

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

DANIELA SANCHES DE ALMEIDA

**ESTUDO DA EXPOSIÇÃO PESSOAL AO MATERIAL PARTICULADO
ATMOSFÉRICO EM LONDRINA**

**LONDRINA
2016**

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

DANIELA SANCHES DE ALMEIDA

**ESTUDO DA EXPOSIÇÃO PESSOAL AO MATERIAL PARTICULADO
ATMOSFÉRICO EM LONDRINA**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana/Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr^a Leila D. Martins
Coorientadora: Prof. Dr^a Graciana F. Palioto

**LONDRINA
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

A447e Almeida, Daniela Sanches

Estudo da exposição pessoal ao material particulado atmosférico em
Londrina / Daniela Sanches de Almeida. – Londrina: [s.n.], 2016.
83 f.: il.; 30 cm.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Leila Droprinchinski Martins

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Graciana F. Palioto

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Londrina, 2016.
Bibliografia: f. 66-72.

1. Ar - Poluição. 2. Poluentes. 3. Toxicologia Ambiental - Londrina. I.
Martins, Leila Droprinchinski, orient. II. Palioto, Graciana F., coorient III.
Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-
Graduação em Engenharia Ambiental. V. Título.

CDD: 628



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pró-reitora de Pesquisa e Pós Graduação
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Campus Apucarana/Londrina



TERMO DE APROVAÇÃO

ESTUDO DA EXPOSIÇÃO PESSOAL AO MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO EM LONDRINA

por

Daniela Sanches de Almeida

Dissertação de mestrado apresentada no dia 26 de fevereiro de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr^a Leila Droprinchinski Martins
(UTFPR)

Prof. Dr Marcos Ribeiro
(UEL)

Prof. Dr Rodrigo Arantes Reis
(UFPR)

Prof. Dr Edson Fontes de Oliveira
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental

À minha mãe, que mesmo não estando mais aqui
sempre me incentivou e acreditou em mim.

AGRADECIMENTOS

À minha família, que sempre me apoiou, me amou e ajudou em todos os momentos da minha vida, em especial vó, vô, Isabela e tia Lu.

À minha orientadora, Professora Dra. Leila D. Martins, por me guiar e ajudar da melhor maneira possível a realizar este trabalho, pelo conhecimento transmitido e pela confiança em mim depositada.

À Professora Dra. Graciana F. Palioto, minha coorientadora, pelo apoio e ajuda.

Ao professor Jorge A. Martins, por corroborar sempre com o meu amadurecimento dentro do programa.

Ao Rudnei, pela paciência e amor nos dias mais difíceis, amizade e companheirismo.

A todos os colegas do Laboratório de Análises em Poluição do Ar (LAPAR) e Laboratório de Eventos Atmosféricos Extremos (EAE), pela amizade e ajuda nas amostragens.

Aos meus amigos de Apucarana e Londrina, que sempre me proporcionaram momentos de diversão e carinho, momentos muito importantes para que este trabalho fosse realizado.

Ao Professor Dr. Silvano Cesar da Costa, do Departamento de Estatística da Universidade Estadual de Londrina, pelos ensinamentos e ajuda nas análises.

Ao INMET - Instituto Nacional de Meteorologia, por disponibilizar dados necessários para a realização do trabalho.

Ao LACA - Laboratório de Análise Cromatográficas e Ambientais, na Universidade Estadual de Londrina, por ceder alguns equipamentos necessários para a realização do trabalho.

Ao COMCAP - Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa na Universidade Estadual de Maringá, por permitir o uso de um equipamento necessário para a realização do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro no decorrer do mestrado.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para que este trabalho fosse concretizado.

RESUMO

ALMEIDA, D.S. de. **Estudo da exposição pessoal ao material particulado atmosférico em Londrina**. 2016. 83 p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA), Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2016.

A exposição humana a poluentes atmosféricos causam efeitos adversos à saúde. As áreas urbanas com alta densidade populacional e fluxos de veículos elevados são regiões críticas. Os poluentes do ar são onipresentes, e certo nível de exposição é inevitável, variável e dependente de uma série de fatores ambientais e individuais de cada um. O presente trabalho visou medir e avaliar a exposição pessoal ao material particulado atmosférico por indivíduos da cidade de Londrina em um estudo com 30 voluntários de 6 classes de ocupação. Utilizando monitores pessoais de concentração de material particulado atmosférico foram medidas as concentrações em massa e número de partículas no ar inalado. Células bucais dos voluntários foram coletadas antes e após a exposição para a determinação da genotoxicidade pelo teste do cometa. Foram realizadas campanhas de amostragem no inverno, em rotas georreferenciadas que variaram de acordo com a rotina de cada indivíduo. A partir das concentrações medidas, tempo de exposição e massa corporal foram calculadas as doses recebidas individualmente. As concentrações em massa (média de 8 h) encontradas para os voluntários variaram de 2,41 a 34,07 $\mu\text{g m}^{-3}$ para $\text{MP}_{1,0}$ e de 23,11 a 11060,54 $\mu\text{g m}^{-3}$ para o MP_{10} . As concentrações em número de partículas encontradas variaram de 14 a 183 partículas cm^{-3} para o $\text{MP}_{0,3}$; para o $\text{MP}_{2,5}$ elas variaram de 0,20 a 27 partículas cm^{-3} . A categoria Construção e Indústria apresentou as doses recebidas mais elevadas, enquanto o setor Administrativo apresentou as menores. Através do teste de Kruskal-Wallis foi verificado que há diferença significativa de danos no DNA nas classes Comércio, Construção e Indústria e Transporte, quando comparadas ao controle (classe Administrativo). O modelo que melhor se adequou aos dados foi o Binomial Negativo, indicando associação positiva, principalmente das classes de ocupação e número de partículas com os danos ao DNA das células bucais. Os resultados da simulação de deposição pulmonar a partir das concentrações obtidas na amostragem indicaram que nos voluntários onde o diâmetro predominante das partículas era menor, a fração depositada no pulmão foi maior, embora a concentração em massa fosse maior. Os resultados obtidos evidenciam a relevância do tamanho das partículas e composição química nos efeitos à saúde, a importância de medidas de exposição pessoal para estudos epidemiológicos em saúde e a viabilidade deste tipo de amostragem pessoal, porém para resultados mais significativos é recomendável a ampliação deste estudo.

Palavras-chave: Poluição do ar, avaliação de exposição, material particulado fino, saúde humana, genotoxicidade.

ABSTRACT

ALMEIDA, D.S. de. **Study of personal exposure to airborne particulate matter at Londrina**. 2016. 83 p. Dissertation (Master degree). Environmental Engineering Master Program (PPGEA), campus Apucarana/Londrina, Federal University of Technology - Paraná. Londrina, 2016.

The exposure to air pollutants in humans causes damage effects on health. Urban areas with high population density and high vehicular flows are critical regions. Air pollutants are omnipresent, and some level of exposure is inevitable, variable and dependent on a number of environmental and individual factors of each. This work aimed to measure and assess personal exposure to airborne particulate matter by individuals in Londrina with 30 voluntaries from 6 occupation classes. Using personal monitors the concentration of airborne particulate matter concentrations were measured in mass and number of particles in the inhaled air. Buccal cells of the volunteers were collected before and after exposure to the determination of genotoxicity by Comet assay. Sampling campaigns were carried out in winter with georeferenced routes that varied according to the routine of each individual. From concentrations measured, time of exposure and body weight the received doses were calculated individually. The mass concentrations (average of 8 hours) found in the volunteers ranged from 2.41 to 34.07 $\mu\text{g m}^{-3}$ for $\text{MP}_{1,0}$ and 23.11 to 11060.54 $\mu\text{g m}^{-3}$ for PM_{10} . The concentrations in number of particles found varied from 14 to 183 particles cm^{-3} to $\text{MP}_{0,3}$; for $\text{PM}_{2,5}$ they varied from 0.20 to 27 particles cm^{-3} . Construction and Industry category showed the highest doses, while the administrative sector had the lowest. Using the Kruskal-Wallis test was found a significant difference of DNA damage in classes Trade, Construction and Industry and Transportation, when these were compared with the control group (Administrative class). The model best suited to the data was the Negative Binomial, indicating positive association, mainly of the occupation class, number of particles with damage to DNA from buccal cells. The results of the lung deposition simulation from the concentrations obtained in the sample show that in volunteers where the predominant particle diameter was smaller, the fraction deposited in the lungs was higher, although the bulk concentration was higher. The results show the importance of particle size and chemical composition on the health effects, the importance of personal exposure measurements for epidemiological studies on health and the feasibility of this type of personal sampling, but for more significant results it is recommended the magnification of this study.

Keywords: Air pollution, exposure assessment, fine particulate matter, human health, genotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Deposição das partículas de diferentes tamanhos no sistema respiratório humano. Fonte: Adaptado de Kim et al (2015)	16
Figura 2: Distribuição da população ocupada segundo as atividades econômicas para a cidade de Londrina. Fonte: Adaptado de IPARDES, 2015.....	20
Figura 3: Distribuição da população por idade e sexo para a cidade de Londrina. Fonte: Adaptado de IPARDES, 2015.	20
Figura 4: Mochila e os equipamentos utilizados na amostragem pessoal de material particulado.	26
Figura 5: Rota percorrida pelo voluntário V8, representante do setor Administrativo e as concentrações de $MP_{2,5}$ em $\mu g m^{-3}$	37
Figura 6: Rota percorrida pelo voluntário V13, representante do setor Serviços Gerais e as concentrações de $MP_{2,5}$ em $\mu g m^{-3}$	38
Figura 7: Rota percorrida pelo voluntário V27, representante do setor Transporte e as concentrações de $MP_{2,5}$ em $\mu g m^{-3}$	39
Figura 8: Rota percorrida pelo voluntário V16, representante do setor Educação e as concentrações de $MP_{2,5}$ em $\mu g m^{-3}$	40
Figura 9: Rota percorrida pelo voluntário V29, representante do setor Comércio e as concentrações de $MP_{2,5}$ em $\mu g m^{-3}$	41
Figura 10: Rota percorrida pelo voluntário V17, representante do setor Indústria e as concentrações de $MP_{2,5}$ em $\mu g m^{-3}$	42
Figura 11: Concentração em número de partículas do voluntário com maior número de partículas; I: em casa; II:se deslocando para o trabalho e III: no trabalho.	44
Figura 12: Concentração em número de partículas do voluntário com menor número de partículas pequenas; I: em casa; II:se deslocando para o trabalho e III: no trabalho.	45
Figura 13: <i>Boxplot</i> mostrando as doses recebidas calculadas distribuídas nas classes de ocupações.....	47
Figura 14: <i>Boxplot</i> mostrando as doses recebidas calculadas distribuídas nas classes de ocupações, retirando os 2 pontos que extrapolavam os valores médios.....	47
Figura 15: <i>Boxplot</i> com a ocorrência da frequência de danos no DNA em cada classe de ocupação, no momento antes.....	48

Figura 16: <i>Boxplot</i> com o índice de danos no DNA em cada classe de ocupação, no momento antes.....	49
Figura 17: <i>Boxplot</i> com a ocorrência da frequência de danos no DNA em cada classe de ocupação, no momento depois.....	50
Figura 18: <i>Boxplot</i> com o índice de danos no DNA em cada classe de ocupação, no momento depois.....	50
Figura 19: Comparação da Frequência de Dano em células de mucosa bucal de humanos expostos à material particulado atmosférico por 8 horas. A linha tracejada vermelha indica o limiar da diferença crítica calculado no teste Kruskal-Wallis.....	51
Figura 20: <i>Half normal plot</i> referente ao modelo ajustado aos dados do momento A com o uso da distribuição de Poisson.	54
Figura 21: <i>Half normal plot</i> referente ao modelo ajustado aos dados do momento D com o uso da distribuição Binomial Negativa.	55
Figura 22: <i>Half normal plot</i> referente ao modelo ajustado aos dados do momento A com o uso da distribuição de Poisson.	56
Figura 23: <i>Half normal plot</i> referente ao modelo ajustado aos dados do momento D com o uso da distribuição de Binomial Negativa	57
Figura 24: Deposição pulmonar para o voluntário com exposição mínima (V16). TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.	59
Figura 25: Deposição pulmonar para o voluntário com exposição média (V6). TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.	60
Figura 26: Deposição pulmonar para o voluntário com exposição máxima (V17). TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.	60
Figura 27: Deposição pulmonar para concentração média em massa de MP _{2,5} . TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.	61
Figura 28: Deposição pulmonar para concentração média em massa de MP ₁₀ . TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição da frota veicular da cidade de Londrina para o ano de 2014. Fonte: DENATRAN, 2015	19
Tabela 2: Relação de voluntários amostrados por categoria.	23
Tabela 3: Concentrações de material particulado utilizadas no modelo MPPD.....	34
Tabela 4: Parâmetros utilizados no modelo MPPD.....	34
Tabela 5: Concentração média em massa de material particulado para cada classe de ocupação.	36
Tabela 6: Concentração média em número de partículas para cada classe de ocupação.	36
Tabela 7: Concentrações medidas de exposição pessoal.....	43
Tabela 8: Análise descritiva das variáveis numéricas.	52
Tabela 9: Matriz de correlação entre as variáveis.	53
Tabela 10: Valores de AIC para os modelos de regressão.	56
Tabela 11: Valores de AIC para os modelos de regressão.	57
Tabela 12: Valores do coeficiente β (beta) calculados para os modelos que apresentaram melhor ajuste.	58

LISTA DE ABREVIATURAS

- AIC – *Akaike Information Criterion* (Critério de Informação de Akaike)
- CO – Monóxido de Carbono
- COMCAP – Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa
- DENATRAN – Departamento Nacional de Transito
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- DNA – Ácido Desoxirribonucléico
- EDTA – Ácido Etilenodiaminotetracético
- FD – Frequência de Danos
- HC – Hidrocarbonetos
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ID – Índice de Danos
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia
- IPARDES – Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social
- LACA – Laboratório de Análises Cromatográficas e Ambientais
- LENAD – Levantamento Nacional de Álcool de Drogas
- MLG – Modelos Lineares Generalizados
- MP – Material Particulado Atmosférico
- MP₁₀ – Material Particulado 10 µm
- MP_{2,5} – Material Particulado 2,5 µm
- MPPD – *Multiple Path Particle Dosimetry* (Dosimetria de Partículas com Múltiplos Caminhos)
- NaCl – Cloreto de Sódio
- NaOH – Hidróxido de Sódio
- NO_x – Óxidos de Nitrogênio
- PTS – Partículas Totais em Suspensão
- RPM – Rotações por Minuto
- SO_x – Óxidos de Enxofre
- TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- TRIS – Tris(hidroximetil)aminometano
- UNIFES – Universidade Federal de São Paulo
- UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 O material particulado e a saúde	13
1.2 Amostragem pessoal de poluentes atmosféricos.....	16
1.3 Genotoxicidade	17
1.4 Análise de Regressão	18
1.5 Londrina.....	18
2. OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral.....	22
2.2 Objetivos específicos	22
3. METODOLOGIA.....	23
3.1 Seleção de voluntários	23
3.2 Amostragem de material particulado	24
3.2.1 Amostragem pessoal.....	24
3.2.2 Amostragem ambiental.....	26
3.3 Determinação da genotoxicidade – Teste do Cometa.....	28
Preparo da solução celular	29
3.3.1 Preparo das lâminas com amostra	29
3.3.2 Eletroforese.....	30
3.3.3 Coloração.....	30
3.3.4 Análise microscópica.....	30
3.4 Análise da Exposição e Dose recebida	31
3.5 Análise Estatística.....	32
3.5.1 Análise Estatística Descritiva	32
3.5.2 Análise de Regressão.....	32
3.6 Modelo de Deposição Pulmonar	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	35
4.1 Amostragem ambiental	35
4.2 Exposição pessoal ao material particulado	35
4.2.1. Número de partículas.....	43
4.2.2 Dose Recebida	46
4.3 Genotoxicidade	48
4.4 Genotoxicidade e exposição ao material particulado	52
4.4.1 Análise Descritiva.....	52
4.4.2 Análise de Regressão.....	53

4.5	Modelo de deposição pulmonar	59
4.6	Comentários Gerais.....	62
5.	CONCLUSÕES.....	64
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
	APÊNDICE I.....	73
	APÊNDICE II	77
	APÊNDICE III.....	80
	APÊNDICE IV	81

1. INTRODUÇÃO

O crescimento descontrolado da população e conseqüentemente das áreas urbanas tem exigido grandes demandas de energia e produção dos mais diversos produtos, atualmente considerados necessários para a sobrevivência do homem. Como consequência disso, um maior número de poluentes está sendo gerado em todo o planeta, causando danos aos materiais, à fauna, flora e também à saúde das pessoas.

Muitos estudos atualmente têm relacionando a poluição do ar a danos causados à saúde humana, pois a poluição atmosférica compromete a qualidade de vida e o bem-estar da população (ARBEX, et al., 2011; COELHO e SALDIVA, 2011; KAMPA e CASTANAS, 2008; POPE III, et al., 2002; BERNSTEIN, et al., 2004).

Estudos epidemiológicos mostraram consistentes efeitos agudos adversos à saúde devido à poluição do ar e, em particular, à poluição gerada pela atividade veicular ao sistema respiratório humano (ARBEX et al., 2011). A exposição à poluição do ar é determinada pela concentração de poluentes no ar ambiente onde as pessoas permanecem e o tempo de permanência. A determinação da exposição total pode ser essencial para a avaliação dos efeitos à saúde (WHO, 2006).

As metodologias de amostragem estão evoluindo gradativamente com objetivo de melhorar a eficácia dos dados obtidos. Os amostradores pessoais de poluentes atmosféricos atualmente estão sendo amplamente empregados em todo o mundo (WALLACE et al., 1985; OZKAYNAK et al, 1996; WILLIANS et al., 2000; GULLIVER e BRIGGS, 2004; VLIET et al., 2013; SPINAZZE et al., 2015).

1.1 O material particulado e a saúde

Poluentes afetam cada grupo de indivíduos diferentemente. A saúde depende não só de fatores ambientais, mas também de fatores variados, tais como: hereditários, nutricionais e econômicos (COELHO et al., 2010). As populações suscetíveis incluem crianças, idosos e imunocomprometidos (indivíduos com predisposição a infecções).

A explicação mais consistente para os efeitos adversos dos poluentes aéreos é que as altas concentrações de poluentes, quando em contato com o epitélio respiratório, provocam a formação de radicais livres de oxigênio e de nitrogênio que, por sua vez, induzem o estresse oxidativo nas vias aéreas (ARBEX et al., 2012).

A presença, por exemplo de metais de transição no material particulado (MP), especialmente o ferro, aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio em seres vivos. MP de origem antrópica pode ter um alto impacto em doenças pulmonares e cardiovasculares sistêmicas, devido ao seu grande potencial de induzir a produção de citosinas pró-inflamatórias (KIM et al., 2015).

Devido à grande área de contato entre a superfície do sistema respiratório e o meio ambiente, a poluição atmosférica interfere diretamente na saúde respiratória (POPE III et al., 1991; ARBEX et al., 2012). Partículas do ar inaladas são depositadas seletivamente em todo o trato respiratório de acordo com seus tamanhos. Fontes de evidências mostraram que partículas inaláveis provocam consequências adversas no pulmão e em outros órgãos (BROWN et al., 1950; REIBMAN et al., 2003; WHO, 2006; NING et al., 2008). De modo geral, aerossóis são partículas de tamanho muito pequeno (até cerca de 100 μm) suspensas no ar com alta mobilidade.

O material particulado atmosférico pode apresentar inúmeras substâncias químicas, como ácidos, nitratos, sulfatos, compostos orgânicos, silicatos e óxidos metálicos em sua composição. Além da saúde podem afetar a visibilidade, clima, causar danos a materiais, fauna e flora (OSTRO e CHATNUT, 1998; HARRISON e YIN, 2000; DONALDSON et al., 2002; COELHO e SALDIVA, 2011).

O tamanho das partículas está diretamente relacionado ao potencial dano à saúde que elas podem causar. Partículas menores que 2,5 μm , também conhecidas como respiráveis, são as mais preocupantes, pois conseguem passar pelo nariz e garganta, alcançando os pulmões. Uma vez dentro do corpo, podem causar problemas, por exemplo, cardíacos e respiratórios. As Partículas Totais em Suspensão (PTS) apresentam diâmetro menor que 50 μm . Parte destas partículas são inaláveis e a outra parte afeta a qualidade de vida, interferindo nas condições estéticas do ambiente e materiais. Classicamente, as Partículas Inaláveis (MP_{10}) são as partículas menores que 10 μm , as quais se dividem em:

- Partículas Finas $\text{MP}_{2,5}$ (<2,5 μm): encontradas em fumaça, fumos e neblina. São emitidas diretamente por queima de combustíveis fósseis, processos industriais, usinas termoelétricas, queima de biomassa, etc.
- Partículas Grossas (2,5 a 10 μm): são encontradas em construções, próximo de estradas e solo exposto. Ficam retidas na parte superior do sistema respiratório (ARBEX, et al., 2012).

Os aerossóis são originados a partir da desintegração de partículas maiores (poeiras de moagem de carvão, gotículas de torres de resfriamento, *spray* marinho, suspensão de material do solo) e por processos industriais e de combustão. Há também formação por meio de reações químicas, através das quais ocorre a conversão de gases em partículas de aerossóis em um processo conhecido como conversão gás-partícula. A emissão direta por atividades naturais e antrópicas e o processo de conversão gás-partícula são os responsáveis pela inserção de novas partículas na atmosfera. Na atmosfera, os aerossóis podem sofrer vários processos químicos e físicos, alterando seu tamanho, forma e composição química (COLBECK, 2008).

As principais fontes de emissões antrópicas são a atividade veicular incluindo as emissões do tubo de escapamento veicular, que contribuem para a formação de material particulado fino, e emissões devido ao uso e desgaste de peças dos veículos, como freio, pneus e embreagem, e ressuspensão de poeira do solo, que contribuem para a parcela de particulado grosso (PANT et al., 2013). Os processos industriais (siderurgia, metalurgia, fabricação de fertilizantes, produtos químicos), de extração de minerais, de geração de energia (termelétricas, refinarias), agricultura e queima de biomassa são fontes fixas antrópicas relevantes de material particulado atmosférico, e que conseqüentemente apresenta uma composição química complexa.

Em regiões populosas, o problema da poluição do ar tem se constituído numa das mais graves ameaças à qualidade de vida de seus habitantes. As emissões causadas por veículos são constituídas de diversas substâncias tóxicas. Essas emissões são compostas de gases como: monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrogênio (NO_x), hidrocarbonetos (HC), óxidos de enxofre (SO_x), material particulado (MP), etc. (CETESB).

Pope III et al. (2009) utilizaram modelos de regressão para avaliar a associação entre concentrações de material particulado fino e a expectativa de vida da população nos Estados Unidos. As reduções na poluição do ar foram responsáveis por até 15% do aumento global da expectativa de vida nas áreas de estudo.

Andrade et al. (2012) avaliaram a contribuição das emissões veiculares para a concentração de MP_{2,5} em seis cidades brasileiras. Em todas as cidades avaliadas, as emissões veiculares foram responsáveis pela maioria das emissões de MP_{2,5} e a queima de diesel foi a principal fonte de emissão de *black carbon*.

Assim como estes, diversos estudos realizaram investigações epidemiológicas e mostram associação entre o material particulado atmosférico a efeitos à saúde, mortalidade e expectativa da população (DOCKERY et al., 1992; SEATON et al., 1995; KÜNZLI et al.,

2000; POPE III et al., 2004). KIM et al (2015) fizeram uma revisão do impacto do material particulado na saúde humana. Eles encontraram diversos trabalhos apontando que a exposição ao material particulado causa efeitos adversos à saúde humana, como mortes prematuras, admissões hospitalares, visitas de emergência, ataque de asma, bronquite crônica, câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e restrição de atividade. A figura 1 ilustra a deposição das partículas no sistema respiratório humano em função do tamanho.

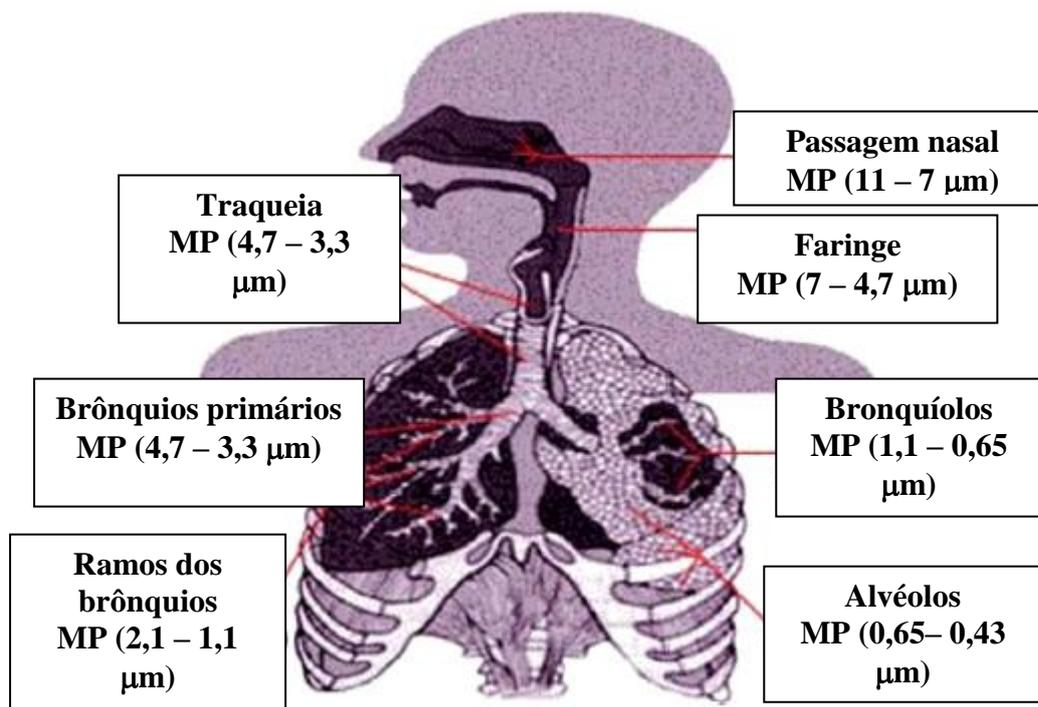


Figura 1: Deposição das partículas de diferentes tamanhos no sistema respiratório humano. Fonte: Adaptado de Kim et al (2015)

1.2 Amostragem pessoal de poluentes atmosféricos

A utilização de amostradores pessoais de poluentes atmosféricos vem conquistando espaço nas novas pesquisas relacionando saúde pública e qualidade do ar.

Vliet et al. (2013) avaliaram a exposição pessoal ao material particulado e *black carbon* utilizando equipamentos portáteis em pessoas que trabalham em contato com cozinhas, onde ocorre queima de biomassa (lenha), em Ghana, na África. As concentrações de $MP_{2,5}$ apresentaram picos nos momentos em que os voluntários estavam cozinhando, em cozinhas fechadas, semi-fechadas e ao ar livre; o *black carbon* das amostras estava em concentrações elevadas, como esperado.

Montagne et al. (2013) utilizaram também amostradores pessoais para medidas de material particulado e óxidos de nitrogênio em cidades europeias. O objetivo do trabalho foi avaliar a exposição pessoal e verificar a existência de correlação do uso e ocupação do solo com a exposição aos poluentes atmosféricos, e esses se mostraram correlacionados.

Buonanno et al. (2014) no Sul de Lázio, região central da Itália realizaram amostragens pessoais de partículas ultrafinas com 24 casais, onde a mulher realizava trabalhos domésticos e o cônjuge trabalhava fora da residência. A concentração média em número de partículas para as mulheres se mostrou mais alta que para os homens, tanto no verão como no inverno. Isso provavelmente deve-se ao fato das mulheres cozinhareem e as concentrações serem maiores, embora em um curto espaço de tempo.

Koehle e Peters (2015) realizaram uma revisão onde mostram diversos modelos de amostradores pessoais de material particulado para diversas finalidades. Para medidas de partículas ultrafinas, eles apontam o Shinyei PPD42NS e o Sharp GP2Y1010AU0F como muito eficientes. Porém, sua grande desvantagem é o custo elevado. Os autores também enfatizaram a importância de mais estudos no aprimoramento destes equipamentos.

1.3 Genotoxicidade

Os agentes genotóxicos se caracterizam por terem atividade biológica capaz de modificar informações codificadas no DNA. A genotoxicidade ocorre quando há exposição a um agente tóxico e esta leva a alteração da estrutura dos cromossomos ou da sequência de pares de bases do DNA (COLLINS, 2004).

O Ensaio do Cometa é um método de estudo sensível, o qual avalia danos ao DNA de células individuais, tem o custo relativamente baixo, é rápido, preciso e reprodutível. Pode ser avaliado qualquer tipo de células, bastando apenas haver a presença de núcleo.

Östlind e Johanson (1984) desenvolveram a técnica deste ensaio, pela metodologia de eletroforese do DNA em micro-gel. Singh et.al., (1988) atribuíram a este teste maior sensibilidade através do uso de solução alcalina.

A utilização de células bucais como indicador de danos genotóxicos associados à exposição de poluentes pode ser explicado pela habilidade das células metabolizarem agentes carcinogênicos e por ser uma das primeiras barreiras física do trato respiratório humano (SISENANDO et al., 2012).

O teste do Cometa vem sendo cada vez mais utilizado como indicador de genotoxicidade para biomonitoramento de exposições ocupacionais e ambientais (MOLLER,

2006). No Brasil, Göethel et al. (2014) utilizaram o teste do cometa para avaliar o dano ao ácido desoxirribonucleico (DNA) causado por poluentes atmosféricos e benzeno, em 34 taxistas, 43 atendentes de estações de gás e em 22 pessoas consideradas não expostas a esses poluentes (controle), na cidade de Porto Alegre. Concluíram que mesmo em baixos níveis de exposição ocupacional ao benzeno e poluentes atmosféricos podem estar ligados a genotoxicidade e dano oxidativo ao DNA.

1.4 Análise de Regressão

A regressão linear é um modelo estatístico muito utilizado para avaliar a relação entre uma variável resposta e uma variável explicativa, e tem sido aplicada em estudos epidemiológicos que relacionam a poluição do ar à saúde (CONCEIÇÃO et al., 2001).

Os Modelos Lineares Generalizados (MLG), diferem dos modelos lineares, pois propõem uma maior exploração de opções para a variável resposta, permitindo que ela pertença à família exponencial, cujas médias são não-lineares em um conjunto de parâmetros lineares (CORDEIRO, 1986). Podem ser utilizados métodos similares aos modelos lineares quando a variável segue uma distribuição não Normal ou quando a relação entre as variáveis explicativas e resposta não seja necessariamente linear (PAULA, 2004).

Os MLG exibem os seguintes elementos (CONCEIÇÃO et al., 2001; TADANO et al., 2009; NELDER e WEDDERBURN, 1972):

- a) Componente aleatório: uma variável resposta $z_1 \dots z_k$ que segue uma distribuição da família exponencial (Normal, Gama, Poisson, Binomial Negativa) com valor esperado $E(z) = \mu$.
- b) Componente sistemático: produzem uma estrutura linear para o modelo de regressão, $\eta = xit\beta$, nomeado de preditor linear, em que $xit = (xi_1 \dots xip)$ $t, i=1, \dots, n$, são as variáveis explanatórias.
- c) Função de ligação: função adequada capaz de vincular as componentes aleatória e sistemática, ou seja, conecta a média da variável resposta (μ) à estrutura linear, $g(\mu) = \eta$. Em que $\eta = \beta_0 + \beta_1 x_1 \dots + \beta_n x_n$, ou $\eta = xit\beta$.

1.5 Londrina

O município de Londrina tem oficialmente 1.652,568 km² e ocupa cerca de 1% da área total do estado do Paraná. (IBGE, 2015). É a principal cidade de sua região metropolitana que

tem cerca de 766.682 habitantes. É um centro regional e tem como principais atividades econômicas o comércio, serviços e agroindústrias. O complexo industrial londrinense, segundo dados da Secretaria de Planejamento do Município (2002), é constituído de 3.107 indústrias de diversos setores.

O Norte do estado do Paraná tem apresentado significativo crescimento populacional nas últimas décadas e, conseqüentemente, aumento da frota de veículos, principalmente pela facilidade de compra por financiamentos. A cidade de Londrina possui uma população estimada de aproximadamente 543 mil habitantes (IBGE, 2014), dispondo de uma frota de mais de 367 mil veículos, sendo 345 mil veículos leves e 22 mil veículos pesados. (DENATRAN, 2015). A Tabela 1 mostra o panorama veicular na cidade de Londrina para o ano de 2014.

Tabela 1: Composição da frota veicular da cidade de Londrina para o ano de 2014. Fonte: DENATRAN, 2015

	Veículos	Número
Veículos	Automóvel e utilitário	232851
Leves	Motocicletas, motonetas, tricíclos e ciclomotor	84125
	Caminhão, chassi-plataforma, quadriciclo, reboque, semi-reboque, side-car e outros	17788
	Ônibus e microônibus	2934
Veículos	Caminhão-trator, Trator-esteira e trator-rodas	2215
Pesados	Caminhoneta e caminhonete	41452
Total		381365

A população economicamente ativa é de aproximadamente de 262 mil pessoas, divididas em diversas classes de ocupação, como mostra a Figura 2.

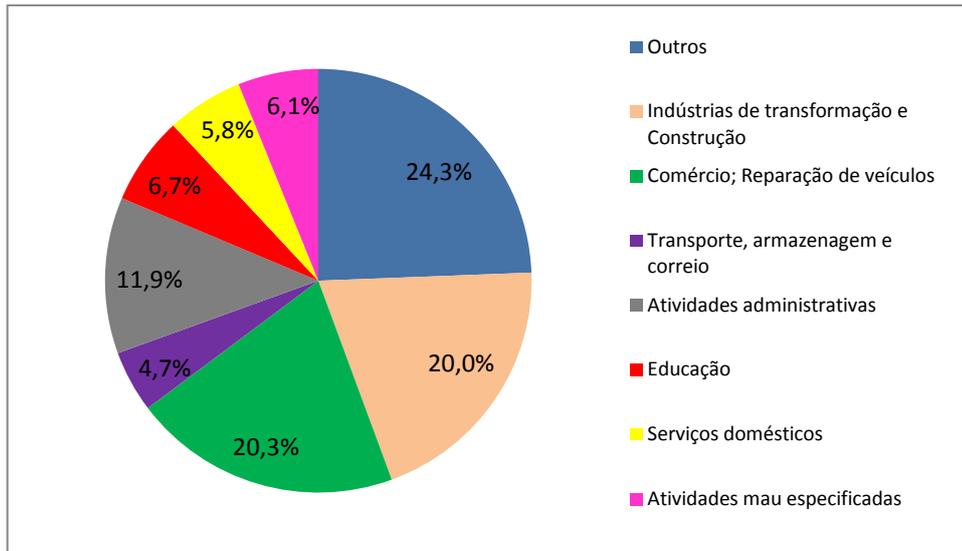


Figura 2: Distribuição da população ocupada segundo as atividades econômicas para a cidade de Londrina. Fonte: Adaptado de IPARDES, 2015.

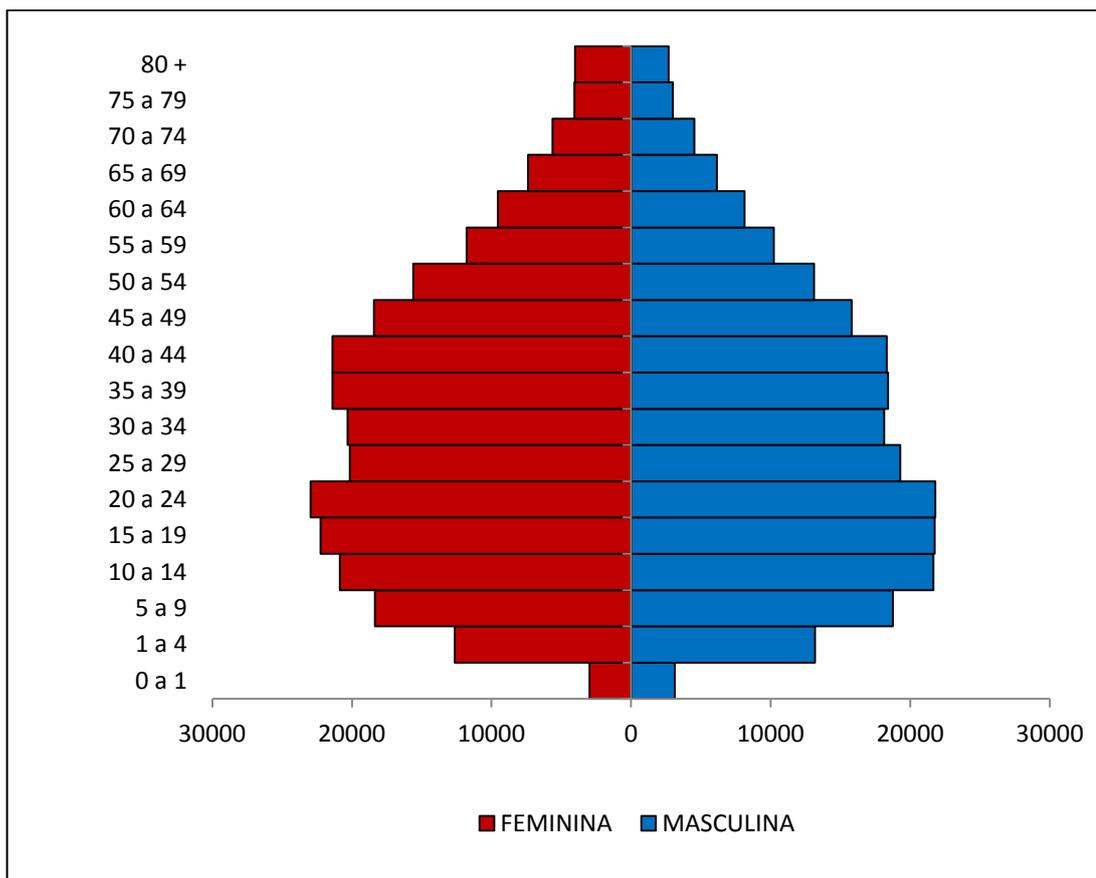


Figura 3: Distribuição da população por idade e sexo para a cidade de Londrina. Fonte: Adaptado de IPARDES, 2015.

Como mostrado na figura 3, a população londrinense em idade economicamente ativa está em maior número. Isto mostra que Londrina pode ser considerada uma cidade com

população jovem, muito parecida com a pirâmide etária do Brasil para 2010 (IBGE, 2015). No entanto, há uma tendência clara de envelhecimento da população brasileira e aumento da expectativa de vida. Nos anos 80, a pirâmide etária do Brasil apresentava bases mais largas e a partir dos anos 90 passou a diferenciar esse perfil. As mudanças ocorridas na pirâmide etária do Brasil são consequência da revolução urbano-industrial do país, pois nestas condições é natural que os índices de natalidade sejam baixos (CARVALHO, 2004).

Neste trabalho realizou-se a caracterização climática da cidade de Londrina através de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), entre o período de 1970 a 2013, em que os resultados indicaram que as temperaturas mais altas ocorrem nos meses de dezembro a março, enquanto que as mais baixas são registradas nos meses de maio a agosto. As médias mensais das temperaturas mínimas e máximas diárias ficam acima de 19,15°C e abaixo de 30°C, respectivamente. A temperatura média anual da cidade é de 22°C.

As maiores ocorrências de chuva na cidade de Londrina são observadas nos meses de dezembro e janeiro, com média de 203 mm, e as menores nos meses de julho e agosto, com média de 57 mm. A precipitação acumulada média anual da cidade é 1564,9 mm.

Em relação às taxas de umidade relativa do ar, ocorrem oscilações com médias em torno de 67%, com variações diretamente proporcionais ao maior e menor índice de chuva. As umidades relativas mais altas ocorreram nos meses de maio e julho, com média de 70% e as mais baixas nos meses de agosto e setembro, com média de 60%.

A velocidade média do vento fica em torno de 0,7 m s⁻¹ em todos os meses do ano, e a direção predominante é de sudeste.

Não apenas visando a ausência de pesquisas no Brasil utilizando a metodologia proposta neste trabalho, este se justifica, pois possibilitará conhecer o nível e o padrão de exposição real dos indivíduos ao material particulado atmosférico, em diferentes atividades e locais. Além disso, possibilitará avaliar comparativamente a possível genotoxicidade causada. Os resultados do trabalho contribuirão fornecendo subsídios à obtenção de indicadores que expressem os riscos à saúde e à elaboração de políticas públicas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem por objetivo medir e avaliar a exposição pessoal ao material particulado atmosférico em indivíduos adultos da cidade de Londrina.

2.2 Objetivos específicos

Especificamente o trabalho propõe-se a:

- Medir a concentração em massa e número de partículas no ar inalado por adultos em diferentes condições de exposição;
- Analisar a genotoxicidade nos indivíduos através da aplicação do teste do cometa às células bucais;
- Calcular e comparar a dose de partículas recebida por cada classe de ocupação dos indivíduos;
- Simular e analisar a deposição pulmonar das concentrações das partículas medidas no sistema respiratório utilizando o *software Multiple-Patch Particle Dosimetry* (MPPD);
- Utilizar modelos lineares generalizados para encontrar as associações entre os danos ao DNA e as variáveis relacionadas às concentrações de material particulado medidas;
- Avaliar os resultados da análise de genotoxicidade, dose recebida e deposição pulmonar dos indivíduos voluntários da cidade de Londrina.

3. METODOLOGIA

3.1 Seleção de voluntários

Baseado nos dados do IPARDES (2015) foram criadas 6 categorias de ocupações dos moradores de Londrina das quais foram selecionados 30 voluntários distribuídos dentro destas categorias: indústrias e construção civil, comércio, transporte, atividades administrativas, educação e serviços gerais. Estes voluntários possuem diferentes perfis de exposição, pois apresentam rotinas diárias diferentes, por exemplo: utilizam diferentes meios de transporte (ônibus, automóvel, motocicleta ou caminham) para locomoção para o trabalho, exercem atividades de trabalho diferentes e em locais diferentes (aberto ou fechado, na região central ou periférica da cidade). Além disso, são de diferentes idades e sexo. Crianças e adolescentes não foram selecionados.

Na tabela 2 são mostrados quantos voluntários ocupam cada categoria criada, baseada no caderno IPARDES do Município de Londrina.

Tabela 2: Relação de voluntários amostrados por categoria.

Categoria	Número de voluntários
Administrativo	6
Comércio	5
Construção e Indústria	4
Educação	6
Serviços Gerais	4
Transporte	5

Dentro de cada uma das categorias de ocupação econômica aqui geradas, podemos mencionar como representantes delas:

- Administrativo: auxiliares administrativos, gestores de recursos humanos, contadores;
- Comércio: promotores de venda do comércio da cidade;
- Construção e Indústria: operários dos mais diversos segmentos de indústria de transformação, pedreiros, serventes de pedreiros e mestres de obras;
- Educação: estudantes e professores do ensino básico e superior;

- Serviços Gerais: zeladores, copeiros, cozinheiros;
- Transporte: motoristas e cobradores de ônibus, taxistas;

Para a seleção dos voluntários os critérios de exclusão utilizados foram: ser tabagista, ser alcoólatra e fazer uso de medicamentos para pressão, pois essas características podem interferir na análise do teste do cometa realizada nas células bucais (ROJAS et al., 1996; ROCHA et al., 2014). É importante mencionar que em estudo realizado pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), no ano de 2012, cerca de 16,9% da população brasileira era fumante e 14,1% era dependente de álcool (II LENAD – Levantamento Nacional de Álcool de Drogas, 2012). O número de pessoas com hipertensão no Brasil tem aumentado significativamente. Segundo o Ministério da Saúde, essa população passou de 21,5% em 2006 para 24,4% no ano de 2009.

Um pequeno questionário, contendo as seguintes perguntas foram preenchidas pelo voluntário: Nome, sexo, data de nascimento, idade, endereço residencial e profissional, profissão, meio de transporte utilizado e horário de trabalho.

A pesquisa obteve aprovação do comitê de ética da UTFPR e um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi assinado pelos voluntários concordando com a participação na pesquisa.

3.2 Amostragem de material particulado

3.2.1 Amostragem pessoal

O período de amostragem foi de 25 de agosto a 26 de setembro de 2015 com tempo de amostragem de aproximadamente 8 horas consecutivas em cada um dos voluntários. Foram utilizados equipamentos portáteis, testados previamente à amostragem efetiva. Os equipamentos foram colocados em uma pequena mochila com os *inlets* para fora da mochila, fixados próximo aos ombros dos voluntários, similar ao utilizado por Viet et al. (2013).

Cada mochila estava equipada com os seguintes equipamentos: GPS DG-100, contador de partículas e monitor de concentração de massa. A seguir são descritos os equipamentos e sua finalidade.

- a) GPS DG-100 Data Logger, da marca Global Sat, o qual captura dados de georreferenciamento (latitude e longitude) com resolução temporal de 5 segundos, durante todo o tempo de amostragem. Através deste foi obtido a rota de circulação de cada indivíduo.
- b) Contador de partículas de quatro canais, modelo 804 da marca Met One Instruments. Este equipamento realiza automaticamente a contagem das partículas existentes no ar, por exemplo, o número de partículas, dentro do intervalo de 0,3 a 10 micrometros de diâmetro aerodinâmico, em um metro cúbico de ar. Ele possui bomba própria e é programável, permitindo que seja escolhido o tamanho das partículas de interesse. Neste trabalho foram setados os tamanhos de partículas (D_{50}) para medição da concentração em número de 0,3; 0,5; 1,0 e 2,5 μm e resolução temporal de 1 minuto.
- c) Monitor de massa de aerossol, modelo Aerocet 831, da marca Met One Instruments. Esse foi utilizado para obter a concentração em massa das partículas para 4 tamanhos de partículas: $MP_{1,0}$, $MP_{2,5}$, $MP_{4,0}$ e MP_{10} . O monitor fornece e armazena simultaneamente a concentração em massa com resolução temporal de 1 minuto. Fundamentalmente, o equipamento calcula um volume para cada partícula detectada e, em seguida, atribui uma densidade padrão para a conversão e obtenção da concentração.

A Figura 4 ilustra a mochila e os monitores utilizados no presente trabalho.



Figura 4: Mochila e os equipamentos utilizados na amostragem pessoal de material particulado.

As amostragens foram realizadas ao longo de um dia típico de trabalho de cada voluntário. Não foram considerados feriados e finais de semana. A amostragem teve início no horário de saída do voluntário de sua residência para o trabalho.

Em ambos os equipamentos pessoais que foram utilizados para detecção de material particulado, o princípio de detecção é o espalhamento (também chamado de dispersão) de luz. Uma fonte de luz de alta intensidade é utilizada para iluminar a partícula à medida que ela passa através da câmara de detecção (BOHREN e HUFFMAN, 2008). A partícula passa através da fonte de luz (tipicamente um laser ou luz de halogênio) e espalha a luz; então a luz redirecionada é detectada por um fotodetector.

O material particulado foi amostrado em condições similares à taxa de fluxo do sistema respiratório humano. O fluxo foi de $2,83 \text{ L min}^{-1}$ para ambos os equipamentos.

3.2.2 Amostragem ambiental

Foi realizada paralelamente à amostragem pessoal a coleta de material particulado grosso e fino, utilizando o equipamento Partisol 2000i-D, da marca Thermo Scientific. Foram coletadas partículas em filtros de quartzo com 47 mm de tamanho e $2,0 \mu\text{m}$ de poro (Whatman), com eficiência de coleta de 99% de partículas de até $0,3 \mu\text{m}$.

Neste analisador dicotômico, o ar é coletado por um receptáculo a uma vazão de 16,7 L min⁻¹, onde é realizada a separação do MP₁₀. Um impactador virtual situado após o receptáculo, possui dois controladores de vazão. Uma corrente de ar (MP₁₀), com vazão de 1,67 L min⁻¹, segue em direção a um ponto coletor, onde o MP₁₀ é depositado em um filtro. Uma segunda corrente, com vazão de 15 L min⁻¹, separa as partículas que possuem diâmetro menor que 2,5 µm (MP_{2,5}), que são depositadas em um outro filtro (Thermo Fischer Scientific Inc., 2011).

Através do método gravimétrico, foram aferidas as massas de cada filtro. Este dado foi usado como uma concentração de referência com menor influência de fontes primárias de material particulado quando comparadas às medidas de exposição pessoal. O equipamento permaneceu no Câmpus Londrina da UTFPR durante o período de amostragem.

Os filtros foram acondicionados com sílica, para retirada da sua umidade antes e após a coleta. Suas massas foram aferidas e anotadas previamente à amostragem. Após a amostragem, cada filtro foi devidamente identificado e mantido em sílica, até que fosse levado ao Laboratório de Análises Cromatográficas e Ambientais (LACA), na Universidade Estadual de Londrina, para a realização da pesagem da massa de material particulado em triplicata.

Para calcular a concentração em massa contida nos filtros, foram usadas equações contidas no manual do equipamento.

Para o cálculo da concentração de material particulado fino (MP_{2,5}), foi usada a seguinte equação:

$$C_f = \frac{M_f}{V_f} \quad (1)$$

Para o cálculo de concentração da concentração de material particulado da fração grossa (MP₁₀ – MP_{2,5}), foi usada a seguinte equação:

$$C_c = (M_c / V_t) - (V_c / V_t) * C_f \quad (2)$$

Para calcular a concentração de MP₁₀ em termos volumétricos, usamos a seguinte equação:

$$C_t = C_f + C_c \quad (3)$$

Para o cálculo da concentração de MP₁₀ em termos padrão, usamos:

$$C_{t\ std} = (M_f + M_c)/V_{t\ std} \quad (4)$$

Onde para as equações (1), (2), (3) e (4) temos:

C_f: Concentração da massa da fração fina (µg/m³);

C_c: Concentração da massa da fração grossa (µg/m³);

C_t: Concentração da massa do MP₁₀ (µg/m³);

M_f: massa coletada na fração fina (µg);

M_c: massa coletada na fração grossa (µg);

V_f: volume de ar amostrado através do filtro de partículas finas (m³);

V_c: volume de ar amostrado através do filtro de partículas grossas (m³);

V_t: volume total de ar (m³);

V_{t std}: volume padrão total (m³) para temperatura de 273,15 K e pressão de 760 mmHg.

Os dados amostrados no Câmpus Londrina da UTFPR servem como uma concentração de fundo, ou seja, um valor de referência para aquilo que o voluntário receberia independente da sua exposição devido à ocupação.

3.3 Determinação da genotoxicidade – Teste do Cometa

O ensaio do cometa teve como finalidade a avaliação genotóxica do dano ao DNA causado pela exposição ao material particulado. Neste foram coletadas amostras antes e depois de 8 horas de exposição, pela raspagem da mucosa bucal do indivíduo com a ajuda de uma escova de dente estéril e, posteriormente, analisados os eventuais danos ao DNA (SINGH et.al., 1988). A utilização de células bucais como indicador de danos genotóxicos associados à exposição de poluentes pode ser explicado pela habilidade das células metabolizarem agentes carcinogênicos e por ser uma das primeiras barreiras físicas do trato respiratório humano (SISENANDO et al., 2012).

O ensaio do cometa alcalino foi realizado como descrito por Singh et.al., (1988), com modificações sugeridas por Tice et al. (2000). As etapas realizadas são descritas a seguir:

Preparo da solução celular

Após a coleta da mucosa de cada indivíduo, com o auxílio da escova, esta foi enxaguada em 5 mL de solução salina de NaCl 0,9 M., previamente preparada. Esta solução foi levada à centrifugação por 8 minutos, a 1500 RPM. Em seguida, foi tirado o sobrenadante e ao precipitado foram adicionados mais 5 mL de solução salina. Esta foi suavemente homogeneizada com a ajuda de uma pipeta e levada novamente à centrífuga por 8 minutos, nas mesmas condições. Esta operação foi repetida mais uma vez (centrifugação, retirada do sobrenadante e adição de mais solução salina e centrifugação), porém, nesta última etapa, ao ser retirada a solução salina, foi deixada uma pequena margem ao redor do precipitado e foi homogeneizado. Este precipitado formado representa as células, as quais são utilizadas para preparo das lâminas que passarão pela eletroforese.

Esta etapa foi realizada logo após a coleta do material celular da mucosa bucal de cada voluntário, na UTFPR Câmpus Londrina.

3.3.1 Preparo das lâminas com amostra

Para cada voluntário foram feitas 4 lâminas (2 com o material coletado antes e 2 com o material coletado depois da amostragem). Após as lâminas já estarem previamente preparadas com agarose normal, adicionou-se 120 µL de agarose de baixo ponto de fusão com 20 µL de suspensão celular retirada de cada voluntário. Estas lâminas foram cobertas com uma lamínula e acondicionadas em refrigerador por cerca de 20 minutos. Após a adição das células, evitou-se a exposição à luz direta.

As lamínulas foram delicadamente retiradas e as lâminas foram inseridas dentro de uma cuba com 100 mL de solução de *lise* e então mantidas em refrigerador por no mínimo 1 hora. Essa etapa foi realizada no Câmpus Londrina da UTFPR.

Para o preparo da solução estoque de *lise* foram usados: 890 mL de H₂O destilada, 146,1 g de NaCl (Cloreto de sódio) a 2,5 M, 37,2 g de EDTA (Ácido Etilenodiaminotetracético) a 100 mM, 1,2 g de TRIS a 10 mM e 8 g de NaOH (Hidróxido de sódio) sólido.

O pH foi acertado com NaOH para 10. Em seguida adicionou-se 10 g de Lauril Sarcosinato de Sódio e misturou-se lentamente à solução. Esta solução foi estocada em temperatura ambiente e em ausência de luz.

A solução de *lise* usada foi preparada utilizando 89 mL da solução estoque de *lise* e nesta foi adicionado 1 mL de Triton X 100 e 10 mL de DMSO (Dimetilsulfóxido). Esta solução foi homogeneizada apenas invertendo a proveta várias vezes e, preparada no escuro para evitar degradação da solução.

3.3.2 Eletroforese

As lâminas foram acondicionadas horizontalmente na cuba de eletroforese, preenchendo ao máximo possível os espaços. Foi adicionada solução tampão (NaOH, 10 M e EDTA, 200 mM) até cobrir as lâminas, e em seguida foi colocado gelo em torno da cuba. As lâminas na cuba são mantidas nessas condições por 25 minutos para que haja a desnaturação do DNA. Na sequência a eletroforese foi iniciada a 25 V e 300 mA por 20 minutos. Posteriormente, as lâminas foram retiradas cuidadosamente e neutralizadas 2 vezes com 5 mL de tampão de neutralização (TRIS e água destilada). Em seguida foram secas naturalmente em posição inclinada e fixadas com etanol por 5 minutos, para serem estocadas na geladeira até a próxima etapa. Esta etapa foi realizada no Câmpus Apucarana, da UTFPR, onde está disponível a cuba e a fonte de eletroforese, adquiridas para essa finalidade.

3.3.3 Coloração

Após a eletroforese, foi necessária a pigmentação das lâminas para auxílio da visualização microscópica das células. Para a coloração, foram adicionados 20 μ L de brometo de etídio e as lâminas foram cobertas com lamínula até a análise microscópica. Foram preparadas 6 lâminas por vez, aguardou-se entre 3 e 5 minutos e então foi realizada a análise microscópica. Todo o procedimento foi realizado no escuro.

3.3.4 Análise microscópica

Utilizando um microscópio eletrônico de fluorescência, modelo Axioskop2 plus da Zeiss, foram quantificados os danos em cada lâmina. Essa determinação foi feita verificando o tamanho do deslocamento dos fragmentos de DNA. A determinação da frequência de danos (FD) e do índice de danos (ID) foi necessária para a comparação entre os diferentes perfis de voluntários.

Foi realizada a contagem de 100 células no microscópio onde, dentro destas, houve uma qualificação em intensidade de danos. Foram criadas 5 categorias: sem danos, dano de grau 1, dano de grau 2, dano de grau 3 e dano de grau 4.

A frequência de danos (FD) é a soma da quantidade de células com danos (independente do grau) dentro das 100 contadas.

O índice de danos (ID) foi calculado através de uma média ponderada, que relaciona a quantidade de danos em cada classe e o seu grau de intensidade.

A microscopia foi realizada no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) na Universidade Estadual de Maringá com auxílio da Dra. Graciana F. Palioto.

Para analisar se houve diferenças significativas entre os danos no DNA mensurados no teste do cometa nas diferentes classes de ocupação, em relação ao grupo controle, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (Duez et al., 2002).

3.4 Análise da Exposição e Dose recebida

Foi calculada a dose recebida por cada indivíduo, e estas foram comparadas entre os grupos de ocupação onde cada um se encontra. Para o cálculo da dose ingerida foi utilizada a seguinte equação (U.S. EPA, 1997):

$$Ingestão = \frac{Ca * TI * FE * DE}{(PC * TM)}, \quad (5)$$

onde:

Ca: concentração no ar do MP₁₀ (mg/L);

TI: taxa de ingestão (L/hora);

FE: frequência de exposição (hora/dia);

DE: duração da exposição (dia);

PC: massa corporal do indivíduo (kg);

TM : tempo médio ou período médio em que ocorreram as medidas (hora).

Para este cálculo foi utilizada a média da concentração de MP₁₀ das 8 horas amostradas para cada voluntário, portanto a duração da exposição foi de 8 horas por dia.

3.5 Análise Estatística

3.5.1 Análise Estatística Descritiva

Foram calculadas medidas de posição e dispersão para todas as variáveis empregadas no estudo: média aritmética, desvio padrão, coeficiente de variação, valores máximo e mínimo. Também determinou-se a correlação de Pearson entre os dados de concentração em número e massa de material particulado, a classe de ocupação e a dose recebida por cada voluntário.

3.5.2 Análise de Regressão

Foi realizada uma análise de regressão com a finalidade de encontrar um modelo, utilizando-se de todas as variáveis explanatórias, que melhor explique as variáveis resposta. Este tipo de análise é utilizada para descrever o tipo de relação existente entre as variáveis em estudo.

O índice de danos (ID) e a frequência de danos (FD) foram obtidos a partir de dados de contagem. Por isso, espera-se que a distribuição de Poisson seja a mais adequada (PAULA, 2004).

A profissão, dados de concentração em massa média por voluntário (PM_{10} , $PM_{2,5}$ e $PM_{1,0}$), dados de concentração em número média por voluntário ($PM_{0,3}$, $PM_{0,5}$, $PM_{1,0}$ e $PM_{2,5}$) e a dose recebida calculada foram as variáveis independentes do modelo.

O valor da variância aumenta com o aumento da dispersão dos valores observados. Fenômenos de subdispersão ou superdispersão podem ser motivados pela heterogeneidade das amostras causada por variabilidades interunidades experimentais (PAULA, 2004).

Caso a superdispersão ou subdispersão venha a ocorrer, uma das alternativas seria buscar um modelo de distribuição de probabilidade mais adequado. No presente estudo, utilizaram-se os modelos de distribuição de probabilidade Quasi-Poisson e Binomial Negativo, por possuírem um parâmetro de dispersão que corrige a variabilidade dos dados.

Para a escolha do modelo mais adequado foram utilizados dois métodos: A análise gráfica dos resíduos, através do gráfico normal de probabilidades (*half normal plot*), onde os pontos gerados pelos resíduos devem permanecer dentro ou mais próximo do envelope de simulação gerado; e do critério de Informação de Akaike (AIC) dado por $AIC = -2L + 2K$, onde K é o número de parâmetros do modelo, L é a função de log-verossimilhança

maximizada (POSADA E BUCKLEY, 2004). De acordo com a literatura o modelo que possui o menor valor de AIC é considerado o mais adequado (BOZDONGAN, 1987; LITTEL et al., 2002; POSADA e BUCKLEY, 2004). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R, versão 3.1.0

3.6 Modelo de Deposição Pulmonar

Para estudo do processo de deposição dos poluentes no sistema respiratório humano para adultos e idosos foi utilizado neste trabalho o modelo de deposição Multiple Path Particle Dosimetry model (MPPD) (ASGHARIAN et al., 2001; PRICE et al., 2002). Este modelo calcula a deposição e remoção de aerossóis no trato respiratório para partículas ultrafinas (0,01 μm) a grossas (10 μm). Este modelo foi utilizado por Martins et al. (2010) para calcular a fração de partículas depositada e retida em partes específicas do pulmão humano para comparação de dois diferentes cenários de exposição na Região Metropolitana de São Paulo.

As concentrações em massa medidas nos indivíduos foram inseridas no MPPD para avaliação do processo de deposição nas diferentes situações experimentadas pelos voluntários.

Foram inseridos no modelo dados das concentrações mínimas, médias e máximas. O critério para escolha dos voluntários representantes foram os que apresentaram concentração média máxima, média e mínima de MP_{10} , os voluntários V17, V6 e V16 respectivamente.

Para cada um desses, foi calculado o Diâmetro Médio Aerodinâmico predominante, através de uma média ponderada. A partir dele, foi calculado o GSD (*Geometric Standard Diameter*), o qual é calculado a partir da função \ln do diâmetro médio do conjunto de partículas. Este parâmetro é necessário para calcular a deposição pulmonar para os dados de exposição pessoal, considerando que o aerossol é polidisperso, ou seja, possui diferentes tamanhos. Foram calculadas médias da concentração no tamanho predominante para cada um desses 3 voluntários e estes foram utilizados no modelo.

Foi inserido também no modelo os dados de concentrações em massa médias de $\text{MP}_{2,5}$ e MP_{10} medidas na amostragem ambiental durante o mesmo período das amostragens pessoais.

Na tabela 3 são mostradas as concentrações do poluente utilizadas no modelo e na tabela 4 os parâmetros utilizados.

Tabela 3: Concentrações de material particulado utilizadas no modelo MPPD.

		Diâmetro	
		Predominante	Concentração em massa
		(μm)	média (mg m^{-3})
	Mínimo (V16)	2,5	0,04
Amostragem	Médio (V6)	2,5	0,14
Pessoal	Máximo (V17)	4	7,45
Amostragem Ambiental (média de		2,5	0,11
24 h)		10	0,20

Os resultados obtidos no modelo vão depender dos parâmetros de exposição e características anatômicas do sistema respiratório humano utilizados.

Para os valores obtidos na amostragem ambiental, foi utilizado o modo *Multiple*, pois não é possível calcular o diâmetro médio de MP_{10} e $\text{MP}_{2,5}$. Para a amostragem pessoal, foi utilizado o modo *Single*, pois o diâmetro médio pode ser calculado possibilitando tratar o aerossol como polidisperso, ou seja, com múltiplos tamanhos de partículas.

Tabela 4: Parâmetros utilizados no modelo MPPD.

Parâmetros	
Espécie	Humanos
Modelo	Yeh/Schum Simétrico
Capacidade Residual	
Funcional	1854,54 mL
Volume do trato respiratório superior	
	42,27 mL
Diâmetro da partícula	Variável de acordo com cada caso
Frequência Respiratória	12 min^{-1}
Volume Corrente	477,2 mL
Cenário Respiratório	Respiração Oronasal-boca
Deposição / Acúmulo	Deposição somente

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Amostragem ambiental

No período de amostragem a temperatura média diária foi de 23,2 °C, a precipitação acumulada média diária de 45,9 mm (apenas em 3 dias ocorreu precipitação). A umidade relativa média diária foi de 68 %. A velocidade do vento não passou de 1 m s⁻¹ e a direção predominante nos 30 dias de amostragem foi de noroeste. Essas características meteorológicas observadas estão dentro da normalidade climática para o período, de acordo com a análise climatológica realizada previamente para Londrina.

A amostragem ambiental ocorreu durante o período de amostragem da exposição pessoal, exceto nos últimos 5 dias de amostragem, devido a problemas no equipamento. Em nenhum dos dias a concentração de MP₁₀ ultrapassou o valor do padrão nacional de qualidade do ar, estabelecido pela Resolução CONAMA n°003 de 1990, que é de 150 µg m⁻³ (padrão primário, 24 horas).

Os valores médios de MP_{2,5} e MP₁₀ no período foram de 11,82 µg m⁻³ e 20,29 µg m⁻³, respectivamente. Os valores diários de MP_{2,5} e MP₁₀ variaram de 1,03 a 94,20 e de 1,36 a 122,88 µg m⁻³, respectivamente.

4.2 Exposição pessoal ao material particulado

Para as 6 categorias de voluntários foram obtidos dados de concentração em massa, concentração em número de material particulado e as coordenadas geográficas dos trajetos percorridos.

De maneira geral, a categoria Construção e Indústria é a que apresentou concentrações médias mais altas quando comparadas as demais, tanto em massa quanto em número. Isso provavelmente deve-se à maior geração de materiais particulados nas atividades realizadas por essa classe de ocupação. Por exemplo, um dos voluntários desta classe é funcionário de uma indústria de farinha de trigo, ou seja, tem muito contato com particulados dentro da sua classe de ocupação.

Nas tabelas 5 e 6 são mostradas as médias das concentrações para cada categoria de voluntários.

Tabela 5: Concentração média em massa de material particulado para cada classe de ocupação.

Classe de ocupação	Massa	Massa	Massa	Massa
	MP _{1,0}	MP _{2,5}	MP _{4,0}	MP ₁₀
	($\mu\text{g m}^{-3}$)			
Administrativo	10,62	18,53	31,4	67,44
Comércio	15,48	20,87	28,48	50,88
Construção e				
Industria	24,11	114,01	484,42	2869,77
Educação	7,41	10,29	17,06	47,89
Serviços Gerais	14,28	21,53	31,65	57,76
Transporte	13,77	22,55	33,17	69,85
Média	14,27	34,63	104,36	527,26
Desvio Padrão	5,14	35,72	170,05	1047,63

Tabela 6: Concentração média em número de partículas para cada classe de ocupação.

Classe de ocupação	Número	Número	Número	Número
	MP _{0,3}	MP _{0,5}	MP _{1,0}	MP _{2,5}
	(partículas	(partículas	(partículas	(partículas
	cm^{-3})	cm^{-3})	cm^{-3})	cm^{-3})
Administrativo	59,6	6,3	1,36	0,4
Comércio	93,99	7,41	0,9	0,22
Construção e				
Industria	132,21	32,26	20,21	11,64
Educação	40,16	3,2	0,57	0,22
Serviços Gerais	78,43	6,26	1	0,24
Transporte	77,08	7,25	1,29	0,33
Média	80,24	10,44	4,22	2,17
Desvio Padrão	28,68	9,85	7,05	4,23

Foram obtidas as rotas de todos os voluntários durante a amostragem. Nas figuras de 5 a 10 são apresentadas as rotas e concentrações em massa de MP_{2,5} para um voluntário de cada categoria. É importante mencionar que essas são rotas típicas dos voluntários.



Figura 6: Rota percorrida pelo voluntário V13, representante do setor Serviços Gerais e as concentrações de $MP_{2,5}$ em $\mu\text{g m}^{-3}$.

O voluntário V13, representante do setor Serviços Gerais, locomoveu-se para o trabalho utilizando-se de ônibus público, passando por vários lugares até chegar ao trabalho, o que acarretou em concentrações bastante variáveis no decorrer da rota. Para o $MP_{2,5}$, as concentrações médias foram de $19,79 \mu\text{g m}^{-3}$ e máximas $107,60 \mu\text{g m}^{-3}$. Para o MP_{10} , as máximas concentrações ocorreram no local de trabalho, e chegaram a atingir $320 \mu\text{g m}^{-3}$. Ainda assim, a concentração média de MP_{10} foi de $78,73 \mu\text{g m}^{-3}$.

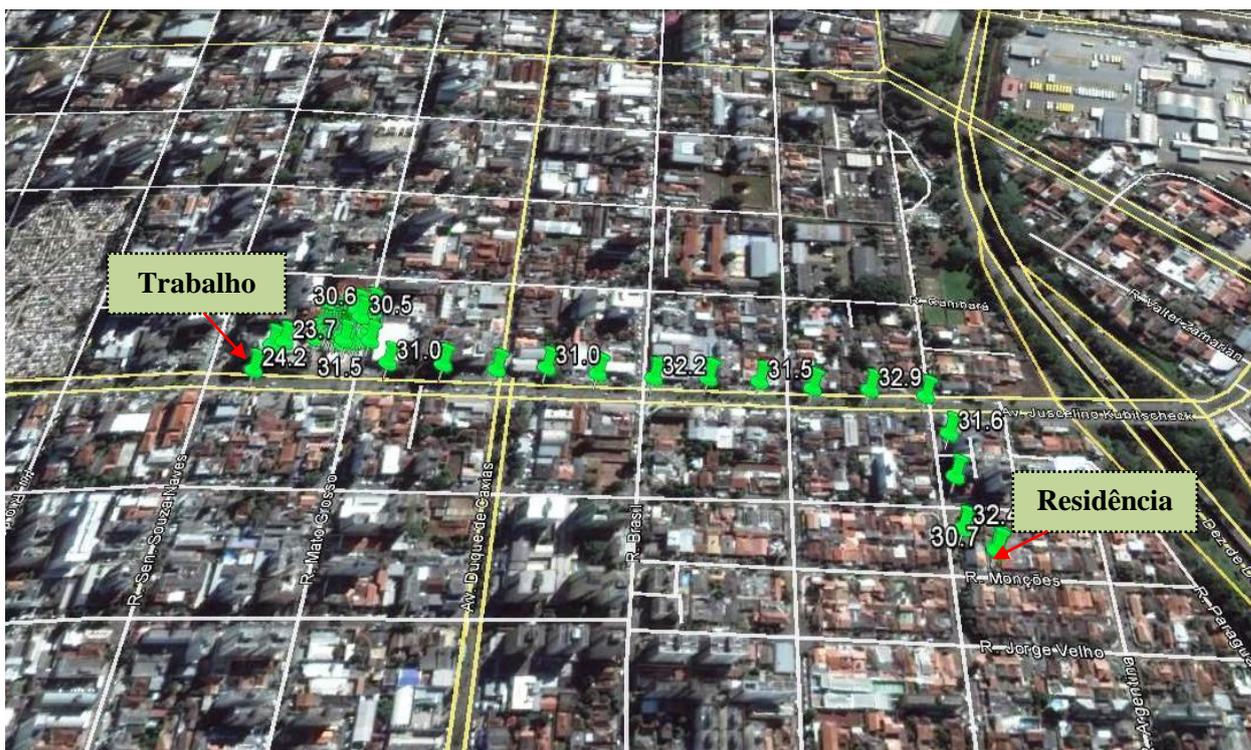


Figura 9: Rota percorrida pelo voluntário V29, representante do setor Comércio e as concentrações de $\text{MP}_{2,5}$ em $\mu\text{g m}^{-3}$.

O voluntário V29, representante do setor Comércio, foi o único do grupo que se deslocava a pé até o trabalho. Por ser em uma região da cidade com grande tráfego de veículos, as suas concentrações de $\text{MP}_{2,5}$ foram elevadas durante o trajeto e também no trabalho, mas não em todos os momentos, tendo médias em torno de $34,60 \mu\text{g m}^{-3}$ e as máximas não passaram de $58,20 \mu\text{g m}^{-3}$. Para a concentração de MP_{10} os valores médios no local de trabalho foram da ordem de $50 \mu\text{g m}^{-3}$. Durante o trajeto, as concentrações de MP_{10} atingiram cerca de $150 \mu\text{g m}^{-3}$.

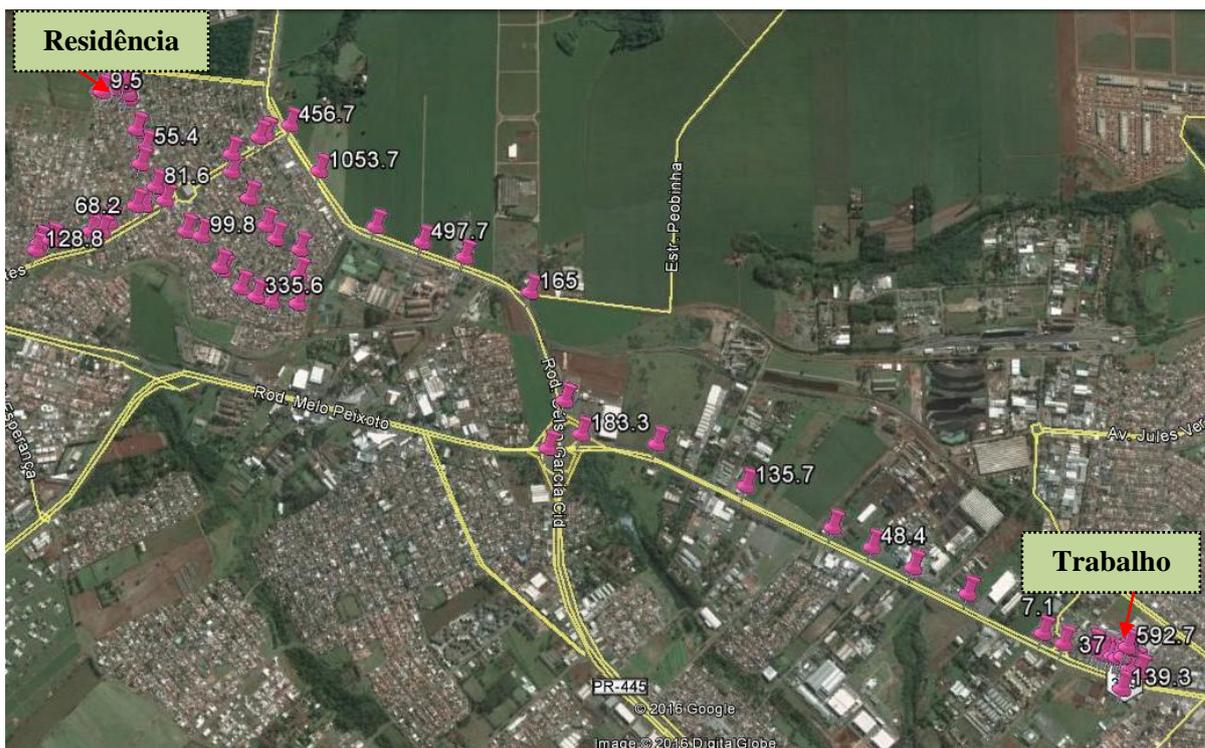


Figura 10: Rota percorrida pelo voluntário V17, representante do setor Indústria e as concentrações de $MP_{2,5}$ em $\mu\text{g m}^{-3}$.

As rotas percorridas pelos voluntários são variáveis de acordo com o seu meio de transporte, o local onde moram e o local onde trabalham, ou seja, cada voluntário está exposto de maneira diferente. O Voluntário V17, representante do setor Indústria (rota mostrada na figura 9), é o que apresentou maiores concentrações de $MP_{2,5}$, sendo as médias da ordem de $127 \mu\text{g m}^{-3}$ e picos de até $2.600 \mu\text{g m}^{-3}$. Para MP_{10} , as concentrações máximas atingiram cerca de $22.000 \mu\text{g m}^{-3}$ e as médias foram da ordem de $7.000 \mu\text{g m}^{-3}$. Durante o trabalho, este voluntário apresentou elevada variabilidade nas concentrações, porém, com maior frequência de concentrações mais elevadas.

Para o $MP_{2,5}$, a concentração média amostrada durante o período de exposição dos 30 voluntários que participaram do estudo foi de $31,07 \mu\text{g m}^{-3}$. Por se tratar de um grupo heterogêneo, a mediana pode ser uma variável mais adequada para efeito de comparação com a concentração ambiental. A mediana da concentração calculada para a amostra foi de $19,02 \mu\text{g m}^{-3}$, enquanto que para a concentração ambiental foi de $11,82 \mu\text{g m}^{-3}$.

A classe de ocupação que se expôs às maiores concentrações de $MP_{2,5}$ foi a Construção e Indústria, sendo da ordem de $115 \mu\text{g m}^{-3}$, cerca de 10 vezes superior a concentração associada à classe Educação que apresentou as menores concentrações, aproximadamente $10 \mu\text{g m}^{-3}$.

Para o MP_{10} , a média da concentração total medida para a exposição dos voluntários

foi de $433,53 \mu\text{g m}^{-3}$ e a mediana calculada foi de $57,99 \mu\text{g m}^{-3}$. Em relação às classes de ocupação, a mais exposta à maior concentração de MP_{10} foi a Construção e Indústria e a com menor concentração a Educação, com aproximadamente 2.870 e $48 \mu\text{g m}^{-3}$, respectivamente. Isso mostra que as concentrações nas quais os indivíduos das classes de ocupação estudadas estão expostos são muito superiores às concentrações ambientais observadas na UTFPR ($20,29 \mu\text{g m}^{-3}$), aqui admitidas como basal. Além disso, os resultados apontam para a ineficiência na generalização de dados obtidos a partir de estações de monitoramento fixa para avaliar a exposição de uma área muito ampla, principalmente em região urbana.

A tabela 7 abaixo mostra valores de concentração medidos de forma pessoal por Montagne et al. (2013) para 3 cidades da Europa, juntamente com as concentrações médias aqui medidas.

Tabela 7: Concentrações medidas de exposição pessoal.

Cidade	País	Concentração de $\text{MP}_{2,5}$ ($\mu\text{g m}^{-3}$)		
		Média	Mínima	Máxima
Utrecht*	Holanda	11,2	8,5	14,7
Barcelona*	Espanha	21,7	13,4	47,0
Helsinki*	Finlândia	6,4	2,9	11,4
Londrina	Brasil	31,0	4,2	267,4

*Fonte: Montagne et al. (2013)

Observamos que as 4 cidades apresentam perfis de concentração em massa de $\text{MP}_{2,5}$ distintos. Isso pode ser justificado devido à diferença no número de habitantes, configuração diferente da frota veicular, e presença ou ausência de políticas públicas mais severas em relação ao material particulado atmosférico.

Enquanto que na União Europeia o limite anual para as concentrações de $\text{MP}_{2,5}$ é $25 \mu\text{g m}^{-3}$, no Brasil não há legislações referente a este poluente. A Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (EPA – *Environmental Protection Agency*) tem legislações para o período de 24 horas e anual de exposição para o $\text{MP}_{2,5}$ (SANTANA et al., 2012), sendo estes de 35 e $15 \mu\text{g m}^{-3}$, respectivamente.

4.2.1. Número de partículas

As concentrações em número de partículas respiradas pelos voluntários também foram analisadas no presente trabalho. O número de partículas tem sido considerado na literatura como uma medida importante para se avaliar o dano causado na saúde dos indivíduos. Por exemplo, no trabalho de coorte realizado por Peters et al. (1997), altos níveis de partículas ultrafinas foram associados com pequenos decréscimos no fluxo respiratório.

Nas figuras 11 e 12 são mostrados gráficos da concentração em número de partículas durante cerca de oito horas de exposição para o voluntário com concentrações mais elevadas e mais baixas, respectivamente. Como já mencionado, o tempo de medida foi o máximo permitido pelo equipamento e visou medir a exposição real do voluntário nos deslocamentos para o trabalho e durante a atividade de trabalho realizada.

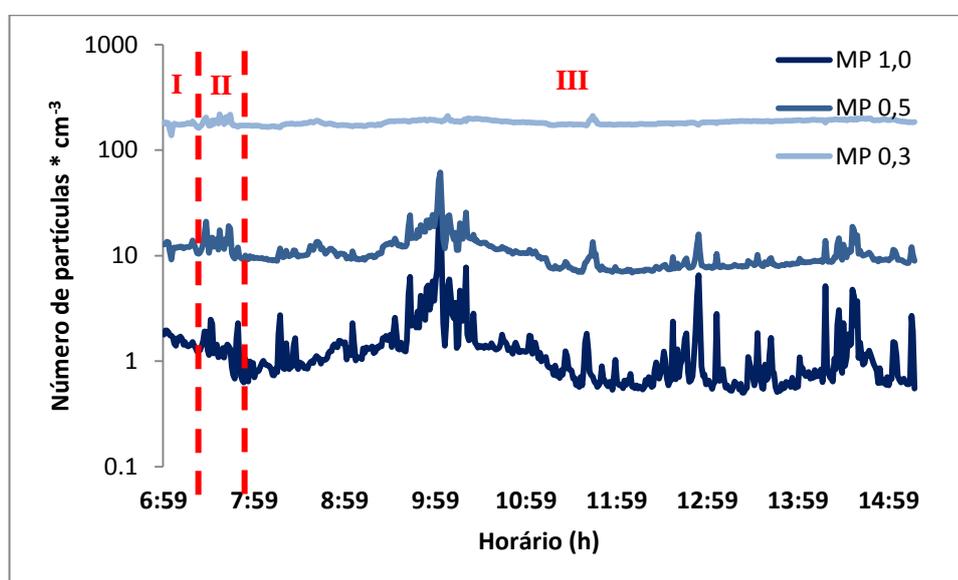


Figura 11: Concentração em número de partículas do voluntário com maior número de partículas; I: em casa; II: se deslocando para o trabalho e III: no trabalho.

Observa-se alguns picos na figura 11, os quais podem ser associados a momentos em que o voluntário estava mais exposto a partículas ultrafinas. Este voluntário (V28) pertence à classe Construção e Indústria, atuando como pedreiro. É importante ressaltar que as concentrações em número das partículas mais finas ($MP_{0,3}$) são muito mais elevadas quando comparadas aos tamanhos de $MP_{0,5}$ e $MP_{1,0}$. Observa-se um pico acentuado em torno das 10 horas, principalmente para $MP_{0,5}$ e $MP_{1,0}$, indicando uma alta exposição na atividade realizada neste momento.

No momento de transporte da residência até o local de trabalho, nota-se um comportamento oscilante das concentrações em número de partículas. Já quando ele está no

trabalho, as partículas menores têm número elevado, porém estável, enquanto que para as maiores, as concentrações em número oscilam no decorrer da amostragem, comportamento este condizente com sua atividade de trabalho.

Para entender melhor essas concentrações e os possíveis danos à saúde associado a elas, seria importante aplicar um questionário sobre os tipos específicos de atividades realizadas durante o período de amostragem, se o voluntário permaneceu mais em ambiente aberto ou fechado ou também em que momentos estava dentro do veículo de transporte.

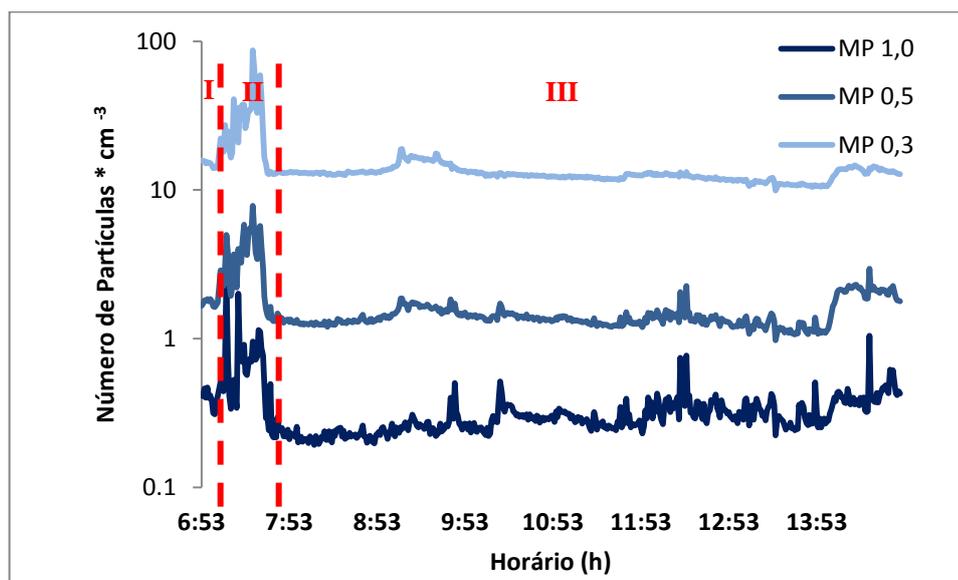


Figura 12: Concentração em número de partículas do voluntário com menor número de partículas pequenas; I: em casa; II: se deslocando para o trabalho e III: no trabalho.

O voluntário que apresentou menores concentrações em número pertencia à classe Educação. Seu pico, por volta das 07h30min da manhã, está associado ao momento em que este voluntário (V16) entrou no veículo de transporte, pois ocorreu um rápido deslocamento registrado pelo GPS, indicando a grande influência da combustão veicular na concentração de partículas pequenas. Durante o trânsito, utilizando ônibus coletivo, houveram as maiores concentrações em número nos 3 tamanhos de partículas.

Para a concentração em número de partículas, a classe que apresentou números mais elevados foi a Construção e Indústria, seguida de Comércio e Transporte. A média para o número de partículas de $MP_{0,3}$ foi de aproximadamente $80 \text{ partículas cm}^{-3}$, sendo esta média elevada por ser ponderada pela alta concentração na categoria Construção e Indústria, da ordem de $130 \text{ partículas cm}^{-3}$. As menores concentrações foram as da classe Educação, com aproximadamente $40 \text{ partículas cm}^{-3}$. Porém, foi na categoria Transporte em que as diferenças se mostraram mais significativas em relação ao controle.

Da mesma forma que foi mencionado anteriormente, a aplicação de um questionário sobre as atividades específicas realizadas durante a amostragem ou ainda uma visita posterior à medida ajudaria a compreender melhor esses picos. A concentração máxima durante o período de amostragem, para $MP_{0,3}$, foi da ordem de $90 \text{ partículas cm}^{-3}$.

Os valores encontrados de concentrações em número e em massa foram medidos no período de 8 horas devido às condições de operação dos equipamentos. Montagne et al. (2013) mediram durante 96 horas atividades *indoor* e *outdoor* de cada um de seus voluntários. No trabalho de Jahn et al. (2013) os voluntários utilizaram os equipamentos pessoais por 24 horas. Para melhores resultados seria necessário um período maior de amostragem, se possível com repetição, pois mesmo as amostragens tendo sido realizadas em dias típicos de atividade dos voluntários, eventos extremos atípicos podem ter ocorrido, como por exemplo, se manter próximo da circulação de veículos pesados na rua.

Não apenas no Brasil, mas também em países desenvolvidos, as emissões veiculares têm sido admitidas como a componente de maior contribuição para a poluição atmosférica urbana (COHEN et al., 2004; ANDRADE et al., 2012).

Conhecendo as classes que apresentaram maiores concentrações deste poluente, estudos posteriores podem ser realizados, utilizando um grupo maior e com características mais homogêneas (peso, sexo, idade) (BUONANO et al., 2014) com a finalidade de representar classes de ocupação ou a população da cidade de Londrina.

4.2.2 Dose Recebida

A categoria Administrativo foi usada como o controle em relação as demais. Na figura 13 a seguir mostra-se a dose recebida calculada para as 6 classes de ocupação dos voluntários participantes.

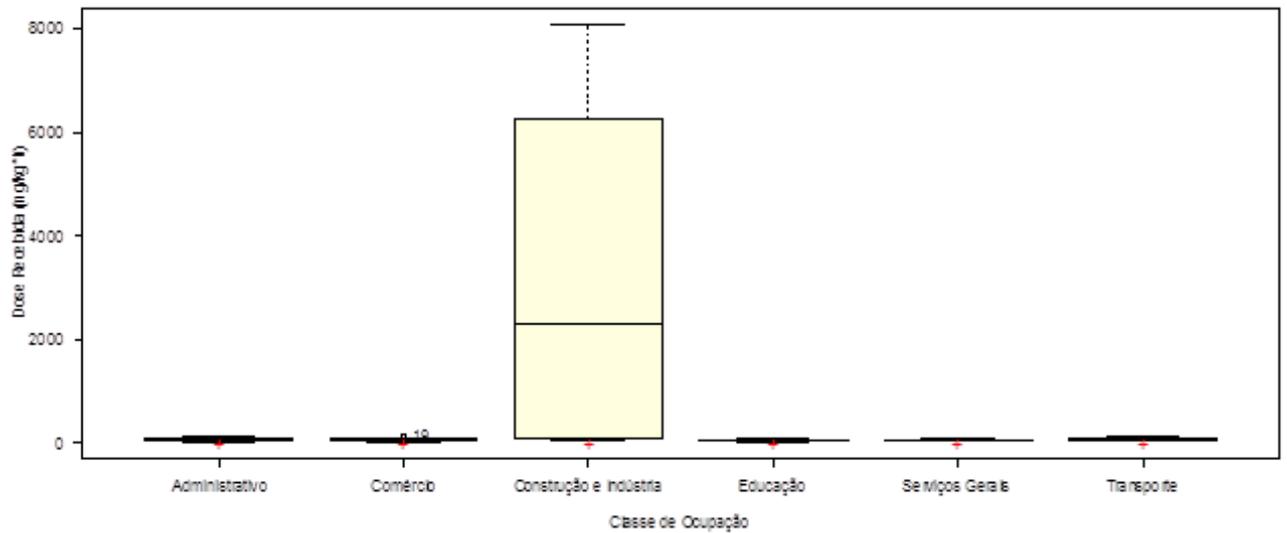


Figura 13: *Boxplot* mostrando as doses recebidas calculadas distribuídas nas classes de ocupações.

Na categoria de Construção e Indústria para 2 voluntários a dose recebida calculada foi muito elevada, provavelmente associado a um evento extremo ocorrido e sendo considerada anormal para a classe. Para uma melhor análise, estes 2 pontos foram retirados e foi gerado um segundo *boxplot*, o qual encontra-se na figura 14. Observa-se que na classe Administrativo são encontrados os voluntários com as médias de doses menores, porém a classe não apresenta os menores valores absolutos; estes pertencem à categoria Comércio. A classe Construção e Indústria, mesmo com a retirada dos dois pontos extremos, apresenta a dose mais elevada seguida da classe Transporte.

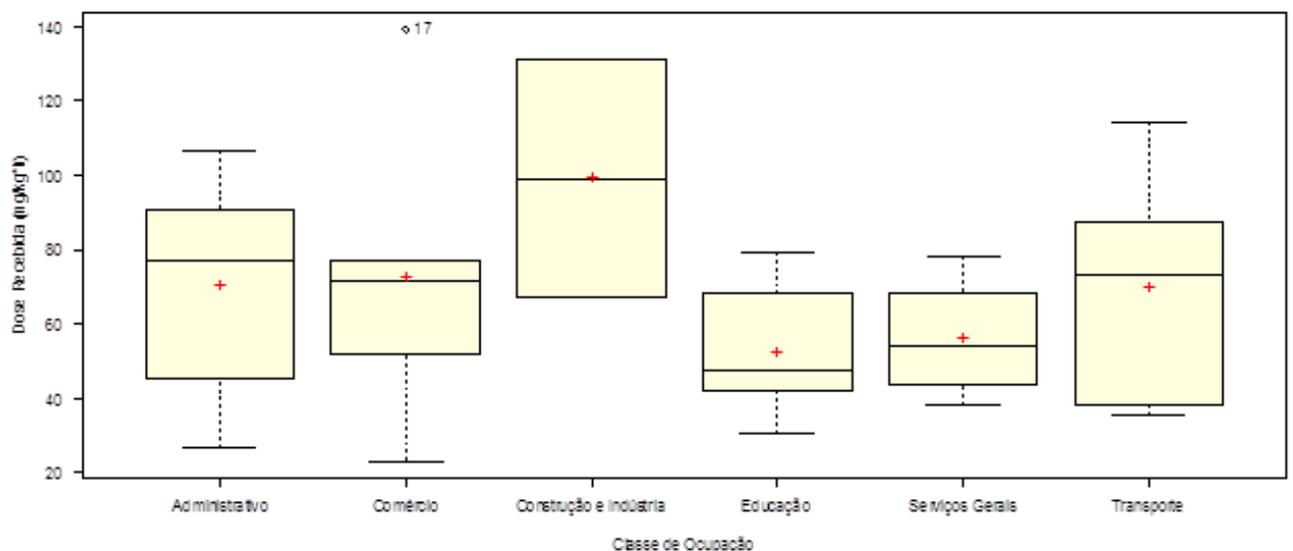


Figura 14: *Boxplot* mostrando as doses recebidas calculadas distribuídas nas classes de ocupações, retirando os 2 pontos que extrapolavam os valores médios.

4.3 Genotoxicidade

Em relação às classes de ocupação, foi analisada a ocorrência de danos no DNA nos momentos antes (A) e depois (D) da amostragem de material particulado. A coleta das células bucais ocorreu exatamente antes do início e ao final da amostragem, ocorrendo em geral na residência do voluntário.

Nas figuras 15 e 16 são apresentadas a Frequência de Danos (FD) e o Índice de Danos (ID) para todas as classes no momento que antecede à exposição, respectivamente. A classe Transporte apresentou a maior FD e ID em comparação com as demais, indicando ser a classe com maior efeito ao DNA. Pelo fato de o índice de danos ser uma média ponderada da quantidade de danos presente nas células bucais, esperava-se uma concordância da predominância dos danos na classe Transporte no momento A.

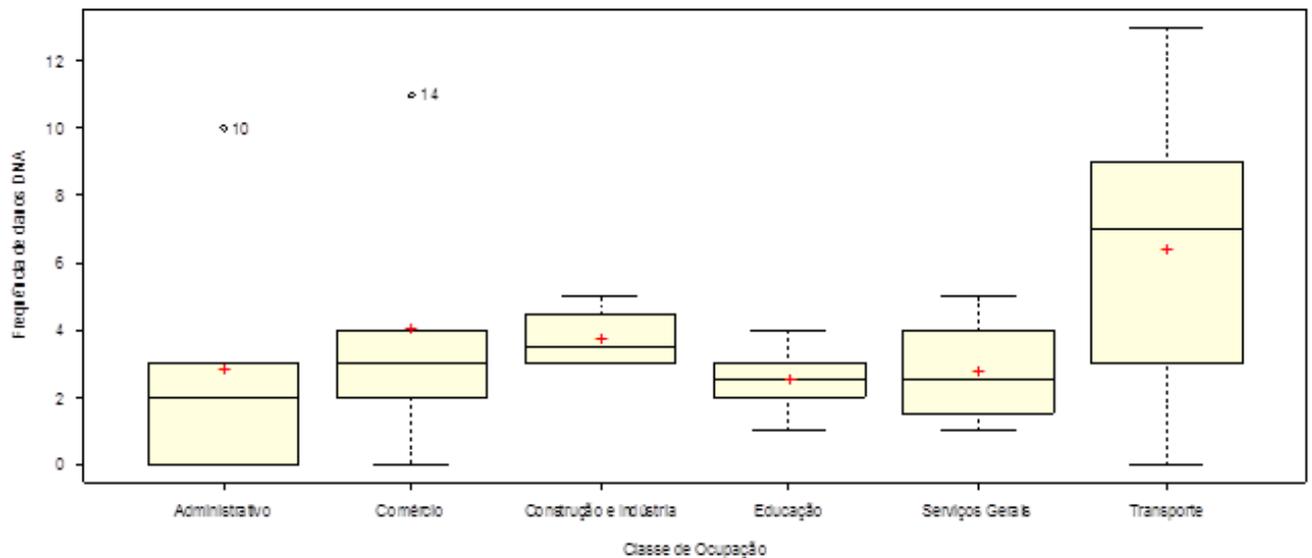


Figura 15: *Boxplot* com a ocorrência da frequência de danos no DNA em cada classe de ocupação, no momento antes.

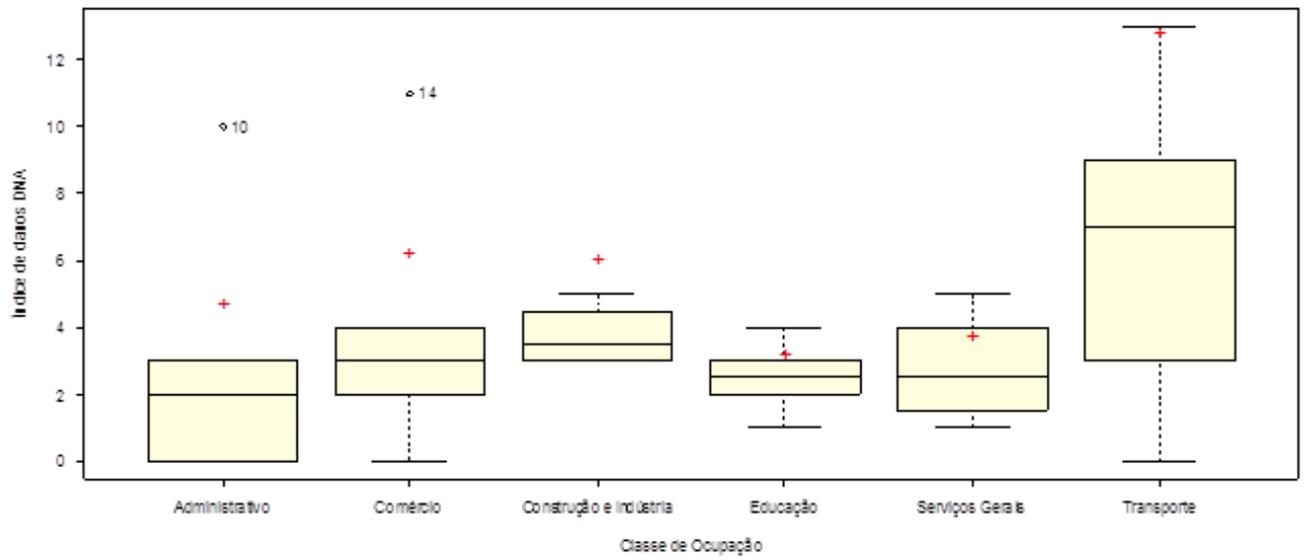


Figura 16: *Boxplot* com o índice de danos no DNA em cada classe de ocupação, no momento antes.

Nas figuras 17 e 18 são apresentados o FD e ID para todas as classes de ocupação após a exposição, respectivamente.

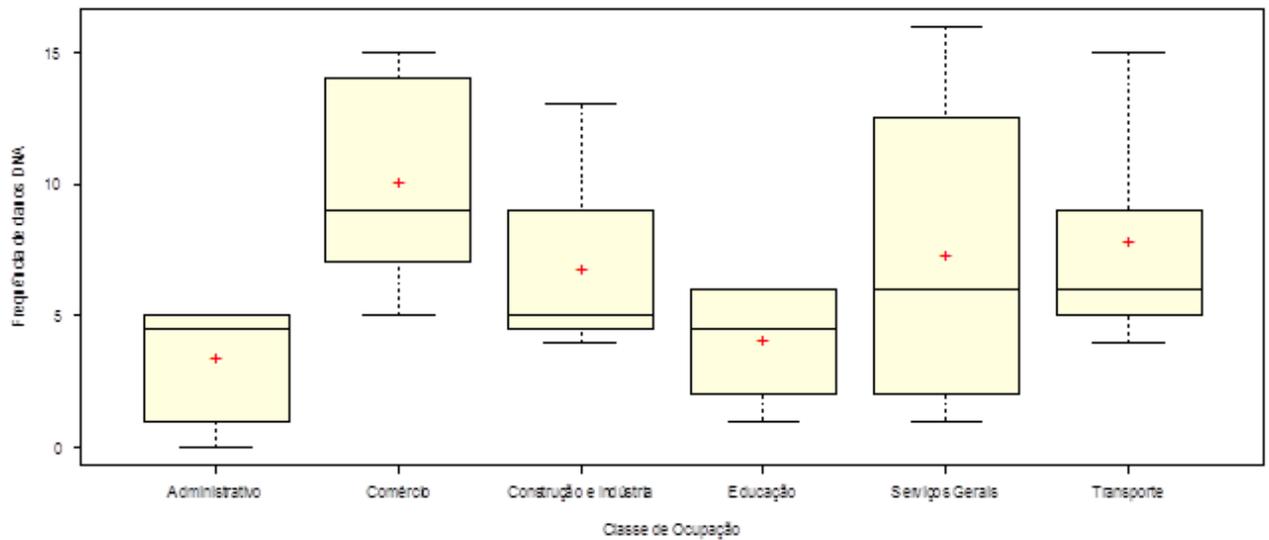


Figura 17: *Boxplot* com a ocorrência da frequência de danos no DNA em cada classe de ocupação, no momento depois.

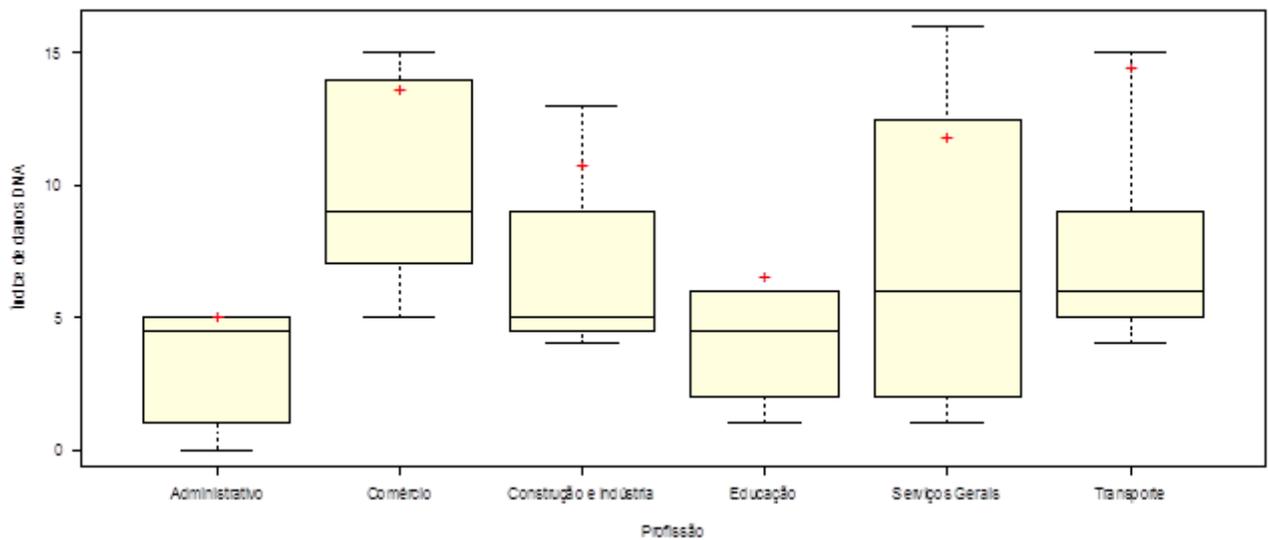


Figura 18: *Boxplot* com o índice de danos no DNA em cada classe de ocupação, no momento depois.

A classe Indústria e construção apresentou os maiores valores de concentração de partículas e dose em comparação as demais analisadas. No entanto, não apresentou as maiores FD e ID. A classe Transporte foi a que apresentou os maiores danos ao DNA (FD e ID), indicando que partículas, principalmente as finas e ultrafinas geradas pela combustão veicular possuem maior genotoxicidade, quando comparadas com partículas geradas principalmente por fontes diversas, como da construção civil. Isso também evidencia a relevância da composição química do material particulado nos efeitos a saúde.

Duez et al. (2002) propõe a realização do teste de Kruskal-Wallis para comparar grupos de amostras de indivíduos que passaram pelo teste do cometa. Desta forma, foi

aplicado o teste aos dados de FD para verificação se as diferenças observadas entre as classes são estatisticamente significativas. A significância foi testada considerando significativo $*p < 0,05$. O setor Administrativo foi assumido como grupo controle, por apresentar menos danos no DNA quando comparado aos demais. Os resultados dos grupos ou classe de ocupação em relação ao grupo controle (Classe Administrativo) são apresentados na figura 18.

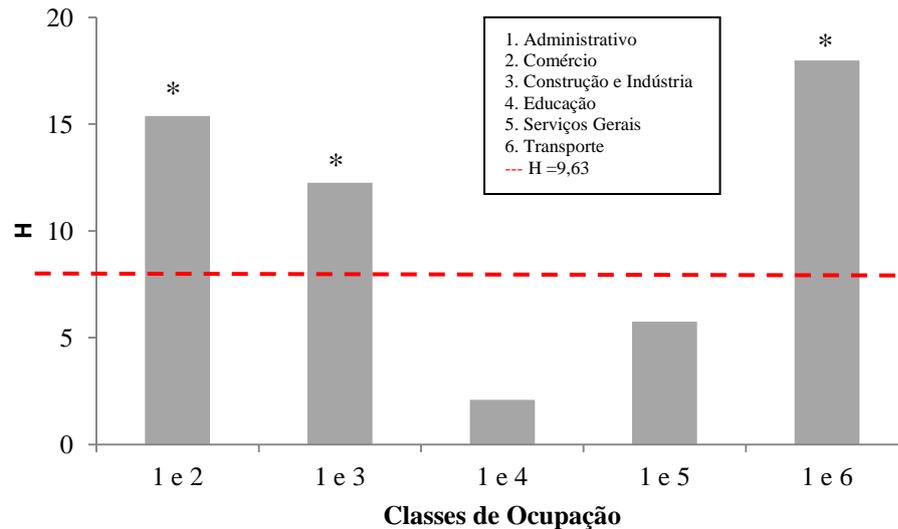


Figura 19: Comparação da Frequência de Dano em células de mucosa bucal de humanos expostos à material particulado atmosférico por 8 horas. A linha tracejada vermelha indica o limiar da diferença crítica calculado no teste Kruskal-Wallis.

Segundo a figura 19 os grupos com maior diferença observada do que a diferença crítica calculada no teste ($H = 9,63$) quando comparadas com o grupo controle (1) são os grupos com diferenças significativas na FD. Estas são Comércio; Construção e Indústria; Transporte. Estes resultados são coerentes considerando que essas atividades apresentaram maiores concentração de partículas, principalmente das finas. É importante lembrar que na composição química do material particulado, principalmente o fino de origem veicular, há compostos químicos como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, metais tóxicos, *black carbon* que são conhecidamente tóxicos e/ou genotóxicos.

Conhecendo as classes que apresentaram diferenças significativas em relação ao controle, estas podem ser investigadas considerando um número maior de indivíduos por classe a fim de mensurar melhor os possíveis danos associados ao material particulado atmosférico.

Não se pode generalizar estes resultados para todos os representantes das classes de ocupação da cidade de Londrina por se tratar de um estudo em escala piloto, utilizando apenas 30 voluntários.

4.4 Genotoxicidade e exposição ao material particulado

4.4.1 Análise Descritiva

A análise estatística descritiva de todos os dados obtidos encontra-se na tabela 8. Podemos observar a grande variabilidade dos dados. A concentração em massa máxima obtida para o MP₁₀ teve valores muito elevados e por isso, a média também foi elevada. A mediana é mais adequada para caracterizar a amostra.

Tabela 8: Análise descritiva das variáveis numéricas.

Variáveis	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio	CV (%)*
<i>Antes</i>	0	13	3	3,7	3,3	89,6
FD <i>Depois</i>	0	16	5	6,3	4,4	69,8
<i>Antes</i>	0	34	3	6,0	7,2	119,7
ID <i>Depois</i>	0	32	7	10,0	8,0	79,9
Idade	20	61	28	33	12	37
Massa MP_{1,0}	2,40	34,07	11,18	13,60	7,77	57,16
Massa MP_{2,5}	4,20	267,49	19,62	31,07	49,73	160,04
Massa MP_{4,0}	7,90	1090,62	29,47	88,77	232,00	261,33
Massa MP₁₀	23,10	7147,18	57,99	433,53	1470,77	339,26
Número MP_{0,3}	14,20	183,03	65,18	76,55	42,25	0,06
Número MP_{0,5}	1,60	63,28	6,12	9,48	13,23	0,14
Número MP_{1,0}	0,33	39,82	0,90	3,58	9,75	0,27
Número MP_{2,5}	0,06	27,63	0,24	1,80	5,87	0,33
Dose recebida	23,20	8058,24	70,07	479,37	1639,87	342,09

*C.V.= coeficiente de variação.

As variáveis ID e FD no momento depois eram maiores do que no momento antes, mostrando que houve danos no DNA durante as 8 horas de medidas.

Os coeficientes de correlação de Pearson das concentrações em massa e número obtidos entre as variáveis são mostrados na tabela 9. A correlação entre dose recebida e massa de MP₁₀ é elevada, devido a presença dessa variável no cálculo da anterior. A concentração

em número de MP_{2,5} também apresentou forte correlação com a massa de MP₁₀. Não foi encontrada nenhuma correlação negativa entre as variáveis. Vale mencionar que os valores de FD e ID usados para o cálculo da correlação de Pearson correspondiam tanto ao momento antes quanto ao momento depois.

Tabela 9: Matriz de correlação entre as variáveis.

	FD	ID	Massa a MP 1,0	Massa a MP 2,5	Massa MP 4,0	Massa a MP 10	Número MP 0,3	Número MP 0,5	Número MP 1,0	Número MP 2,5	Dose recebida
FD	1,0										
ID	0,9	1,0									
Massa MP 1,0	0,1	0,1	1,00								
Massa MP 2,5	0,0	0,0	0,60	1,00							
Massa MP 4,0	0,0	0,0	0,45	0,97	1,00						
Massa MP 10	0,1	0,1	0,26	0,78	0,90	1,00					
Número MP 0,3	0,1	0,1	0,97	0,49	0,37	0,26	1,00				
Número MP 0,5	0,1	0,1	0,56	0,97	0,98	0,89	0,49	1,00			
Número MP 1,0	0,1	0,1	0,38	0,92	0,98	0,96	0,32	0,97	1,00		
Número MP 2,5	0,1	0,1	0,28	0,81	0,92	0,99	0,27	0,92	0,97	1,00	
Dose recebida	0,1	0,1	0,25	0,77	0,89	0,99	0,26	0,88	0,95	0,99	1,00

A análise descritiva fornece uma ideia geral dos dados e das possíveis correlações lineares entre as variáveis, porém é insuficiente para uma avaliação das associações entre as variáveis. Desta forma, na sequência são apresentados os resultados da análise de regressão realizada.

4.4.2 Análise de Regressão

Como variáveis respostas, em cada um dos modelos gerados, foram utilizados dados de frequência de danos (FD) e índice de danos (ID) para os momentos antes (A) e depois (D) da amostragem.

As variáveis independentes em todos os modelos foram profissão, concentração em massa de $MP_{1,0}$, $MP_{2,5}$ e MP_{10} ; concentração em número de partículas nos tamanhos $MP_{0,3}$, $MP_{0,5}$, $MP_{1,0}$ e $MP_{2,5}$; e a dose recebida calculada.

Na sequência são apresentados os resultados da análise de regressão para a variável resposta FD e depois para o ID.

Frequência de Danos

No momento A, o modelo que melhor se ajustou aos dados, dentre os testados, foi com base na distribuição de Poisson. As variáveis independentes que apresentaram associação foram a ocupação e a concentração em número no tamanho $MP_{2,5}$, para $p=0,05$. Quando se obtém resultados positivos de associação da variável resposta com as independentes o bom ajuste do modelo não é garantido, pois existem indícios da ocorrência de superdispersão nos dados.

Para que o modelo seja adequado aos dados, o desvio gerado pelo modelo deve ser próximo ao número de graus de liberdade (TADANO et al., 2009). Para este caso, o desvio obtido foi de 55,89 em 16 graus de liberdade. Isso pode ser observado no *half normal plot*, apresentado na figura 20.

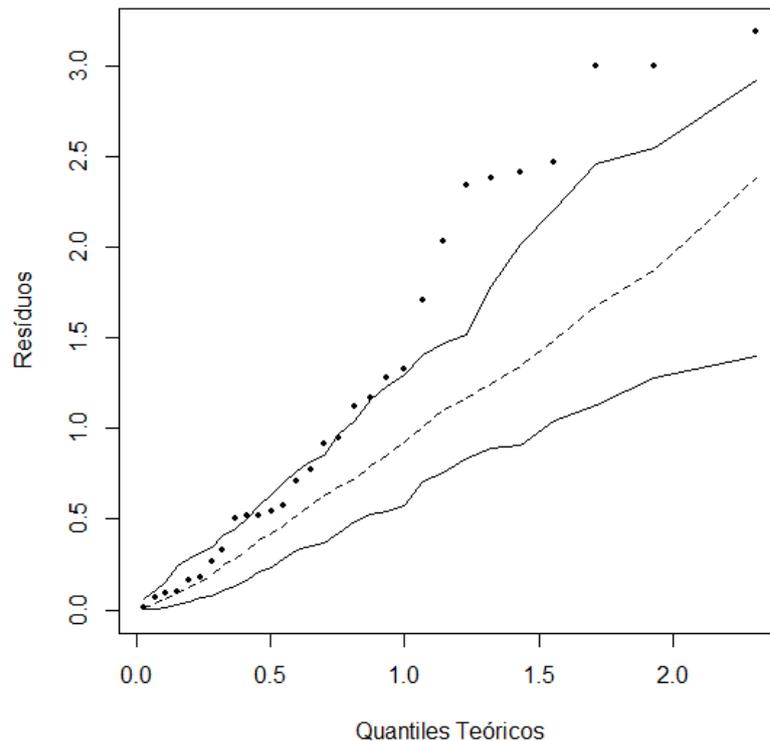


Figura 20: *Half normal plot* referente ao modelo ajustado aos dados do momento A com o uso da distribuição de Poisson.

No momento D, o melhor ajuste foi o do modelo de regressão com distribuição Binomial Negativa, com o desvio obtido de 255,26 em 16 graus de liberdade. Para $p=0,05$, as variáveis que apresentaram associação com a variável FD foram a concentração em número de $MP_{0,3}$ e $MP_{0,5}$. Acredita-se que este modelo foi o que teve melhor ajuste devido à grande superdispersão dos dados e isto pode ser observado na figura 21 abaixo.

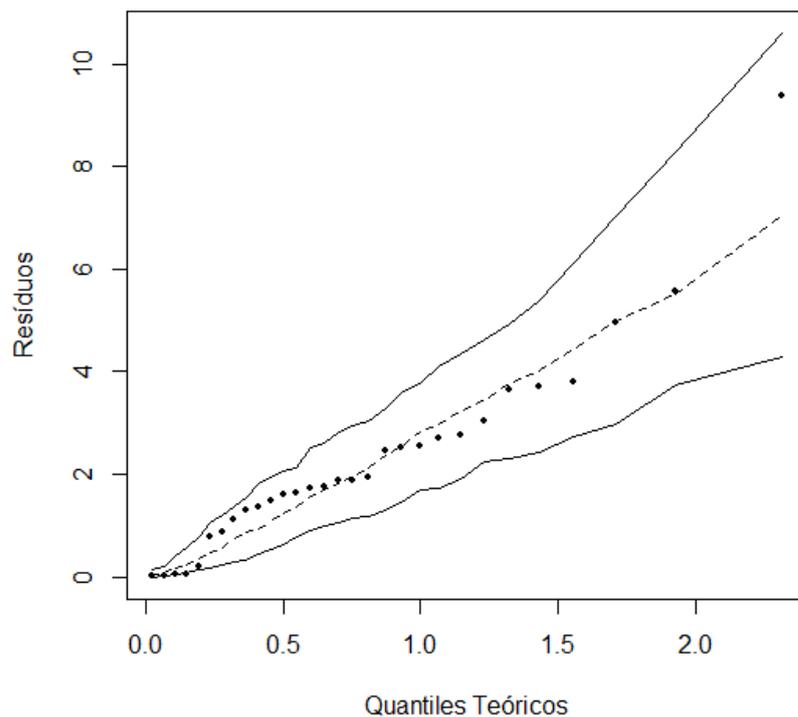


Figura 21: *Half normal plot* referente ao modelo ajustado aos dados do momento D com o uso da distribuição Binomial Negativa.

Os valores encontrados de AIC (Critério de Informação de Akaike), mostrados na tabela 9 concordam com as análises, mostrando que o modelo Poisson é mais adequado para o momento A. Para o momento D, a análise gráfica não concordou com este critério, pois para este, o modelo com base na distribuição Binomial Negativa foi o mais adequado, enquanto que para o AIC o mais adequado foi o modelo de Poisson. No entanto, os valores de AIC obtidos em ambos os modelos são muito próximos. O modelo Quasi-Poisson também foi testado, mas não apresentou melhor ajuste, sendo que este não possui valor de AIC.

Tabela 10: Valores de AIC para os modelos de regressão.

Modelo	AIC	
	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>
Poisson	165,05	174,52
Binomial		
Negativa	172,10	175,81

Índice de Danos

No momento A, o modelo que melhor se ajustou aos dados, dentre os testados, foi o de Poisson. As variáveis independentes que apresentaram associação foram a classe e a concentração em número no tamanho $MP_{0,5}$ e $MP_{2,5}$, para $p=0,05$. O desvio obtido foi de 94,46 em 16 graus de liberdade.

Os três modelos que foram testados não se mostraram adequados por estarem localizados praticamente todos fora do envelope, mas Poisson foi o que mostrou alguns dados dentro do envelope do *half normal plot*, mostrado na figura 22.

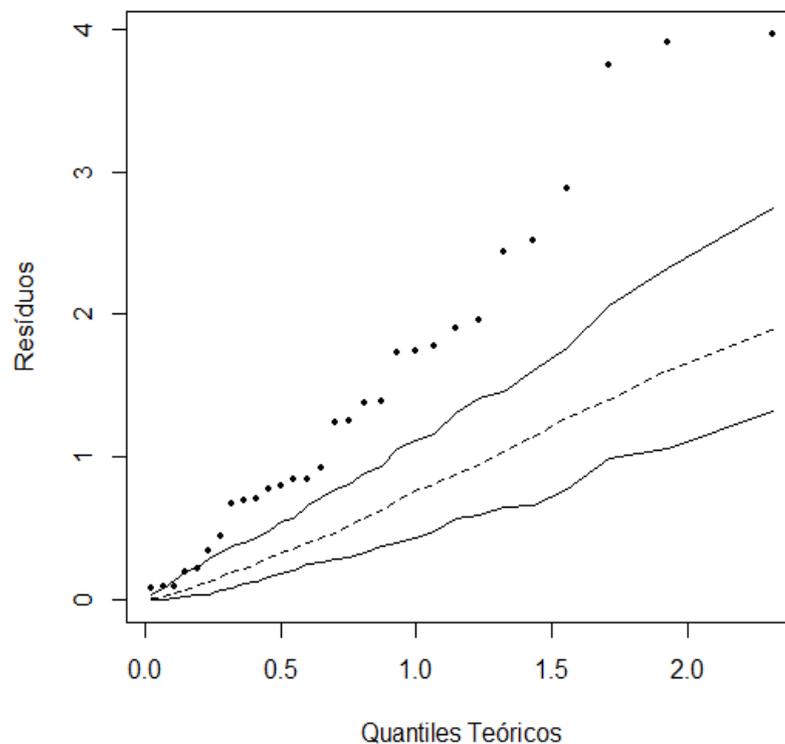


Figura 22: *Half normal plot* referente ao modelo ajustado aos dados do momento A com o uso da distribuição de Poisson.

No momento D, o melhor ajuste foi o do modelo Binomial Negativo, com o desvio obtido de 35,05 em 16 graus de liberdade, como mostra a figura 22. Para $p=0,05$, as variáveis que apresentaram associação com a variável ID foram a concentração em número de $MP_{0,3}$ e $MP_{1,0}$, e em massa de $MP_{1,0}$ e $MP_{2,5}$. Se considerássemos $p=0,10$, por exemplo, mais variáveis mostrariam associação positiva com as variáveis ID e FD.

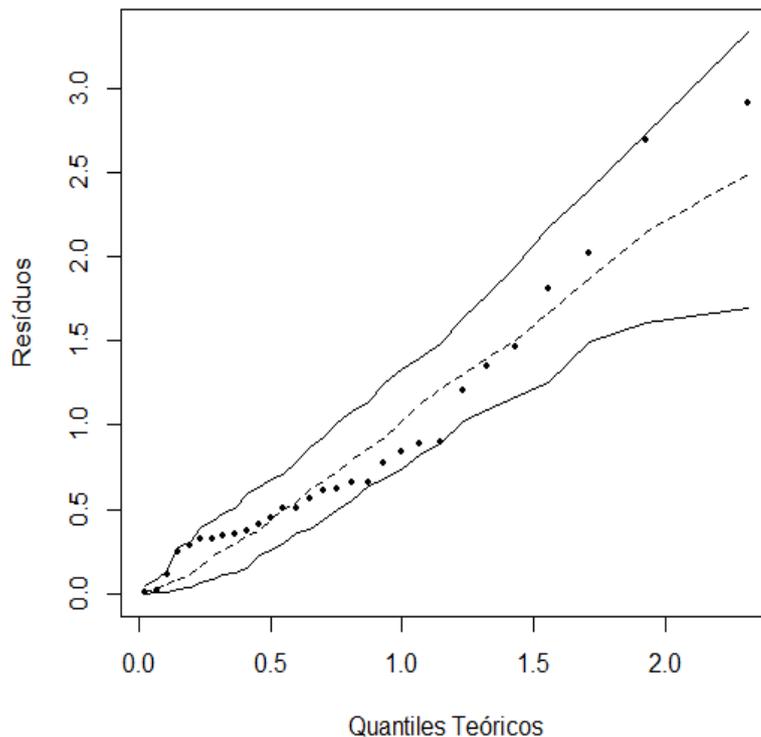


Figura 23: *Half normal plot* referente ao modelo ajustado aos dados do momento D com o uso da distribuição de Binomial Negativa

Analisando os valores encontrados de AIC na tabela 11, as análises gráficas concordam com este critério, mostrando que o modelo Poisson é o mais adequado para o momento A e Binomial Negativa para o momento D.

Tabela 11: Valores de AIC para os modelos de regressão.

Modelo	AIC	
	Antes	Depois
Poisson	174,52	277,64
Binomial Negativa	175,81	209,47

Segundo Paula (2004) o modelo Binomial Negativo contém um parâmetro de distribuição que corrige a variabilidade dos dados, que em geral ocorre em amostras ambientais.

Associação entre as variáveis

São mostrados abaixo, na tabela 12, os valores de coeficiente beta, também conhecido como coeficiente de regressão, calculado em cada modelo, para cada variável usada como dependente. Ele é utilizado para calcular o risco relativo atribuído a cada variável dependente (TADANO et al., 2009).

Tabela 12: Valores do coeficiente β (beta) calculados para os modelos que apresentaram melhor ajuste.

Variável	FD		ID	
	<i>Antes</i> Poisson	<i>Depois</i> Binomial Negativa	<i>Antes</i> Poisson	<i>Depois</i> Binomial Negativa
Comércio	0,434	7,449	0,462	7,449
Construção e Indústria	0,226	1,380	0,089	1,380
Educação	-0,121	1,383	-0,404	1,383
Serviços Gerais	0,095	3,336	0,014	3,336
Transporte	0,869	3,398	1,004	3,398
Massa MP _{1,0}	0,479	0,696	0,765	0,696
Massa MP _{2,5}	-0,255	-0,644	-0,496	-0,644
Massa MP ₁₀	-0,008	0,152	-0,002	0,152
Número MP _{0,3}	0,000	0,000	0,000	0,000
Número MP _{0,5}	0,000	0,001	-0,001	0,001
Número MP _{1,0}	0,004	0,006	0,007	0,006
Número MP _{2,5}	-0,006	-0,021	-0,011	-0,021
Dose Recebida	0,013	-0,088	0,016	-0,088

As variáveis Número e Massa de MP_{2,5}, mostraram associação negativa nos dois modelos testados, tanto no momento antes quanto no momento depois. A profissão (Educação) apenas no momento antes, para o modelo de regressão de Poisson mostrou associação negativa.

O modelo Binomial Negativo mostrou associação positiva das variáveis de Profissão com os danos no DNA.

Jung et al (2012) encontraram que o extrato orgânico extraído do MP₁₀ tem efeitos genotóxicos em células normais do pulmão humano. Neste trabalho piloto e exploratório

foram encontradas evidências de genotoxicidade causadas pelo MP às células bucais dos voluntários, especialmente aqueles de menor tamanho. Esses resultados concordam com os encontrados em trabalhos similares que compararam pessoas em diferentes níveis de exposição de poluentes, e que apresentaram evidências que poluentes industriais ou urbanos tem efeitos genotóxicos nas células da mucosa bucal (GILLI et al., 2007). Embora, no presente trabalho a metodologia utilizada para mensurar os danos ao DNA seja diferente os resultados indicaram que o teste utilizado é capaz de detectar esses danos.

4.5 Modelo de deposição pulmonar

Foram inseridos no modelo de deposição pulmonar MPPD os dados de concentrações em massa de médio, máximo e mínimo medidos dos 30 voluntários do estudo. Os parâmetros necessários ao modelo sobre as características do trato respiratório considerado no estudo, neste caso adultos, foram mencionados anteriormente na metodologia (item 3.6).

O perfil de deposição pulmonar gerado para os dados de exposição pessoal para o voluntário que apresentou a menor, a média e a máxima concentração do grupo no período de amostragem estão ilustrados nas figuras 24 a 26, respectivamente.

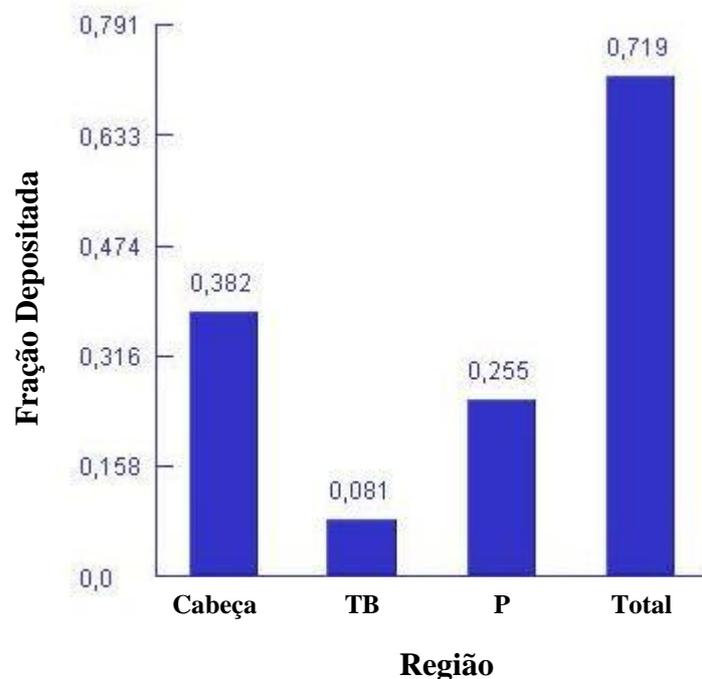


Figura 24: Deposição pulmonar para o voluntário com concentração em massa mínima (V16). TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.

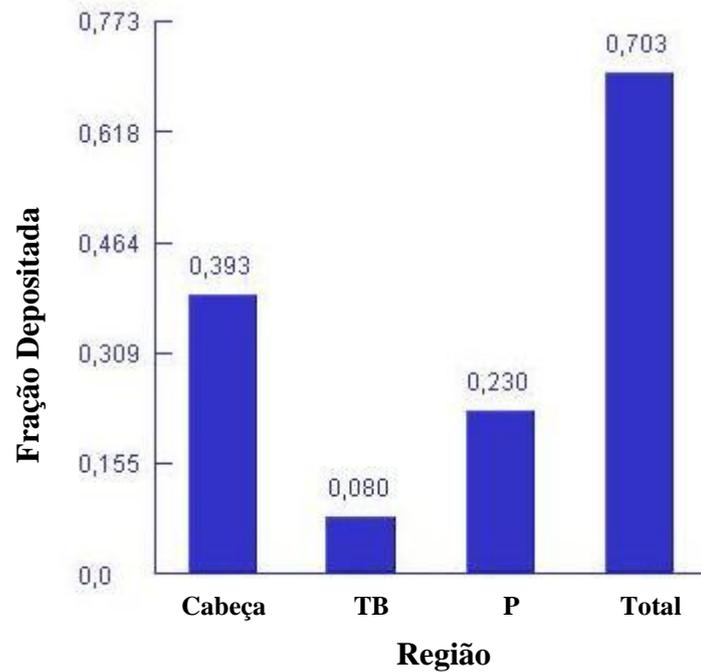


Figura 25: Deposição pulmonar para o voluntário com concentração em massa média (V6). TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.

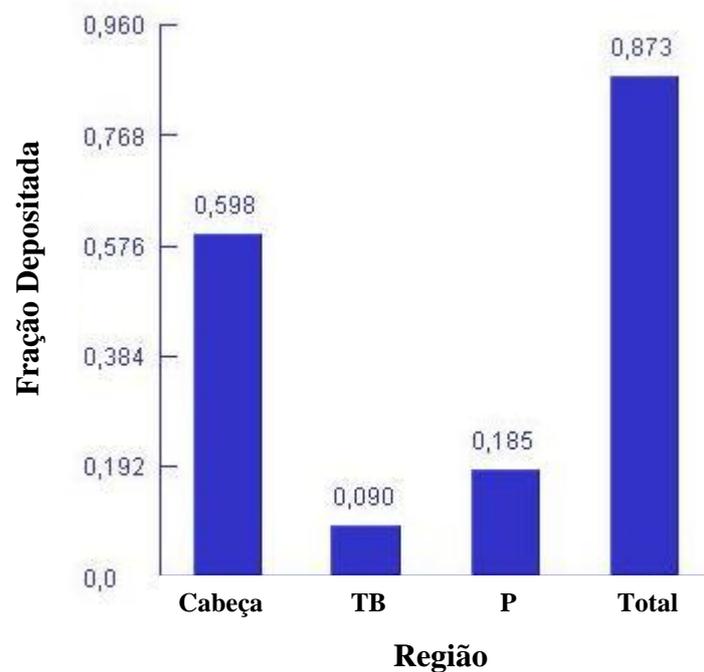


Figura 26: Deposição pulmonar para o voluntário com concentração em massa máxima (V17). TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.

Observa-se que a maior fração de partículas ficam retidas na região superior do trato respiratório, principalmente das partículas grossas, enquanto que as finas na região pulmonar

(P), como esperado. De acordo com o teste de sensibilidade mostrado na Figura 24, para este caso onde o diâmetro médio era de $2,5 \mu\text{m}$, na região pulmonar ficam retidas cerca de 25% das partículas, 8% na região traqueobronquial e cerca de 38% na cabeça. Nesta situação, a concentração em massa média era de $0,04 \text{ mg m}^{-3}$. Na Figura 25 o comportamento é muito semelhante ao anteriormente descrito, já que o diâmetro médio também era de $2,5 \mu\text{m}$, porém, a concentração era de $0,14 \text{ mg m}^{-3}$. Isso mostra que em diâmetros menores, a fração depositada no trato respiratório mais interno é maior. Mesmo com a concentração mais elevada, quando comparado ao caso de concentração mínima, as frações retidas no pulmão são similares.

Para o caso mostrado na Figura 26, onde o diâmetro médio predominante é de $4,0 \mu\text{m}$, por volta de 9% das partículas ficam retidas na região traqueobronquial, 60% na região da cabeça e uma fração da ordem de 20% atinge o pulmão. Para este caso, a concentração em massa média era de $7,45 \text{ mg m}^{-3}$. Mesmo sendo mais elevada do que a dos casos anteriores, a fração depositada na região pulmonar é menor, mostrando a relação entre diâmetro da partícula e deposição - em diâmetros maiores a deposição é maior na região da cabeça. Os resultados, portanto, evidenciam a relevância do tamanho das partículas para a saúde.

Quando foram modificados no modelo os dados de concentração, inserindo as concentrações obtidas na amostragem ambiental não utilizando o modo *single*, obtiveram-se os seguintes resultados, mostrados nas figuras 27 e 28.

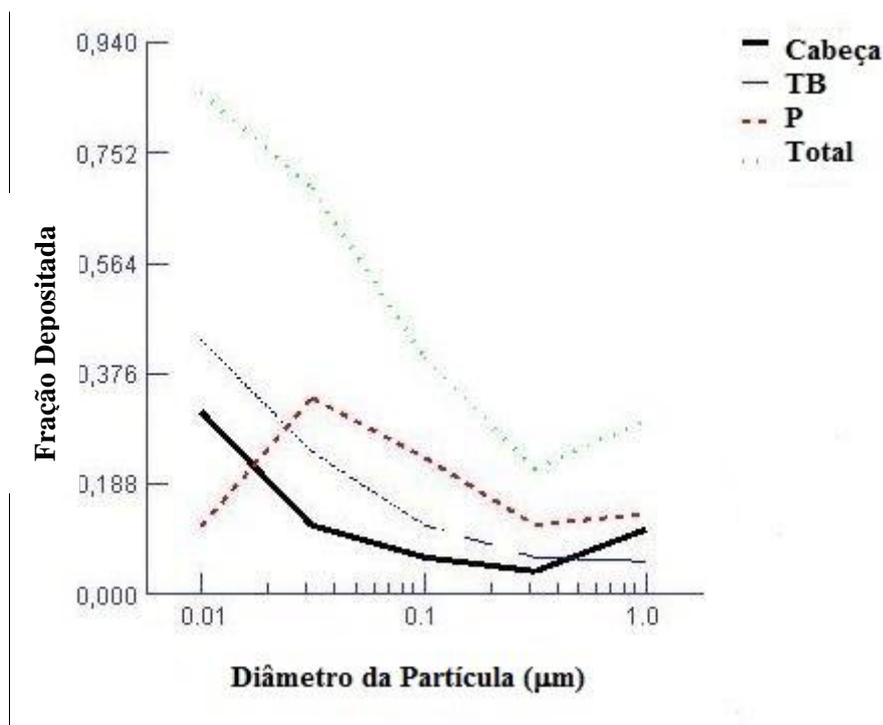


Figura 27: Deposição pulmonar para concentração média em massa de MP_{2.5}. TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.

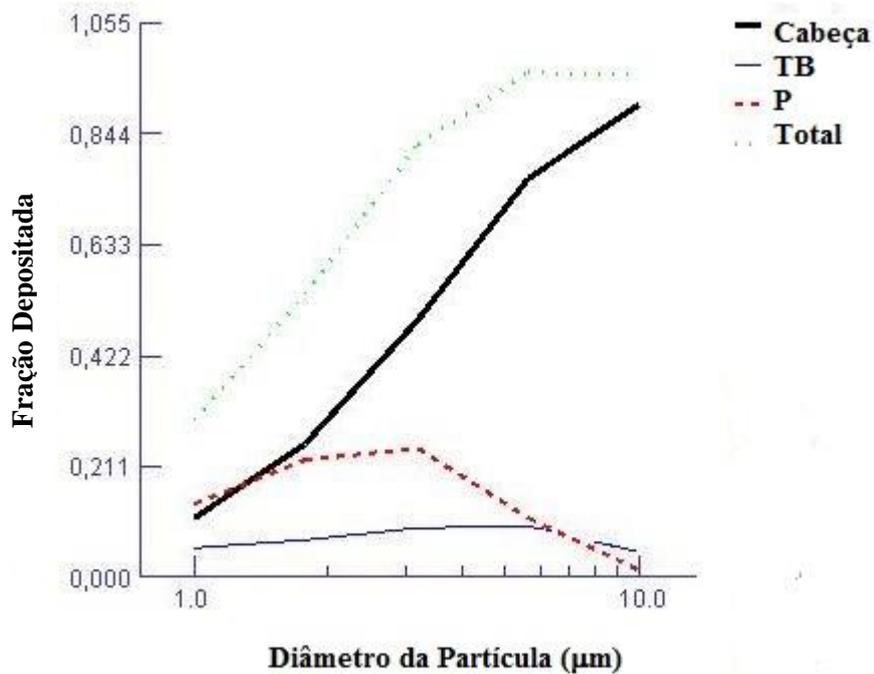


Figura 28: Deposição pulmonar para concentração média em massa de MP_{10} . TB = Tráqueo-bronquial/ P= Pulmão.

Observa-se que para a fração fina, as frações de deposição na região do pulmão são maiores do que para a fração grossa.

Utilizando dados ambientais e o modo *multiple*, o software mostra diferenças entre as diferentes concentrações. Operando neste modo, o modelo estima o comportamento das frações menores, incluídas dentro desta faixa de diâmetro.

É importante mencionar que para a obtenção de resultados coerentes, o programa deve ser usado de forma adequada.

4.6 Comentários Gerais

Uma das grandes dificuldades de execução do trabalho foi a seleção de voluntários na cidade de Londrina. Nem todas as pessoas aceitaram utilizar a mochila com os equipamentos e muito menos a coleta de mucosa bucal. Isso pode ser atribuído ao receio das pessoas em portar os equipamentos, uma vez que apresentam custo relativamente elevado, ao baixo grau de informação e escolaridade da população e aos critérios de exclusão (ser tabagista, ser alcoólatra e fazer uso de medicamentos para pressão). Além disso, a ausência de pesquisas relacionadas ao tema no país.

Existe uma grande lacuna entre a universidade e a comunidade. Se fazem necessárias estratégias para melhorar a divulgação científica para a população.

As classes de voluntários foram criadas baseado nas classes definidas pelo IPARDES. Deve ficar claro que os resultados aqui obtidos não necessariamente representam a população ocupada pelas classes na cidade. Para que isso fosse possível, seriam necessários voluntários com perfis mais homogêneos e condições de exposição similares. A grande heterogeneidade do grupo foi um dos vieses de confusão do trabalho.

Para a representatividade da população trabalhadora de Londrina é necessário um número maior de voluntários, mas isso requer uma equipe maior e bem preparada, contando com profissionais da saúde inclusive. Além disso, é necessário um maior investimento financeiro.

O ensaio do cometa investigou a possibilidade de o poluente material particulado atmosférico estar relacionado a danos na molécula de DNA das células bucais das pessoas. Estudos recentes (ROCHA et al., 2014) têm mostrado que outros fatores podem causar dano também, como por exemplo, o uso de antisséptico bucal pelos voluntários, o qual neste trabalho não foi analisado. Mesmo que para a análise utilizando os modelos lineares generalizados o poluente tenha sido associado à presença desses danos, se fazem necessárias mais investigações e estudos para afirmar qualquer hipótese.

Os resultados obtidos no trabalho fornecem indicativos coerentes com a literatura da associação do material particulado atmosférico com danos à saúde (OSTRO e CHATNUT, 1998; HARRISON e YIN, 2000; COELHO e SALDIVA, 2011). É importante salientar que há diferença estatisticamente significativa da FD das classes Comércio; Construção e Indústria; Transporte em relação ao controle. Além disso, os resultados fornecem subsídios importantes para a realização de novos estudos em maior escala, visando obter a validade externa dos resultados.

5. CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho mostram que é viável a realização de amostragem pessoal de poluentes atmosféricos em diferentes condições de exposição, porém recursos humanos e financeiros são agentes limitantes importantes.

As concentrações em massa médias para o $MP_{1,0}$, $MP_{2,5}$, $MP_{4,0}$ e MP_{10} encontradas para a população de 30 indivíduos voluntários foi de 433,53, 88,77, 31,07 e 13,60 $\mu\text{g m}^{-3}$ respectivamente.

As concentrações em número encontradas para o $MP_{0,3}$, $MP_{0,5}$, $MP_{1,0}$ e $MP_{2,5}$ foram de 80,24, 10,44, 4,22 e 2,75 partículas cm^{-3} , respectivamente. A classe de ocupação com concentrações mais semelhantes às médias foi a Transporte.

A classe de ocupação que apresentou maior dose recebida de MP_{10} , no período de 8 horas foi a Construção e Indústria e a menor foi o Administrativo.

Em relação à genotoxicidade, o grupo com menos danos de DNA foi o Administrativo e o grupo com maior quantidade de danos foi o Comércio, porém as classes Construção e Indústria e Transporte mostraram diferença significativa em relação ao controle.

O software Multiple-Patch Particle Dosimetry mostrou-se adequado para a simulação da deposição pulmonar tanto em dados pessoais quanto ambientais, concordando com a literatura ao estimar que partículas menores atingem mais profundamente o trato respiratório.

Nos voluntários onde o diâmetro predominante das partículas era menor, a fração depositada no pulmão foi da ordem de 23 %, enquanto que quando o diâmetro predominante foi de 4,0 μm , a fração depositada foi de 18%, embora a concentração em massa fosse maior. Para as concentrações ambientais, o comportamento é o mesmo - partículas maiores retidas nas áreas mais externas e partículas menores nas regiões mais internas do trato respiratório.

O modelo Binomial Negativo apresentou melhor ajuste para os dados obtidos através de medidas pessoais, comparado ao modelo de Poisson. Quando a resposta são os danos no DNA, para $p=0,05$, as variáveis que apresentaram associação positiva foram concentração em número de $MP_{0,3}$, $MP_{0,5}$, classe de ocupação, concentração em massa de $MP_{0,5}$, $MP_{1,0}$, $MP_{2,5}$ e MP_{10} .

Através das análises e testes realizados no presente trabalho, pode-se concluir que há associação positiva entre o material particulado atmosférico e os danos no DNA mensurados pelo Teste do Cometa de genotoxicidade.

As concentrações encontradas para cada classe de ocupação são muito variáveis e para um resultado mais robusto e que represente a população da cidade de Londrina, são necessários estudos posteriores, utilizando uma população maior e mais homogênea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE. M. F., MIRANDA. R. M., FORNARO. A., KERR. A., OYAMA. B., DE ANDRADE. P. A., SALDIVA., P. H. N. Vehicle Emissions and PM_{2.5} Mass Concentration in Six Brazilian Cities. *Air Quality. Atmosphere & Health*. v.1. n.5. p.79-88. 2012.

ARBEX. M. A. SANTOS. U. DE P. S., MARTINS. L. C., SALDIVA. P. H. N., PEREIRA. L. A. A., BRAGA. A. L. F. A Poluição do Ar e o Sistema Respiratório. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. v. 38. n. 5. p. 643-655. 2012.

ARBEX. M. A., SANTIAGO. S. L., MOYSES. E. P., PEREIRA. L. A., SALDIVA. P. H., BRAGA. A. L. F. Impact of Urban Air Pollution on Acute Upper Respiratory Tract Infection. Annual Congress 2011 – Air pollution.

ASGHARIAN. B., HOFMANN. W., BERGMANN. R.. Particle Deposition in a Multiple-Path Model of the Human Lung. *Aerosol Sci. Technol.* 34:332-339. 2001.

BAKONYI. S. M. C., DANNI-OLIVEIRA. I. M. MARTINS. L. C., BRAGA. A. L. F. Poluição Atmosférica e Doenças Respiratórias em Crianças na Cidade de Curitiba. Paraná. *Revista Saúde Pública*. v. 38. n.5. p. 695-700. 2004.

BERNSTEIN, J.A., ALEXIS, N., BARNES, C., BERNSTEIN, I.L., NEL, A., PEDEN, D., DIAZ-SANCHEZ, D., TARLO, S.M., WILLIAMNS, B.P. Health effects of air pollution. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. V.114. n. 5. p. 1116-1123. 2004.

BOHREN. C.F., HUFFMAN. D.R. Absortion and scattering of light by small particles. John Wiley & Sons. 2008.

BOZDONGAN. H. Model selection and Akaike's Information Criterion (AIC): The general theory and its analytical extensions. *Psychometrika*. v.52. n.3. 345-370. 1987.

BRITO. J.. RIZZO. L.V.. HERCKES. P.. VASCONCELLOS. P.C.. CAUME. S.E.S.. FORNARO. A.; YNOUE. R.Y.; ARTAXO. P.; ANDRADE. M.F. Physical-chemical characterization of the particulate matter inside two road tunnels in the São Paulo Metropolitan Area. *Atmospheric Chemistry and Physics*. v.13. p.12199-12213. 2013.

BROWN, J. H., COOK, K. M., NEY, F. G., HATCH, T. Influence of Particle Size upon the Retention of Particulate Matter in the Human Lung. *American Journal of Public Health and the Nations Health*, v. 40, n. 4, p. 450-480, 1950.

BUONANNO. G.; STABILE. L.; MORAWSKA. L. Personal exposure to ultrafine particles: The influence of time-activity patterns. *Science of the Total Environment*. v.468-469. p. 903-907. 2014.

CARVALHO. J. A. M. de. Crescimento populacional e estrutura demográfica no Brasil. Texto para discussão nº 227. 2004.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Poluentes. Disponível em: <<http://ar.cetesb.sp.gov.br/poluentes/>>.

COELHO. M. DE S. Z. S.; SALDIVA. P. H. N. Use of the “Urban Air Index” to Estimate Morbidity and Mortality in Large Cities: Case Study São Paulo. Brazil. 19th Congress International of 442 Biometeorology. Auckland. 2011.

COELHO. M. DE S. Z.; GONÇALVES. F. L. T.. LATORRE. M. R. D. DE O. Statistical Analysis Aiming at Predicting Respiratory Tract Disease Hospital Admissions from Environmental Variables in the City of São Paulo. Journal of Environmental and Public Health. v. 2010. p. 11. 2010.

COHEN, A. J., ANDERSON, H. R., OSTRO, B., PANDEY, K. D., KRZYZANOWSKI, M., KÜNZLI, N., and SMITH, K. R. Urban air pollution. Comparative quantification of health risks. v. 2. p. 1353-1433. 2004.

COLBECK. I. Environmental chemistry of aerosols. Reino Unido. 2008.

COLLINS, A. R. The comet assay for DNA damage and repair. Molecular biotechnology, v. 26, n. 3, p. 249-261, 2004.

CONCEIÇÃO. G.M.S.; SALDIVA. P.H.N.; SINGER. J.M. Modelos MLG E MAG para análise da associação entre poluição atmosférica e marcadores de morbi-mortalidade: Uma introdução baseada em dados da cidade de São Paulo. Revista Brasileira de Epidemiologia. v. 4. n. 3. 2001.

CORDEIRO. G. M. Modelos Lineares Generalizados. Simposio Nacional de Probabilidade e Estatística. v. 7. p.1-23. 1986.

DA SILVA. C. B. P.. SALDIVA. P. H. N.. AMATA-LOURENÇO. L. F.. RODRIGUES-SILVA. F.. MIRAGLIA. S. G. E. Evaluation of The Air Quality Benefits of The Subway in São Paulo. Brazil. Journal of Environmental Management. v. 101. p. 191-196. 2012.

DETRAN – DEPARTAMENTO ESTADUAL DE TRÂNSITO DO PARANÁ. Frota de Veículos. Disponível : <<http://www.detran.pr.gov.br/>>. Acesso em: 20.01.16

DOCKERY, D.W., SCHWARTS, J., SPENGLER, J.D. Air pollution and daily mortality: associations with particulates and acid aerosols. Environmental Research. v.59.n.2. p.362-373. 1992.

DONALDSON, K., BROWN, D., CLOUTER, A., DUFFIN, R., MACNEE, W., L. RENWICK, TRAN, L., and STONE, V. The pulmonary toxicology of ultrafine particles *Journal of Aerosol Medicine*, v.15.n.2. p. 213–220. 2002.

GILLI, G., TRAVERSI, D., ROVERE, R., PIGNATA, C., SCHILIRÒ, T. Chemical characteristics and mutagenic activity of PM₁₀ in Torino, a Northern Italian City. *Science Total Environment* v.385. p. 97–107. 2007.

GÖETHEL, G.; BRUCKER, N.; MORO, A. M.; CHARÃO, M. F.; FRACASSO, R.; BARTH, A.; BUBOLS, G.; DURGANTE, J.; NASCIMENTO, S.; BAIERLE, M.; SALDIVA, P. H. e GARCIA, S. C. Evaluation of genotoxicity in workers exposed to benzene and atmospheric pollutants. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. v. 770. p. 61-65. 2014.

GULLIVER, J. e BRIGGS, D.J. Personal exposure to particulate air pollution in transport microenvironments. *Atmospheric Environment*. v. 38. n. 1. p. 1-8. 2004.

HARRISON, R.M. and YIN, J. Particulate matter in the atmosphere: which particle properties are important for its effects on health? *Science of the Total Environment*. v.249. p. 85-101. 2000.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sala de imprensa: Estimativas Populacionais dos Municípios em 2011. IBGE.2011. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 20.03.14

JUNG, M.H., KIM, H.R., PARK, Y.J., PARK, D.S., CHUNG, K.H., OH, S.M. Genotoxic effects and oxidative stress induced by organic extracts of particulate matter (PM₁₀) collected from a subway tunnel in Seoul, Korea. *Mutation Research*. v.749. p.39–47. 2012.

KAMPA, M., CASTANAS, E. Human health effects of air pollution. *Environmental Pollution*. v. 151. n. 5. p. 362-367. 2008.

KIM, K., KABIR, E., KABIR, S. A review on the human health impact of airborne particulate matter. *Environment international*, v. 74, p. 136-143, 2015.

KOEHLER, K.A., PETERS, T.M. New Methods for Personal Exposure Monitoring for Airborne Particles. *Air Pollution and Health*. 2015.

KÜNZLI, N., KAISER, R., MEDINA, S., STUDNICKA, M., FILLIGER, P., HERRY, M., HORAK JR, F., PUYBONNIEUX-TEXIER, V., QUÉNEL, P., SCHENEIDER, J., SEETHALER, R., VERGNAUD, J.C. and SOMMER, H. Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: a European assessment. *The Lancet*. v. 356. n. 9232. p. 795-801. 2000.

LI, N., XIA, T., NEL, A. E. The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 44, n. 9, p. 1689-1699, 2008.

LITTELL. R. C.; MILLIKEN. G. A. STROUP. W. W & WOLFINGER. R. D. SAS System for Mixed Models. Cary: Statistical Analysis System Institute. p.633. 2002.

MARTINS. L.D.. MARTINS. J.A.. FREITAS. E.D.. MAZZOLI. C.R.. GONÇALVES. F.L.T.. YNOUE. R.Y.. HALLAK. R.. ALBUQUERQUE. T.T.A.. ANDRADE. M.F... Potential health impact of ultrafine particles under clean and polluted urban atmospheric conditions: a model-based study. *Air Quality. Atmosphere and Health*. v. 3.p.29-39. 2010.

MARTINS. M. C. H.. FATIGATI. F. L.. MARTINS. L. C.. PEREIRA. L. A. A.. MARTINS. M. A.. SALDIVA. P. H. N. Influence of Socioeconomic Conditions on Air Pollution Adverse Health Effects in Elderly People: Na Analysis of Six Regions in São Paulo. Brazil. *J. Epidemiology Community Health*. v. 58. p. 41-46. 2004.

MATTHEW. J.. DUNN. M.J.. JIMÉNEZ. J.L.. BAUMGARDNER. D.. CASTRO. T.. MCMURRY. P.H. and SMITH. J.N. Measurements of Mexico City nanoparticle size distributions: Observations of new particle formation and growth. *Geophysical Research Letters*. v. 31. 2004.

MØLLER, P. The alkaline comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, v. 98, n. 4, p. 336-345, 2006.

MONTAGNE. D.. HOEK. G.. NIEUWENHUIJSEN. M.. LANSKI. T.. PENNANEN. A.. PORTELLA. M.. MELIEFSTE. K.. EEFTENS. M.. YLI-TUOMI. T.. CIRACH. M.. BRUNEKREEF. B.. Agreement of land use regression models with personal exposure measurements of particulate matter and nitrogen oxides air pollution. *Environmental Science & Technology*. v. 47. p. 8523-8531. 2013.

NELDER. J. A.; WEDDERBURN. R.W.M. Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society*. v. 135. n. 3. p. 370-384. 1972.

OLMO. N. R. S.. SALDIVA. P. H. N.. BRAGA. A. L. F. SANTOS. U. DE. P.. PEREIRA. L. A. A. A Review of Low-level Air Pollution and Adverse Effects on Human Health: Implications for Epidemiological Studies and Public Policy. *Clinicis*. v. 66. n. 4. p. 681-690. 2011.

ÖSTLING, O. and JOHANSON, K. J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 123, n. 1, p. 291-298, 1984.

OSTRO, B. and CHESTNUT, L. Assessing the health benefits of reducing particulate matter air pollution in the United States. *Environmental Research*. v. 76. 2.ed. p. 94-106. 1998.

OZKAYNAK, H., XUE, J., SPENGLER, J., PELLIZZARI, E., JENKINS, P. Personal exposure to airborne particles and metals: results from the Particle TEAM study in Riverside, California. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. v. 6. p. 57-78. 1996.

PANT, P., HARRISON, R.M. Estimation of contribution of Road traffic emissions to particulate matter concentrations from field measurements: A review. *Atmospheric Environment*. n. 77. p. 78-97. 2013.

PAULA, G.A. Modelos de regressão com apoio computacional. 1. IME-USP. 2004.

PETERS, A., WICHMANN, E.H., TUCH, T., HEINRICH, J., HEYDER, J. Respiratory Effects Are Associated with the Number of Ultrafine Particles. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, v. 155. n. 4. p. 1376-83. 1997.

POPE III, C.A., EZZATI, M., DOCKERY, D.W. Fine-particulate air pollution and life expectancy in the United States. *The New England Journal of Medicine*. v. 360. p. 376-386. 2009.

POPE III, C.A., DOCKERY, D.W., SPENGLER, J.D., RAIZENNE, M.E. Respiratory health and PM10 pollution daily time series analysis. *American Review of Respiratory Disease*. v. 144. p. 668-674. 1991.

POPE III, C.A., BURNETT, R.T., THUN, M.J., CALLE, E.E., KREWSKI, D., ITO, K., THURSTON, G.D. Lung Cancer, Cardiopulmonary Mortality and Long-term Exposure to Fine Particulate Air Pollution. *The Journal of the American Medical Association*. v. 287. n. 9. 2002.

POPE III, C.A., BURNETT, R.T., THURSTON, G.D., THUN, M.J., CALLE, E.E., KREWSKI, D. and GODLESKI, J.J. Cardiovascular Mortality and Long-Term Exposure to Particulate Air Pollution. *Clinical Investigation and Reports*. v. 109. p. 71-77. 2004.

POSADA, D.; BUCKLEY, T.R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and bayesian approach over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*, p. 793-808, 2004.

PRICE. O. T.. ASGHARIAN. B.. MILLER. F. J.. Multiple Path Particle Dosimetry Model (MPPD v 1.0): A Model for Human and Rat Airway Particle Dosimetry. National Institute for Public Health and the Environment (RIVM). Bilthoven. The Netherlands. 2002.

REIBMAN, J., HSU, Y., CHEN, L. C., BLECK, B., & GORDON, T. Airway epithelial cells release MIP-3 α /CCL20 in response to cytokines and ambient particulate matter. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, v. 28, n. 6, p. 648-654, 2003.

ROCHA, R.S., MEIRELES, J.R.C., CERQUEIRA, E.M.M. Chromosomal damage and apoptosis analysis in exfoliated oral epithelial cells from mouthwash and alcohol users. *Genetics and Molecular Biology*. v.37. n.4. p. 702-707. 2014.

ROJAS, E., VALVERDE, M., SORDO, M., OSTROSKY-WEGMAN, P. DNA damage in exfoliated buccal cells of smokers assessed by the single cell gel electrophoresis assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology*. v. 370. n. 2. p. 115-120. 1996.

SANTANA, E., CUNHA, K.B. da, FERREIRA, A.L. e ZAMBONI, A. Padrões de qualidade do ar: experiência comparada Brasil, EUA e União Europeia. São Paulo: Instituto de Energia e Meio Ambiente. 2012.

SEATON, A., MACNEE, W., DONALDSON, K., GODDEN, D. Particulate air pollution and acute health effects. *The Lancet*. v.345. n. 8943. p. 176-178. 1995.

SINGH. N.P.. MCCOY. M.T.. SCHNEIDER. E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell. Res.* v. 175. p. 184-91. 1988.

TADANO. Y. de S.. UGAYA. C. M. L.. FRANCO. A. T. Método de Regressão de Poisson: Metodologia para Avaliação do Impacto da Poluição Atmosférica na Saúde Populacional. *Ambiente & Sociedade*. Campinas. v. XII. n. 2. p. 241-255. 2009.

TICE. R.R.. AGURELL. E.. ANDERSON. D.. BURLINSON. B.. HARTMANN. A.. KOBAYASHI. H.. MIYAMAE. Y.. ROJAS. E.. RYU. J.C.. SASAKI. Y.F. Single Cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetics toxicology testing. *Environmental Molecular Mutagenesis*. n. 35. p. 206-221. 2000.

U.S. EPA – Environmental Protection Agency. Exposure Factors Handbook. Office of Research and Development. p. 95. 1997.

VERMA. M.K.. CHAUHAN. L.K.L.. SULTANA. S.. KUMAR. S. The traffic linked urban ambient air superfine and ultrafine PM1 mass concentration, contents of pro-oxidant chemicals, and their seasonal drifts in Lucknow, India. *Atmospheric Pollution Research*. v.5. 2011.

VIET. E.D.S.V.. ASANTE. K.. JACK. D.W.. KINNEY. P.L.. WHYATT. R.M.. CHILLRUD. S.N.. ABOKYI. L.. ZANDOH. C.. OWUSU-AGYEI. S.. Personal exposures to fine particulate matter and black carbon in households cooking with biomass fuels in rural Ghana. *Environmental Research*. v. 127. p. 40-48. 2013.

WALLACE, A.L., PELLIZZARI, E.D., HARTWELL, T.D., SPARACINO, C.M., SHELDON, L.S., ZELON, H. Personal exposures, indoor-outdoor relationships and breath levels of toxic air pollutants measured for 355 persons in New Jersey. *Atmospheric Environment*. v. 19. n.10. p. 1655-1661. 1985.

WILLIAMS, R., CREASON, J., ZWEINDINGER, R., WATTS, R., SHELDON, L., SHY, C. Indoor, outdoor and personal exposure monitoring of particulate air pollution: the Baltimore elderly epidemiology-exposure pilot study. *Atmospheric Environment*. v. 34. n. 24. p. 4193-4204. 2000.

WINTER-SORKINA, R. de; CASSEE, F. R. From concentration to dose: factors influencing airborne particulate matter deposition in humans and rats. National Institute for Public Health and the Environment, RIVM. Projeto 650010. Holanda, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Air Quality Guidelines: Global Update 2005. WHO. 2006.

ZHU. Y.. HINDS. W.C.. KIM. S.. SIOUTAS. C. Concentration and Size Distribution of Ultrafine Particles Near a Major Highway. *Journal of the Air and Waste Management Association*. v.52. p. 1032-1042. 2002.

APÊNDICE I

São mostradas abaixo tabelas com os dados utilizados como parâmetros nos modelos estatísticos.

Tabela A1: dados de índice de danos (ID) e frequência de danos (FD) no DNA nos momentos antes (A) e depois (D) da amostragem de material particulado por 8 horas.

Código	Momento	FD	ID	Código	Momento	FD	ID
V1	A	4	7	V1	B	6	10
V2	A	3	3	V2	B	5	8
V3	A	3	3	V3	B	5	8
V4	A	2	2	V4	B	6	11
V5	A	0	0	V5	B	1	1
V6	A	3	3	V6	B	2	2
V7	A	2	3	V7	B	1	1
V8	A	0	0	V8	B	0	0
V9	A	2	3	V9	B	5	8
V10	A	10	20	V10	B	4	7
V11	A	2	3	V11	B	9	13
V12	A	2	2	V12	B	5	6
V13	A	1	2	V13	B	1	1
V14	A	11	16	V14	B	15	22
V15	A	3	3	V15	B	5	7
V16	A	1	1	V16	B	4	7
V17	A	5	9	V17	B	13	23
V18	A	3	4	V18	B	5	7
V19	A	4	7	V19	B	5	6
V20	A	2	2	V20	B	9	16
V21	A	3	3	V21	B	16	25
V22	A	0	0	V22	B	7	7
V23	A	3	4	V23	B	6	11
V24	A	9	12	V24	B	5	6
V25	A	0	0	V25	B	9	19
V26	A	7	14	V26	B	4	4
V27	A	13	34	V27	B	15	32
V28	A	4	8	V28	B	4	6
V29	A	3	5	V29	B	14	20
V30	A	5	8	V30	B	3	5

Tabela 2A: Dados de idade, Classe e meio de transporte dos voluntários.

Código	Idade (anos)	Classe	Meio de Transporte
V1	27	Educação	Carro
V2	29	Educação	Carro
V3	26	Administrativo	Carro
V4	25	Educação	Carro
V5	25	Administrativo	Carro
V6	20	Educação	Carro
V7	23	Educação	Ônibus
V8	21	Administrativo	Carro
V9	41	Administrativo	Carro
V10	23	Administrativo	Carro
V11	26	Comércio	Carro
V12	31	Administrativo	Carro
V13	39	Serviços Gerais	Ônibus
V14	30	Comércio	Moto
V15	54	Construção e Indústria	Carro
V16	23	Educação	Ônibus
V17	28	Construção e Indústria	Ônibus
V18	25	Construção e Indústria	Carro
V19	21	Comércio	Carro
V20	26	Serviços Gerais	Ônibus
V21	31	Serviços Gerais	Carro
V22	35	Comércio	Ônibus
V23	52	Transporte	Carro
V24	33	Transporte	Ônibus
V25	61	Transporte	Ônibus
V26	59	Transporte	Carro
V27	54	Transporte	Moto
V28	32	Construção e Indústria	Moto
V29	23	Comércio	A pé
V30	47	Serviços Gerais	Moto

Tabela 3A: Concentração em número média nos 4 intervalos medidos para cada voluntário.

Código	Número MP_{0,3} (partículas cm⁻³)	Número MP_{0,5} (partículas cm⁻³)	Número MP_{1,0} (partículas cm⁻³)	Número MP_{2,5} (partículas cm⁻³)
V1	25,35	2,34	0,55	0,20
V2	37,44	2,98	0,82	0,37
V3	62,15	7,07	1,52	0,51
V4	36,78	3,20	0,38	0,18
V5	49,63	3,53	0,62	0,22
V6	68,98	4,69	0,66	0,26
V7	58,19	4,40	0,68	0,20
V8	45,02	4,49	0,53	0,15
V9	68,22	7,51	1,75	0,56
V10	57,33	8,56	2,65	0,72
V11	40,78	3,00	0,47	0,10
V12	75,28	6,61	1,06	0,27
V13	35,93	6,60	1,94	0,52
V14	55,57	5,11	0,60	0,16
V15	149,87	63,28	39,82	18,20
V16	14,20	1,60	0,33	0,13
V17	98,14	49,38	38,88	27,63
V18	97,81	5,65	0,75	0,22
V19	107,81	8,24	1,08	0,32
V20	140,25	10,01	1,00	0,19
V21	52,56	3,56	0,64	0,20
V22	84,16	7,99	1,34	0,35
V23	55,33	3,73	0,44	0,14
V24	76,96	6,70	1,15	0,44
V25	85,67	7,86	1,18	0,39
V26	61,65	3,26	0,46	0,14
V27	105,77	14,72	3,25	0,53
V28	183,03	10,74	1,40	0,50
V29	181,61	12,73	0,99	0,16
V30	84,99	4,88	0,43	0,06

Tabela 4A: Concentração em massa média nos 4 intervalos medidos para cada voluntário.

Código	Massa MP_{1,0} ($\mu\text{g m}^{-3}$)	Massa MP_{2,5} ($\mu\text{g m}^{-3}$)	Massa MP_{4,0} ($\mu\text{g m}^{-3}$)	Massa MP₁₀ ($\mu\text{g m}^{-3}$)
V1	7,11	9,55	14,43	42,34
V2	5,80	9,74	21,40	62,43
V3	11,32	19,75	35,10	87,89
V4	7,11	9,55	14,43	42,34
V5	8,41	11,83	19,42	49,18
V6	10,98	14,33	22,03	58,35
V7	11,03	14,40	22,16	58,76
V8	7,87	11,22	16,14	32,58
V9	12,94	21,62	36,96	75,02
V10	10,46	27,29	51,96	107,40
V11	6,98	10,21	14,49	24,04
V12	12,72	19,48	28,80	52,54
V13	7,06	19,79	37,75	78,73
V14	10,17	14,01	20,38	39,50
V15	34,07	267,49	1090,62	4142,60
V16	2,42	4,15	7,88	23,12
V17	13,68	127,21	760,91	7147,18
V18	16,88	21,69	30,14	57,63
V19	17,75	24,75	37,51	83,42
V20	27,77	36,43	48,30	79,38
V21	9,19	13,15	20,72	47,93
V22	13,60	20,79	31,02	56,65
V23	10,17	13,09	17,73	33,69
V24	14,23	20,40	31,69	77,05
V25	14,03	20,69	31,52	75,89
V26	10,60	13,44	18,83	38,32
V27	19,84	45,11	66,09	124,32
V28	31,81	39,65	55,99	131,68
V29	28,93	34,61	39,01	50,78
V30	13,10	16,73	19,83	24,99

APÊNDICE II

São mostrados abaixo os roteiros de preparo de cada uma das soluções usadas no ensaio do cometa.

1. Solução de Lise – Estoque

H ₂ O destilada	890 mL
NaCl (Cloreto de sódio) 2,5M	146,1 g
EDTA (Ácido Etilenodiaminotetracético) 100mM	37,2 g
TRIS 10mM	1,2 g
NaOH (Hidróxido de sódio) sólido	8 g

- Acertar pH com NaOH para 10;
- Adicionar 10 g de Lauril Sarcosinato de Sódio e misturar lentamente a solução;
- Ser estocada em temperatura ambiente e no escuro;

2. Solução de Lise – Uso

Triton X 100	1 mL
DMSO (Dimetilsulfóxido)	10 mL
Solução Estoque	89 mL

- Fazer a mistura invertendo a proveta;
- Fazer a solução sempre no escuro.

3. Tampão de eletroforese

3.1 Solução de NaOH

NaOH	21,6 g
Água destilada	54 mL

3.2 Solução Estoque de EDTA (200 mM)

EDTA	14,89 g
Água destilada	200 mL

- Acertar o pH para 10 com pastilhas de NaOH.

3.3 Solução de uso

H ₂ O destilada gelada	1800 mL
EDTA	9 mL
NaOH	54 mL

- Acertar o pH para 13 com NaOH.

4. Tampão de Neutralização

TRIS	24,25 g
Água destilada	475 mL

- Acertar o pH para 7,5 com HCl.

5. PBS

KCl (Cloreto de potássio)	0,2 g
KH ₂ PO ₄ (Fosfato de potássio monobásico)	0,2 g
NaCl (Cloreto de sódio)	8 g
NaHPO ₄ (Hidrogênio-fosfato dissódico anidro)	1,15 g
Água destilada	1000 mL

- Acertar pH para 7,4;

- Estocar em refrigerador.

6. Agarose Normal – 1,5%

Agarose normal	1,5 g
PBS	100 mL

- Dissolver e agitar por aproximadamente 2 horas;

- Aquecer e quando levantar fervura, desligar e manter a agitação;

- Deixar solidificar em temperatura ambiente;
- Picar em pedaços e repetir o processo de aquecimento;
- Solidificar em temperatura ambiente e repetir as etapas anteriores (picar e aquecer);
- Levar em banho maria e mergulhar as lâminas na agarose, devendo alcançar até a parte esmerilhada;
- Secar as lâminas overnight em temperatura ambiente.

7. Agarose de baixo ponto de fusão (LMP) – 0,5%

Agarose LMP (baixo ponto de fusão)	0,1 g
PBS	20 mL

- Dissolver bem;
- Aquecer até levantar fervura e desligar;
- Trabalhar em banho maria, na faixa de 37°C.

8. Solução de coloração estoque

Brometo de etídeo	10 mg
Água destilada	50 mL

9. Solução de coloração para uso

Solução estoque	1 mL
Água destilada	9 mL

APÊNDICE III

São mostradas abaixo tabelas com os dados de concentrações em massa de material particulado fino (MP_{2,5}) e grosso (MP₁₀) medido dia a dia no período de amostragem.

Tabela 1C: Valores de concentrações em massa do material particulado amostrado no ambiente.

Data	Tamanho	
	MP _{2,5} (µg m ⁻³)	MP ₁₀ (µg m ⁻³)
25/ago	7,99	22,24
26/ago	2,26	9,85
27/ago	3,32	6,32
28/ago	5,85	8,08
29/ago	6,41	11,21
30/ago	-	9,90
31/ago	9,32	1,36
01/set	12,65	13,75
02/set	15,65	16,88
03/set	11,11	23,41
04/set	7,83	20,24
05/set	15,96	19,51
06/set	5,96	29,72
07/set	7,09	13,25
08/set	10,35	12,68
09/set	7,16	12,27
10/set	5,88	6,05
11/set	8,95	9,51
12/set	3,92	84,31
13/set	4,40	6,64
14/set	-	8,71
15/set	1,03	5,52
16/set	-	-
17/set	11,35	15,57
18/set	14,41	25,27
19/set	13,05	25,02
20/set	10,13	25,20
21/set	11,34	22,70
22/set	94,20	122,88
23/set	-	-
24/set	-	-
25/set	-	-
26/set	-	-

APÊNDICE IV

Termo que foi devidamente assinado pelos 30 voluntários do estudo. Pesquisa aprovada pelo Comitê de ética em Pesquisa sob o N^o. 30166214.9.0000.5547

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Título da pesquisa: Indicadores dos efeitos na saúde humana das mudanças climáticas e qualidade do ar: uma análise observacional e por modelagem integrada e estratificada por idade

Pesquisador(es), com endereços e telefones: Daniela Sanches de Almeida, Avenida dos Pioneiros, 3131, Londrina Fone: 43 3348-2103/43 3323-1133; Camila Arielle Bufato Moreira, Avenida dos Pioneiros, 3131, Londrina Fone: 43 3348-2103/43 3323-1133.

Engenheiro ou médico ou orientador ou outro profissional responsável: Leila Droprinchinski Martins, Avenida dos Pioneiros, 3131, Londrina Fone: 43 3348-2103/43 3323-1133; Graciana Freitas Palioto, Rua Marcílio Dias, 635 Apucarana

Local de realização da pesquisa: Londrina.

A) INFORMAÇÕES AO PARTICIPANTE

1. Apresentação da pesquisa.

Essa pesquisa especificamente consiste em avaliar o quanto uma pessoa em um dia normal de trabalho inala de partículas pela respiração desse ar e a sua toxicidade. A mesma está incluída no âmbito de projeto de pesquisa aprovado pelo CNPq.

2. Objetivos da pesquisa.

O objetivo da pesquisa determinar as concentrações de partículas em massa e em número presentes no ar que você voluntário está normalmente exposto e, avaliar a dose recebida ao longo do dia e o quanto prejudicial pode ser a saúde.

3. Participação na pesquisa.

Você voluntário dessa pesquisa passará pelas seguintes etapas:

- Responder a um questionário contendo perguntas a respeito de sua idade, sexo, endereço, local e tipo de trabalho, meio de locomoção para chegar ao trabalho;

Serão 2 (dois) dias de amostragens.

1º Dia

- O responsável pela pesquisa, utilizando luvas descartáveis e cotonetes estéreis, irá passar um cotonete pela sua boca e coletar um pouco de saliva de sua mucosa bucal;

- Você irá carregar uma mochila, previamente preparada para essa finalidade, com peso máximo de 2 kg, onde estarão equipamentos para coleta de partículas presentes no ar que você respira;

- Você voluntário será instruído previamente em como colocar e usar a mochila, prender os tubos de entrada de ar do equipamento; também vai aprender a ligar e desligar os equipamentos;

- Antes de você sair para o seu trabalho os equipamentos deverão ser ligados pressionando um botão e a mochila deverá ser colocada nas suas costas; os tubos deverão ser presos com entrada de ar junto ao ombro na alça da mochila;

- Chegando ao trabalho você pode retirar a mochila e deixar ela junto ao seu local de trabalho e próxima a você (exemplo: em cima da mesa, no encosto da cadeira);

- Antes de voltar para sua casa ou quando sair para almoçar, você deve colocar novamente a mochila nas costas e prender os tubos de entrada de ar no local correto;
- Quando você chegar à sua casa, a mochila deve ser retirada das costas e ser mantida próxima de você até que sejam desligados os equipamentos;
- O responsável pela pesquisa novamente utilizando luvas descartáveis e cotonetes estéreis irá passar um cotonete pela sua boca para coleta da saliva, para comparar a diferença que tem nela antes e depois de você ir ao trabalho.

2º Dia

- Será repetido o mesmo procedimento do 1º Dia, com exceção da coleta de saliva.

4. Confidencialidade.

Todas e quaisquer informações pessoais não serão divulgadas e serão mantidos sob sigilo, sendo essa utilizada somente para fins de pesquisa científica e utilizada e divulgada de forma genérica sem identificação pessoal.

5. Desconfortos, Riscos e Benefícios.

5a) Desconfortos e ou Riscos: São os inerentes aos indivíduos na condição de deslocamento pela região urbana e as diferentes rotinas diárias dos indivíduos, tais como: andando pela calçada em diferentes regiões da cidade, utilizando o transporte público, no ambiente de trabalho, etc.

5b) Benefícios: De forma geral alguns benefícios para os indivíduos e população são:

1. Obter indicadores da relação de doenças cardio-respiratórias com qualidade do ar e variáveis meteorológicas estratificada por idade;
2. Estabelecer uma parametrização que represente a relação de doenças cardio-respiratórias com qualidade do ar e variáveis meteorológicas;
3. Dar subsídio para a elaboração de políticas públicas de adaptação e diminuição das vulnerabilidades da saúde (cardio-respiratória) da população associadas as mudanças climáticas;
4. Analisar a exposição e dose recebida pelo individuo, assim como a composição elementar desse material particulado respirável e sua toxicidade.

6. Critérios de inclusão e exclusão.

6a) Inclusão: adultos da faixa ativa de trabalho (acima de 18 anos) e idosos (acima de 65 anos).

6b) Exclusão: Não serão incluídas ou selecionadas pessoas com vícios (cigarro, bebida alcoólica) e tomando medicação forte (pressão alta, antidepressivos).

7. Direito de sair da pesquisa e a esclarecimentos durante o processo.

É importante frisar que a qualquer momento que você voluntário desta pesquisa tem o direito de solicitar esclarecimentos quanto ao processo que está ou estará sendo submetido, assim como, não mais participar da pesquisa. O voluntário compromete-se a devolver a mochila com todos os equipamentos aos responsáveis.

B) CONSENTIMENTO (do sujeito de pesquisa ou do responsável legal – neste caso anexar documento que comprove parentesco/tutela/curatela)

Eu declaro ter conhecimento das informações contidas neste documento e ter recebido respostas claras às minhas questões a propósito da minha participação direta (ou indireta) na pesquisa e, adicionalmente, declaro ter compreendido o objetivo, a natureza, os riscos e benefícios deste estudo.

Após reflexão e um tempo razoável, eu decidi, livre e voluntariamente, participar deste estudo. Estou consciente que posso deixar o projeto a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

Nome completo: _____
 RG: _____ Data de Nascimento: ___/___/_____
 Telefone: _____
 Endereço: _____
 CEP: _____ Cidade: _____ Estado: _____

Assinatura: _____ Data: ___/___/_____

Eu declaro ter apresentado o estudo, explicado seus objetivos, natureza, riscos e benefícios e ter respondido da melhor forma possível às questões formuladas.

Assinatura pesquisador: _____ Data: _____

 (ou seu representante)

Nome completo: _____

Para todas as questões relativas ao estudo ou para se retirar do mesmo, poderão se comunicar com _____, via e-mail: _____ ou telefone: _____.

Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa para recurso ou reclamações do sujeito pesquisado

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (CEP/UTFPR)
 REITORIA: Av. Sete de Setembro, 3165, Rebouças, CEP 80230-901, Curitiba-PR, telefone: 3310-4943, e-mail: coep@utfpr.edu.br

OBS: este documento deve conter duas vias iguais, sendo uma pertencente ao pesquisador e outra ao sujeito de pesquisa.