A. Fernandes, J. P. Teixeira, C. Delerue-Matos, M. d. C. Pereira e S. Morais, “Individual and cumulative impacts of fire emissions and tobacco consumption on wildland firefighters’ total exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons,” *Journal of Hazardous Materials*, vol. 334, pp. 10-20, 2017.
- [94] O. Adetona, C. D. Simpson, Z. Li, A. Sjodin, A. M. Calafat e L. P. Naeher, “Hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons as biomarkers of exposure to wood smoke in wildland firefighters,” *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, vol. 27(1), p. 78–83, 2017.

Anexos

Anexo A: Soluções padrão dos PAH e dos OH-PAH

Os PAH foram quantificados no ar pessoal dos bombeiros através de HPLC com deteção por fluorescência e fotodíodos em série. Para esse efeito foram preparadas soluções padrões mistas dos 18 PAH com as concentrações apresentadas na tabela A.1.

Tabela A.1: Concentração dos PAH das soluções padrão P1 a P9. C_{PAH} : concentração do PAH ($\mu\text{g/L}$).

PAH	C_{PAH} ($\mu\text{g/L}$)								
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
Nap	1,300	2,520	5,010	12,55	25,07	50,15	75,22	100,3	150,5
Acy	74,38	100,8	149,6	172,7	197,7	299,7	401,7	499,7	600,0
Ace	1,300	2,520	5,010	12,55	25,07	50,15	75,22	100,0	150,5
Flu	0,2600	0,5500	0,9900	2,480	4,950	9,890	14,84	19,79	29,68
Phe	0,1300	0,2500	0,5000	1,250	2,500	5,000	7,510	10,01	15,01
Ant	0,1300	0,2500	0,5000	1,250	2,500	5,010	7,510	10,02	15,03
Fln	0,2600	0,5000	0,9900	2,470	4,930	9,860	14,80	19,73	29,59
Pyr	0,1300	0,2400	0,4800	1,210	2,420	4,840	7,270	9,690	14,53
B(a)A	0,1300	0,2500	0,4900	1,230	2,460	4,920	7,380	9,840	14,76
Chry	0,1300	0,2500	0,5000	1,240	2,480	4,950	7,430	9,910	14,86
B(b)F + B(j)F	1,000	2,000	5,010	10,02	20,04	30,06	40,08	60,12	80,16
B(k)F	0,2500	0,5000	1,250	2,490	4,990	7,480	9,980	14,97	19,96
B(a)P	0,2500	0,5000	1,250	2,510	5,010	7,520	10,03	15,04	20,06
D(a,l)P	0,2600	0,5000	1,000	2,500	5,000	10,00	15,00	20,00	30,00
B(g,h,i)P	0,2600	0,5000	0,9900	2,490	4,970	9,950	14,92	19,90	29,85
D(a,h)A	0,2600	0,5000	1,000	2,50	5,000	10,00	15,00	20,00	30,00
InP	0,1300	0,2500	0,5000	1,260	2,510	5,020	7,530	10,04	15,06

As concentrações das soluções padrão mistas dos OH-PAH são apresentadas na tabela A.2.

Tabela A.2: Concentração dos OH-PAH das soluções padrão P1 a P9. C_{OH-PAH} : concentração do OH-PAH ($\mu\text{g/L}$).

OH-PAH	C_{OH-PAH} ($\mu\text{g/L}$)								
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
1-OH-Nap + 1-OH-Ace	6,04	8,08	10,10	20,20	40,40	60,60	80,80	101,0	121,2
2-OH-Flu	0,0400	0,0600	0,0800	0,1000	0,2000	0,3000	0,4000	0,5000	0,6000
1-OH-Phe	0,0400	0,0600	0,0800	0,1000	0,2000	0,3000	0,4000	0,5000	0,6000
1-OH-Pyr	0,0400	0,0600	0,0800	0,1000	0,2000	0,3000	0,4000	0,5000	0,6000
3-OH-B(a)P	0,0400	0,0600	0,0800	0,1000	0,2000	0,3000	0,4000	0,5000	0,6000

Anexo B: Calibração dos PAH e dos OH-PAH

As equações das curvas de calibração dos PAH, os respetivos parâmetros, nomeadamente o LOD, o LOQ e o coeficiente de determinação, e os tempos de retenção de cada PAH são apresentados na tabela B.1.

Tabela B.1: Resumo da calibração dos PAH. Nap: naftaleno; Acy: Acenaftileno; Ace: acenafteno; Flu: fluoreno; Phe: fenantreno; Ant: antraceno; Pyr: pireno; B(a)A: Benz(a)antraceno; Chry: criseno; B(b)F + B(j)F: Benzo(b)fluoranteno e Benzo(j)fluoranteno; B(k)F: Benzo(k)fluoranteno; B(a)P: Benzo(a)pireno; D(a,l)P: Dibenz(a,l)pireno; D(a,h)A: dibenz(a,h)antraceno; B(g,h,i)P: Benzo(g,h,i)perileno; InP: Indeno(1,2,3-cd)pireno. tr: Tempo de retenção (min); r²: coeficiente de determinação; LOD: Limite de deteção (µg/L); LOQ: Limite de quantificação (µg/L); C: Concentração (µg/L); A: Área do pico.

PAH	t _R (min)	Gama de linearidade (µg/L)	Curva de calibração	r ²	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
Nap	9,6	1,300 - 75,22	A = 20298×C - 4878	0,9998	1,3	4,3
Acy	10,9	74,38 - 401,7	A = 417×C - 18194	0,9964	24,8	82,6
Ace	12,5	1,300 - 25,07	A = 32894×C + 150100	0,9996	0,73	2,4
Flu	12,8	0,2600 - 14,84	A = 542268×C + 208986	0,9999	0,19	0,61
Phe	13,8	0,1300 - 2,500	A = 133929×C + 22778	0,9997	0,080	0,27
Ant	14,9	0,2500 - 7,510	A = 73989×C + 1172	0,9997	0,23	0,78
Fln	15,8	0,2600 - 2,470	A = 39846×C + 6512	0,9993	0,095	0,32
Pyr	16,6	0,4800 - 9,690	A = 43175×C - 1187	0,9998	0,17	0,57
B(a)A	19,0	0,1300 - 2,460	A = 86298×C + 8573	0,9995	0,088	0,29
Chry	19,7	0,5000 - 7,430	A = 12269×C + 710	0,9992	0,27	0,91
B(b)F + B(j)F	21,4	5,010 - 30,06	A = 69605×C + 29806	0,9999	0,38	1,3
B(k)F	22,3	1,250 - 14,97	A = 329689×C - 17747	0,9993	0,46	1,5
B(a)P	23,2	0,2500 - 7,520	A = 408942×C + 49737	0,9999	0,077	0,26
D(a,l)P	23,7	0,2600 - 20,00	A = 61172×C + 10604	0,9999	0,079	0,27
D(a,h)A	24,6	5,000 - 30,00	A = 1928×C + 1104	0,9970	2,1	6,9
B(g,h,i)P	25,7	2,600 - 29,85	A = 19051×C - 6030	0,9994	1,1	3,8
InP	26,8	1,260 - 10,04	A = 17775×C + 3309	0,9988	0,44	1,5

Na figura B.1 encontra-se um cromatograma exemplo, referente à solução padrão 7, com os picos identificados.

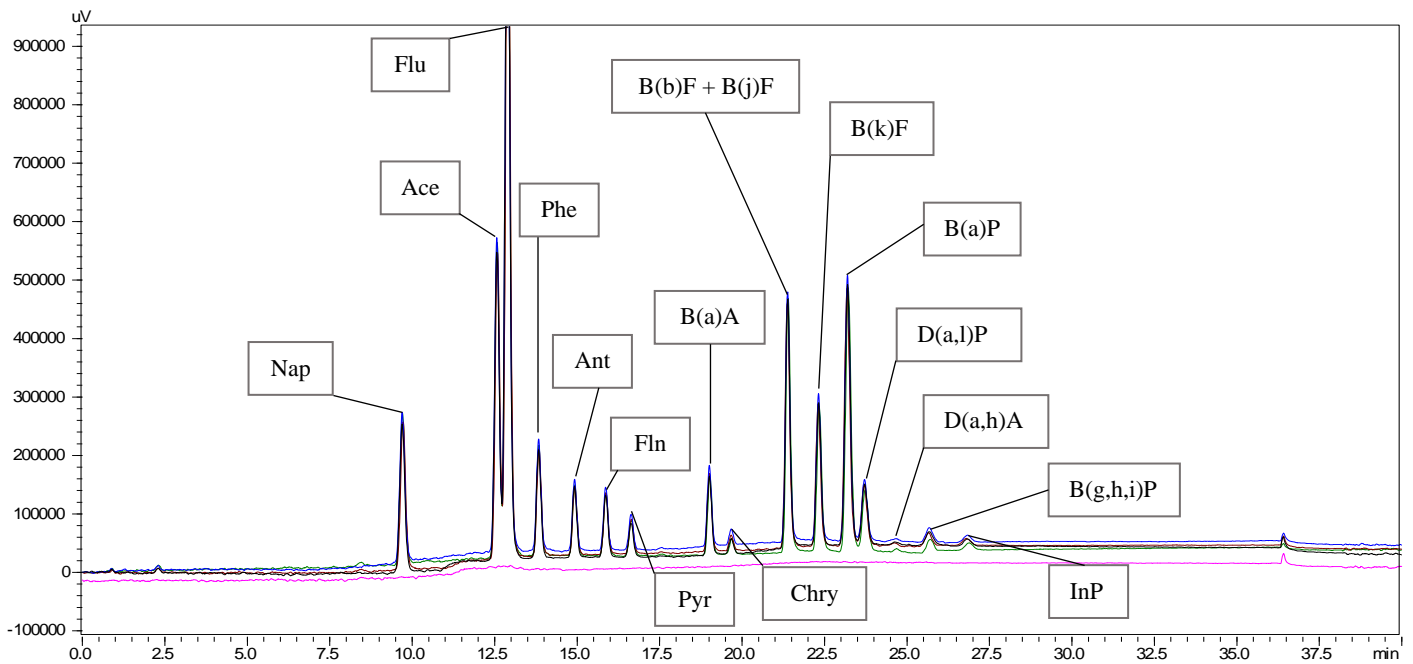


Figura B.1: Cromatograma das réplicas da solução padrão 7 e o branco (rosa) com os PAH identificados. Nap: naftaleno; Acy: Acenaftileno; Ace: acenafteno; Flu: fluoreno; Phe: fenantreno; Ant: antraceno; Fln: Fluranteno; Pyr: pireno; B(a)A: Benz(a)antraceno; Chry: criseno; B(b)F + B(j)F: Benzo(b)fluoranteno e Benzo(j)fluoranteno; B(k)F: Benzo(k)fluoranteno; B(a)P: Benzo(a)pireno; D(a,l)P: Dibenz(a,l)pireno; D(a,h)A: dibenz(a,h)antraceno; B(g,h,i)P: Benzo(g,h,i)perileno; InP: Indeno(1,2,3-cd)pireno.

Na tabela B.2 estão presentes as equações das curvas de calibração dos OH-PAH, assim como os respetivos parâmetros e os tempos de retenção de cada OH-PAH.

Tabela B.2: Resumo da calibração dos PAH. 1-OH-Nap + 1-OH-Ace: 1-hidroxinaftaleno e 1-hidroxiacenafteno; 2-OH-Flu: 2-hidroxifluoreno; 1-OH-Phe: 1-hidroxifenantreno; 1-OH-Pyr: 1-hidroxipireno; t_R : Tempo de retenção (min); r^2 : coeficiente de determinação; LOD: Limite de deteção ($\mu\text{g/L}$); LOQ: Limite de quantificação ($\mu\text{g/L}$); C: Concentração ($\mu\text{g/L}$); A: Área do pico.

PAH	t_R (min)	Gama de trabalho ($\mu\text{g/L}$)	Curva de calibração	r^2	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
1-OH-Nap + 1-OH-Ace	5,8	10,10-121,2	$A = 3718 \times C - 23800$	0,9986	5,50	18,3
2-OH-Flu	7,8	0,1000-0,6000	$A = 794987 \times C + 2783$	0,9948	0,048	0,16
1-OH-Phe	9,6	0,1000-0,6000	$A = 490390 \times C - 3179$	0,9953	0,046	0,15
1-OH-Pyr	14,4	0,2000-0,6000	$A = 1155823 \times C - 7706$	0,9993	0,015	0,049
1-OH-B(a)P	21,5	0,0400-0,6000	$A = 1462714 \times C - 5422$	0,9989	0,022	0,075

De modo análogo ao apresentado para os PAH, na figura B.2 encontra-se um cromatograma exemplo da solução padrão 7 dos OH-PAH, com os picos identificados.

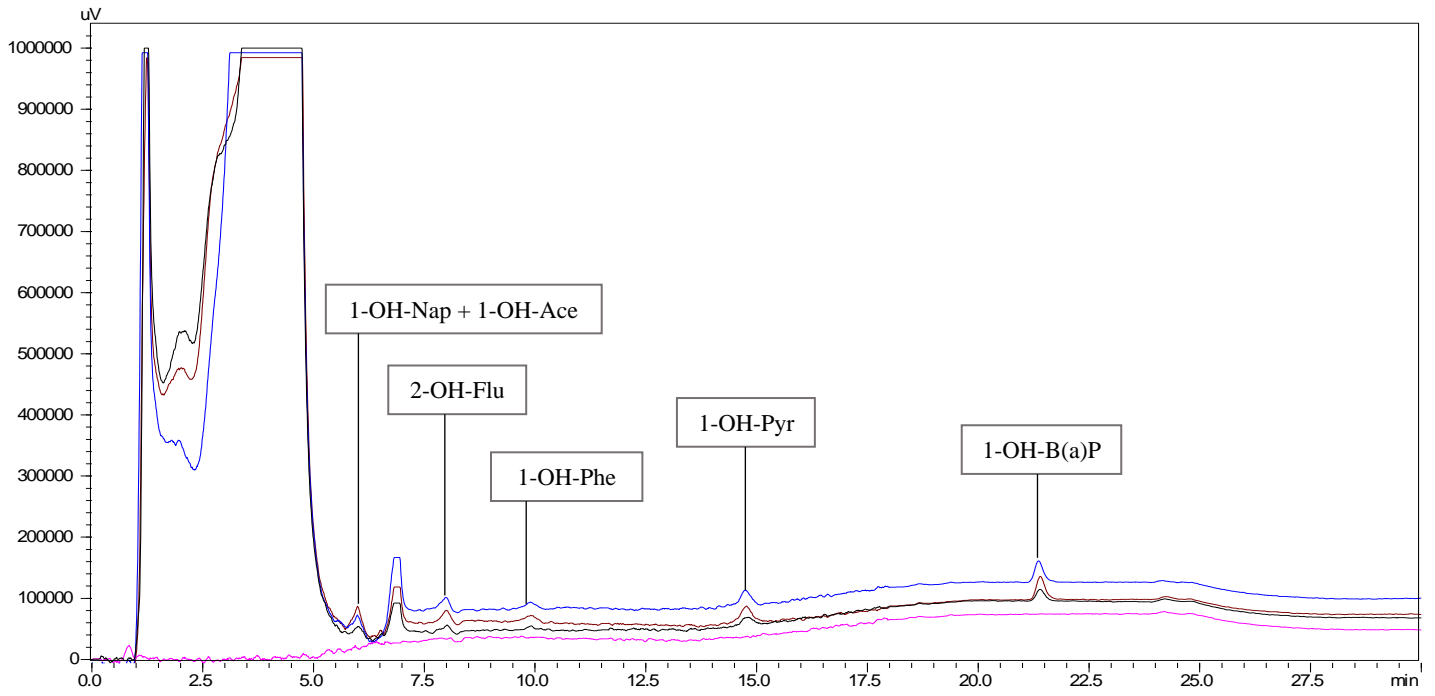


Figura B.2: Cromatograma das réplicas da solução padrão 7 e o branco (rosa) com os OH-PAH identificados. 1-OH-Nap + 1-OH-Ace: 1-hidroxinaftaleno e 1-hidroxiacenafteno; 2-OH-Flu: 2-hidroxi fluoreno; 1-OH-Phe: 1-hidroxifenantreno; 1-OH-Pyr: 1-hidroxipireno.