

Mestrado Integrado em Engenharia do Ambiente

***Uso da vegetação para avaliação estatística da
presença de poluentes orgânicos atmosféricos
em Portugal***

Dissertação de Mestrado

de

Filipe Seabra de Sousa Ferreira

Desenvolvida no âmbito da unidade curricular de Dissertação

Orientador principal: Prof. Nuno Miguel Ratola Neto

Coorientadores: Vera Maria Ferreira da Cruz Homem

Maria Joana Monteiro de Carvalho Peres



Departamento de Engenharia Química

Junho de 2018

Agradecimentos

À Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, ao Departamento de Engenharia Química e ao LEPABE (*Laboratory for Process, Environmental and Energy Engineering*).

Aos professores Nuno Ratola, Vera Homem e Joana Peres, por estarem sempre dispostos a ajudar, toda a sabedoria transmitida, esclarecimentos de dúvidas e comentários úteis.

À minha família e amigos que me acompanharam ao longo desta jornada, por todo o apoio e paciência que disponibilizaram.

Este trabalho foi financiado por: Projeto POCI-01-0145-FEDER-006939 (Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia, UID/EQU/00511/2013) - financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), através do COMPETE2020 - Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI) e por fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia I.P.; Projeto “LEPABE-2-ECO-INNOVATION”, com a referência NORTE-01-0145-FEDER-000005, cofinanciado pelo Programa Operacional Regional do Norte (NORTE 2020), através do Portugal 2020 e do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).

Resumo

A biomonitorização é um tipo de estudo ambiental que utiliza organismos e outras matrizes biológicas para obter informação sobre certas características da biosfera. As agulhas de pinheiro têm sido amplamente utilizadas como amostras passivas de poluentes emergentes. Esta dissertação teve como objetivo principal a avaliação estatística da presença de duas classes de poluentes orgânicos atmosféricos, os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) e os almíscares sintéticos, em Portugal. Foram analisadas agulhas de pinheiro de duas espécies distintas (*Pinus pinaster* e *Pinus pinea*) recolhidas no outono de 2011 em 47 locais do país com diferentes tipos de ocupação do solo - urbano, industrial, rural e remoto - tendo-se efetuado uma análise de componentes principais (PCA) no *software* R, juntamente com outros testes estatísticos, de forma a concluir acerca da concentração e distribuição destes dois poluentes no nosso país.

As concentrações médias de PAHs obtidas foram de 179 ± 38 ng/g para a *P. pinaster* e 269 ± 52 ng/g para *P. pinea*. Os PAHs mais presentes foram os de menor peso molecular e os locais com maiores concentrações foram os remotos. Na comparação das duas espécies, *P. pinaster* foi a que apresentou maior concentração (1746 ng/g, comparativamente com 1418 ng/g para *P. Pinea*). A concentração média de almíscares sintéticos obtida para *P. pinaster* foi de 46 ± 31 ng/g e 18 ± 8 ng/g para *P. pinea*. Os almíscares que registaram uma maior concentração foram, para ambas as espécies, o galaxolide (GAL) e o *cashmeran* (CASH). Os locais que mostraram a maior presença de almíscares foram os remotos e a espécie com uma maior concentração total nos locais com ambas as árvores foi *P. pinaster*, com 441 ng/g, enquanto que *P. pinea* registou 149 ng/g.

A PCA mostrou, para os PAHs, um contraste entre os pontos remotos e industriais, tanto na análise individual como por anéis. Mostrou também que *P. pinea* apresenta uma maior afinidade com os PAHs mais leves. Para os almíscares, verificou-se apenas um ponto atípico rural relativamente ao tipo de local. A nível de tipo de amostra, revelou que *P. pinea* apresenta valores altos de celestolide (CEL) e traseolide (TRAS).

A vegetação pode ser, por vezes, demasiado incerta quando utilizada na biomonitorização, uma vez que pode ser afetada por diversos fatores, no entanto a sua utilização, aliada a estatísticas uni e multivariadas, é uma ferramenta extremamente útil para avaliação da concentração e tendências de poluentes orgânicos atmosféricos.

Palavras-chave: PAHs, almíscares sintéticos, PCA, *Pinus pinaster*, *Pinus pinea*

Abstract

Biomonitoring is a type of environmental study that uses organisms and other biological matrices to obtain information about certain characteristics of the biosphere. Pine needles have been widely used as passive samples of emerging pollutants. This dissertation had as main objective the statistical evaluation of the presence of two classes of atmospheric organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and synthetic musks, in Portugal. Pine needles of two different species (*Pinus pinaster* and *Pinus pinea*) were collected in the autumn of 2011 in 47 locations of the country with different types of soil occupation - urban, industrial, rural and remote. A principal component analysis (PCA) was done in the software R, together with other statistical tests, in order to conclude about the concentration and distribution of these two pollutants in Portugal.

The mean concentrations of PAHs obtained were 179 ± 38 ng /g for *P. pinaster* and 269 ± 52 ng /g for *P. pinea*. The most present PAHs were those with the lowest molecular weight and the sites with the highest concentrations were the remote sites. In the comparison of the two species, *P. pinaster* presented the highest concentration (1746 ng /g, compared to 1418 ng /g for *P. pinea*). The average concentration of synthetic musks obtained for *P. pinaster* was 46 ± 31 ng /g and 18 ± 8 ng /g for *P. pinea*. The musks with the highest concentration were galaxolide (GAL) and cashmeran (CASH) for both species. The sites that registered the highest presence of musk were remotes and the species with the highest total concentration in the sites with both trees was *P. pinaster*, with 441 ng /g, whereas *P. pinea* recorded 149 ng /g.

PCA showed, for PAHs, a contrast between the remote and industrial points, both in individual and ring analysis. It also showed that *P. pinea* has a higher affinity for lighter PAHs. For the musks, it was only observed a rural outsider value according the site type. Regarding the sample type, *P. pinea* showed high values of celestolide (CEL) and traseolide (TRAS).

Vegetation can sometimes be too uncertain when used in biomonitoring, since it can be affected by several factors, however its use, combined with uni and multivariate statistics, is an extremely useful tool to evaluate the concentration and trends of atmospheric organic pollutants.

Key words: PAHs, synthetic musks, PCA, *Pinus pinaster*, *Pinus pinea*

Declaração

Declara, sob compromisso de honra, que este trabalho é original e que todas as contribuições não originais foram devidamente referenciadas com identificação da fonte.

Assinar e datar

Índice

| | | |
|----------------|---|-----------|
| 1 | Enquadramento | 1 |
| 2 | Introdução..... | 3 |
| 2.1 | <i>Poluentes orgânicos em estudo</i> | 3 |
| 2.1.1 | Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos..... | 3 |
| 2.1.2 | Almíscares sintéticos | 8 |
| 2.2 | Biomonitorização | 14 |
| 2.3 | Métodos estatísticos | 16 |
| 2.3.1 | Análise de Componentes Principais (PCA) | 17 |
| 2.3.2 | Teste de Kruskal-Wallis | 19 |
| 2.3.3 | <i>t-test</i> | 20 |
| 3 | Estado da Arte | 23 |
| 4 | Metodologia | 33 |
| 5 | Resultados e Discussão..... | 37 |
| 5.1 | PAHs | 37 |
| 5.1.1 | Descrição dos dados | 37 |
| 5.1.2 | Análise estatística | 38 |
| 5.1.3 | PCA | 43 |
| 5.2 | Almíscares sintéticos | 49 |
| 5.2.1 | Descrição dos dados | 49 |
| 5.2.2 | Análise estatística | 50 |
| 5.2.3 | PCA | 54 |
| 6 | Conclusões | 57 |
| 6.1 | Resultados obtidos..... | 57 |
| 6.2 | Limitações e trabalhos futuros | 58 |
| 7 | Referências | 61 |
| Anexo A | Concentrações obtidas de PAHs e almíscares sintéticos para todos os locais e resultados dos testes estatísticos..... | 67 |
| Anexo B | Dados e gráficos complementares à PCA | 78 |

| | | |
|------------|------------------------------------|-----------|
| 7.1 | PAHs | 78 |
| 7.1.1 | Análise individual | 78 |
| 7.1.2 | Análise por anéis | 88 |
| 7.2 | Almíscares sintéticos | 92 |

Índice de Tabelas

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabela 1 - Propriedades físico-químicas dos PAHs. Número de anéis aromáticos; PM, peso molecular (g/mol); S, solubilidade (mg/L); PV, pressão de vapor (Pa - Pascal); Log Koa, coeficiente de partição (octanol/água) (Fonte: Meire et al., 2007).....</i> | <i>5</i> |
| <i>Tabela 2 - Propriedades físico-químicas dos nitro-almíscares. PM, peso molecular (g/mol); S, solubilidade (mg/L); PE, ponto de ebulição a 760 mmHg (°C); PV, pressão de vapor (Pa); Log Koa, coeficiente de partição (octanol/água) (Tabela adaptada de Silva, 2013 e Ramos, 2013)</i> | <i>10</i> |
| <i>Tabela 3 - Propriedades físico-químicas dos almíscares policíclicos. PM, peso molecular (g/mol); S, solubilidade (mg/L); PE, ponto de ebulição a 760 mmHg (°C); PV, pressão de vapor (Pa); Log Koa, coeficiente de partição (octanol/água) (Tabela adaptada de Silva, 2013 e Ramos, 2013)</i> | <i>10</i> |
| <i>Tabela 4 - Legislação europeia e limitações ao uso dos nitro-almíscares e almíscares policíclicos em produtos de higiene (Fonte: Silva, 2013)</i> | <i>13</i> |
| <i>Tabela 5 - Resumo de metodologias utilizadas para a análise de PAHs e almíscares sintéticos através do uso de vegetação</i> | <i>30</i> |
| <i>Tabela 6 - Locais de amostragem de agulhas de pinheiro</i> | <i>33</i> |
| <i>Tabela 7 - Soma das concentrações totais obtidas (ng/g) para todos os locais para cada PAH</i> | <i>38</i> |
| <i>Tabela 8 - Concentração total, concentração total média e concentrações mínimas e máximas para cada tipo de local, em ng/g (P. Pinaster), para os PAHs</i> | <i>39</i> |
| <i>Tabela 9 - Concentração total, concentração total média e concentrações mínimas e máximas para cada tipo de local, em ng/g (P. Pinea), para os PAHs</i> | <i>39</i> |
| <i>Tabela 10 - Valores de prova obtidos para os PAHs</i> | <i>42</i> |
| <i>Tabela 11 - Testes de Kruskal-Wallis para o tipo de local, tipo de amostra e número de anéis</i> | <i>43</i> |
| <i>Tabela 12 - Soma das concentrações obtidas (ng/g) para cada local para cada almíscar sintético</i> | <i>50</i> |
| <i>Tabela 13 - Concentrações totais, médias, desvios padrão e concentrações mínimas e máximas obtidas para cada tipo de local, em ng/g (P. pinaster), para os almíscares sintéticos</i> | <i>51</i> |
| <i>Tabela 14 - Concentrações totais, médias, desvios padrão e concentrações mínimas e máximas obtidas para cada tipo de local, em ng/g (P. pinea), para os almíscares sintéticos</i> | <i>51</i> |
| <i>Tabela A.1 - Valores de concentração obtidos para os PAHs em cada local, em ng/g.....</i> | <i>67</i> |
| <i>Tabela A.2 - Soma das concentrações obtidas de PAHs, em ng/g, para cada local por número de anéis para P. pinaster.....</i> | <i>69</i> |
| <i>Tabela A.3 - Soma das concentrações obtidas de PAHs, em ng/g, para cada local por número de anéis para P. pinea.....</i> | <i>71</i> |
| <i>Tabela A.4 - Valores de concentração obtidos para os almíscares sintéticos em cada local, em ng/g..</i> | <i>71</i> |

| | |
|---|-----------|
| <i>Tabela A.5 - Concentrações, médias e desvios padrão obtidos para cada tipo de local, em ng/g (P. pinaster), para os PAHs.....</i> | <i>75</i> |
| <i>Tabela A.6 - Concentrações, médias e desvios padrão obtidos para cada tipo de local, em ng/g (P. pinea), para os PAHs.....</i> | <i>75</i> |
| <i>Tabela B.1 - Valores próprios e proporção de variância explicada por cada componente principal para a análise individual dos PAHs.....</i> | <i>78</i> |
| <i>Tabela B.2 - Loadings para a análise individual dos PAHs.....</i> | <i>79</i> |
| <i>Tabela B.3 - Scores para as PCs 1-7 da análise dos PAHs individual.....</i> | <i>80</i> |
| <i>Tabela B.4 - Scores para as PCs 8-14 da análise dos PAHs individual.....</i> | <i>82</i> |
| <i>Tabela B.5 - Valores próprios e proporção de variância explicada por cada componente principal para a análise por anéis dos PAHs.....</i> | <i>88</i> |
| <i>Tabela B.6 - Loadings das PCs para o número de anéis dos PAHs.....</i> | <i>88</i> |
| <i>Tabela B.7 - Scores para as PCs da análise dos PAHs por anéis.....</i> | <i>89</i> |
| <i>Tabela B.8 - Valores próprios e proporção de variância explicada por cada componente principal para a análise dos almíscares sintéticos.....</i> | <i>92</i> |
| <i>Tabela B.9 - Loadings das PCs para os almíscares sintéticos.....</i> | <i>92</i> |
| <i>Tabela B.10 - Scores para as PCs dos almíscares sintéticos.....</i> | <i>93</i> |

Índice de Figuras

| | |
|---|-----------|
| <i>Figura 1 - 16 PAHs prioritários em estudos ambientais de acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (Fonte: Meire et al., 2007)</i> | <i>4</i> |
| <i>Figura 2 - Estruturas representativas dos almíscares (Fonte: Rainieri et al., 2017)</i> | <i>9</i> |
| <i>Figura 3 - Exemplo de um scree plot (Gomes, 2013)</i> | <i>19</i> |
| <i>Figura 4 - Representação das concentrações médias para cada tipo de local para ambas as espécies .</i> | <i>39</i> |
| <i>Figura 5 - Representações gráficas das concentrações (ng/g) de PAH para P. pinaster e P. pinea: a) Braga - Urbano, b) Alcoutim 2 - Remoto, c) Faro (Aeroporto) - Urbano, d) Sines - Industrial, e) Porto (FEUP) - Urbano, f) Midões - Rural, g) Quintãs - Rural</i> | <i>41</i> |
| <i>Figura 6 - Scree plot para a análise individual dos PAHs</i> | <i>44</i> |
| <i>Figura 7 - Representação em gráfico de barras dos loadings para a PC 1, PC 2, PC 3 e PC 4.....</i> | <i>45</i> |
| <i>Figura 8 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise individual do tipo de local</i> | <i>46</i> |
| <i>Figura 9 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise individual do tipo de amostra</i> | <i>46</i> |
| <i>Figura 10 - Scree plot para a análise por anéis dos PAHs</i> | <i>47</i> |
| <i>Figura 11 - Representação em gráfico de barras dos loadings para a PC 1 e a PC 2</i> | <i>48</i> |
| <i>Figura 12 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise por anéis do tipo de local.....</i> | <i>48</i> |
| <i>Figura 13 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise por anéis do tipo de amostra.....</i> | <i>48</i> |
| <i>Figura 14 - Representação das concentrações médias para cada tipo de local para ambas as espécies</i> | <i>51</i> |
| <i>Figura 15 - Representações gráficas das concentrações (ng/g) de almíscares sintéticos para P. pinaster e P. pinea: a) Braga - Urbano, b) Alcoutim 2 - Remoto, c) Faro (Aeroporto) - Urbano, d) Sines - Industrial, e) Porto (FEUP) - Urbano, f) Midões - Rural, g) Quintãs - Rural</i> | <i>53</i> |
| <i>Figura 16 - Scree plot para os almíscares sintéticos</i> | <i>54</i> |
| <i>Figura 17 - Representação em gráfico de barras dos loadings para PC 1, PC 2 e PC 3.....</i> | <i>55</i> |
| <i>Figura 18 - Scores da PC 1 vs PC 2 para o tipo de local.....</i> | <i>56</i> |
| <i>Figura 19 - Scores da PC 1 vs PC 2 para o tipo de amostra</i> | <i>56</i> |
| <i>Figura 20 - Scores da PC 1 vs PC 4 para a análise individual de PAHs do tipo de local.....</i> | <i>90</i> |
| <i>Figura 21 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise por anéis de PAHs do tipo de local com etiquetas ..</i> | <i>90</i> |
| <i>Figura A.1 - Paired t-test para o CASH no programa R</i> | <i>76</i> |
| <i>Figura A.2 - Paired t-tests para o ACY, ACP, BaP, BghiP e FA no programa R.....</i> | <i>76</i> |

| | |
|---|-----------|
| <i>Figura A.3 - Testes de Kruskal-Wallis para o tipo de local, tipo de amostra e número de anéis no programa R (PAHs)</i> | <i>77</i> |
| <i>Figura A.4 - Testes de Kruskal-Wallis para o tipo de local e tipo de amostra no programa R (Almíscares sintéticos)</i> | <i>77</i> |
| <i>Figura B.1 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise individual de PAHs do tipo de local com etiquetas</i> | <i>84</i> |
| <i>Figura B.2 - Scores da PC 1 vs PC 3 para a análise individual de PAHs do tipo de local</i> | <i>84</i> |
| <i>Figura B.3 - Scores da PC 1 vs PC 4 para a análise individual de PAHs do tipo de local</i> | <i>85</i> |
| <i>Figura B.4 - Scores da PC 2 vs PC 3 para a análise individual de PAHs do tipo de local</i> | <i>85</i> |
| <i>Figura B.5 - Scores da PC 1 vs PC 3 para a análise individual de PAHs do tipo de amostra</i> | <i>86</i> |
| <i>Figura B.6 - Scores da PC 1 vs PC 4 para a análise individual de PAHs do tipo de amostra.....</i> | <i>86</i> |
| <i>Figura B.7 - Scores da PC 2 vs PC 3 para a análise individual de PAHs do tipo de amostra.....</i> | <i>87</i> |
| <i>Figura B.8 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise por anéis de PAHs do tipo de local com etiquetas .</i> | <i>91</i> |
| <i>Figura B.9 - Scores da PC 1 vs PC 2 para o tipo de local com etiquetas para os almíscares sintéticos .</i> | <i>95</i> |
| <i>Figura B.10 - Scores da PC 1 vs PC 3 para o tipo de local para os almíscares sintéticos</i> | <i>96</i> |
| <i>Figura B.11 - Scores da PC 1 vs PC 3 para o tipo de amostra para os almíscares sintéticos</i> | <i>97</i> |

Notação e Glossário

Lista de Siglas

| | |
|-------|---|
| ACP | Acenafteno |
| ACY | Acenaftileno |
| ANT | Antraceno |
| BaA | Benzo[a]antraceno |
| BaP | Benzo[a]pireno |
| BbF | Benzo[b]fluoranteno |
| BbkF | Benzo[b+k]fluoranteno |
| BghiP | Benzo[ghi]perileno |
| BkF | Benzo[k]fluoranteno |
| CASH | <i>Cashmeran</i> |
| CE | Comissão Europeia |
| CEL | Celestolide |
| CHR | Criseno |
| DBahA | Dibenzo[a,h]antraceno |
| FA | Fluoranteno |
| FLR | Fluoreno |
| GAL | Galaxolide |
| HCA | <i>Hierarchical Cluster Analysis</i> (Análise por agrupamento hierárquico) |
| IFRA | Associação Internacional de Fragâncias |
| IP | Indeno[1,2,3-cd]pireno |
| MA | Ambrette |
| MK | Cetona |
| MM | Mosqueno |
| MT | Tibeteno |
| MX | Xileno |
| nd | Não determinado |
| PAH | <i>Polycyclic aromatic hydrocarbons</i> (Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos) |
| PCA | <i>Principal component Analysis</i> (Análise de componentes principais) |
| PE | Ponto de ebulição |
| PHAN | Phantolide |
| PHE | Fenantreno |
| PM | Peso molecular |
| POM | <i>Polycyclic organic matter</i> (Matéria orgânica policíclica) |
| PV | Pressão de vapor |
| PYR | Pireno |
| REACH | <i>Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals</i> |
| S | Solubilidade |
| TON | Tonalide |
| TRAS | Traseolide |
| USEPA | <i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) |
| vPvB | very Persistent and very Bioaccumulative (Substância muito persistente e bioacumulativa) |
| WHO | <i>World Health Organization</i> (Organização Mundial de Saúde) |

Letras gregas

α Nível de significância

1 Enquadramento

A Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization*, WHO) define a poluição do ar como a contaminação interior ou exterior do ambiente por qualquer químico ou agente físico ou biológico que modifique as características naturais da atmosfera (WHO, 2018). A poluição do ar exterior é causada através da combustão de combustíveis fósseis, atividades de construção e demolição, fogos florestais, emissões vulcânicas, etc, e consiste numa mistura de matéria particulada (PM), com vários compostos gasosos e moléculas numa fase de vapor (Sanidas et al., 2017). O aumento deste tipo de poluição afeta de uma forma adversa o ambiente, destrói ecossistemas, perturba a fotossíntese, leva a alterações climáticas, diminui a biodiversidade e reduz colheitas devido à acidificação do solo (Kuklinska et al., 2014).

Os seres humanos necessitam de um fornecimento regular de alimentos e água e um fornecimento contínuo de ar. No entanto, o rápido processo de industrialização levou a um aumento no consumo de energia e de emissões de poluentes provenientes da queima de combustíveis fósseis, tanto de fontes fixas, como indústrias, e fontes móveis, como veículos com motor, levando conseqüentemente a um aumento na quantidade e variedade de poluentes na atmosfera. Uma vez que mais de metade da população mundial vive em cidades e aglomerados urbanos isto afeta tanto os seres humanos como animais e plantas, que passam a estar expostos a níveis cada vez maiores de poluentes, pelo que a poluição do ar se tornou num dos maiores problemas de Saúde Pública atualmente (WHO, 2000; Arbex et al., 2012; Santos et al., 2014).

Ao longo dos anos, devido à grande área de contato entre a superfície do sistema respiratório e o meio ambiente, tem-se observado um número crescente de doenças respiratórias. Os poluentes inalados, ao atingirem a circulação através dos pulmões, podem provocar efeitos adversos em vários órgãos e sistemas, causando vários tipos de alergias, problemas de circulação, perturbações do sistema nervoso central, uma maior incidência de cancro e uma maior mortalidade, especialmente em crianças e idosos. Também podem levar a doenças crónicas, tal como deficiências imunológicas, doenças neurológicas e doenças neurodegenerativas, problemas reprodutivos e problemas a nível do sistema hormonal (Arbex et al., 2012; Kuklinska et al., 2014).

Para além de problemas de saúde na população, a poluição do ar também provoca impactos negativos a nível económico e social, como a queda da produtividade agrícola e aumento de custos dos sistemas de saúde, afetando não só comunidades próximas à fonte de emissão, como locais a milhares de quilómetros de distância, devido ao transporte dos poluentes pela atmosfera (Dapper et al., 2016).

Por isso, a gestão da qualidade do ar é de extrema importância e esta só pode ser eficaz se o estado do ar for monitorizado. Alguns programas de monitorização ambiental têm-se focado em compostos orgânicos, principalmente aqueles que são conhecidos por resistirem à degradação, bioacumularem-se em tecidos de organismos vivos e terem um efeito toxicológico adverso. Um dos compostos mais estudados são os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (*polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAHs). No entanto, novos grupos de compostos orgânicos estão continuamente a ser libertados para o ambiente, aumentando o interesse e a preocupação de organizações científicas e reguladoras, como por exemplo os almíscares sintéticos (*synthetic musk compounds*). A monitorização ambiental pode fornecer informação acerca da composição química e/ou grau de contaminação do ar numa determinada área e permite também avaliar a eficácia de políticas ambientais e os efeitos de ações protetoras (Kuklinska et al., 2014; Busso et al., 2018).

Uma estratégia utilizada para esse estudo ambiental é a biomonitorização que, de uma maneira geral, pode ser definida como o uso das propriedades de um organismo vivo (nomeadamente plantas ou animais) ou parte dele para obter informação da quantidade de uma substância presente numa determinada parte da biosfera (Sloof, 1993). Esta técnica apresenta, no entanto, um problema a nível da elevada quantidade de dados que gera e consequente extração da informação relevante dos mesmos. A análise multivariada tem demonstrado ser a melhor técnica para o estudo grandes séries de dados e para a obtenção de tendências em ciências ambientais, sendo a análise de componentes principais (PCA) uma das técnicas multivariadas mais difundidas (Ratola et al., 2011).

Esta dissertação tem como objetivo principal a avaliação estatística da presença de duas classes de poluentes orgânicos atmosféricos, os PAHs e os almíscares sintéticos, em Portugal através do uso da vegetação. Para isso foram analisadas agulhas de pinheiro das duas espécies dominantes em Portugal (*Pinus pinaster Ait.* e *Pinus pinea L.*), recolhidas em 2011 em 47 locais do país com diferentes tipos de ambiente - urbano, industrial, rural e remoto - tendo-se efetuado uma análise de componentes principais no *software R*, juntamente com outros testes estatísticos, de forma a concluir acerca da concentração e distribuição destes dois poluentes em Portugal.

2 Introdução

2.1 Poluentes orgânicos em estudo

2.1.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

O termo “matéria orgânica policíclica” (*polycyclic organic matter*, POM) define uma vasta gama de compostos que normalmente incluem todas as estruturas que contêm dois ou mais anéis aromáticos ligados, podendo englobar os elementos carbono, hidrogénio, oxigénio, azoto e enxofre (WHO, 2014). A subclasse mais comum de POM são os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), formados por dois ou mais anéis benzénicos, constituídos exclusivamente por átomos de carbono e hidrogénio, organizados sob forma linear, angular ou agrupado (Meire et al., 2007).

Na atmosfera, PAHs de baixo peso molecular (2 ou 3 anéis) são encontrados maioritariamente na fase gasosa, enquanto os mais pesados, com 5 ou 6 anéis, depositam-se em partículas. Os PAHs de 4 anéis dividem-se pelas duas fases (Amigo et al., 2011).

Os PAHs estão listados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (United States Environmental Protection Agency, USEPA) e pela Comissão Europeia como poluentes prioritários (Gupta, 2018), sendo que, de acordo com a primeira, 16 PAHs são considerados particularmente importantes na monitorização ambiental de poluentes orgânicos prioritários: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[ghi]perileno, benzo[k]fluoranteno, criseno, dibenzo[a,h]antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, indeno[1,2,3-cd]pireno, naftaleno e pireno (Meire et al., 2007). As suas estruturas moleculares estão representadas na Figura 1.

Há três tipos de fontes emissoras de PAHs: pirogénicas, petrogénicas e biológicas (Abdel-Shafy e Mansour, 2016). As emissões pirogénicas correspondem aos PAHs que são formados durante combustões incompletas ou pirólises de material orgânico e podem ser provenientes de várias fontes antropogénicas, nomeadamente a utilização mundial de petróleo, gás, carvão e madeira na produção de energia, sendo que as fontes naturais, como por exemplo erupções vulcânicas ou fogos florestais, têm uma contribuição mais limitada, pelo que as fontes antropogénicas representam a principal fonte de emissão. A sua formação pirolítica é bastante complexa e variável, dependendo das condições da reação, nomeadamente fatores como tipo de biomassa presente, quantidade de oxigénio disponível, pressão e, principalmente, da temperatura (WHO, 2000; Caruso e Alaburda, 2008).

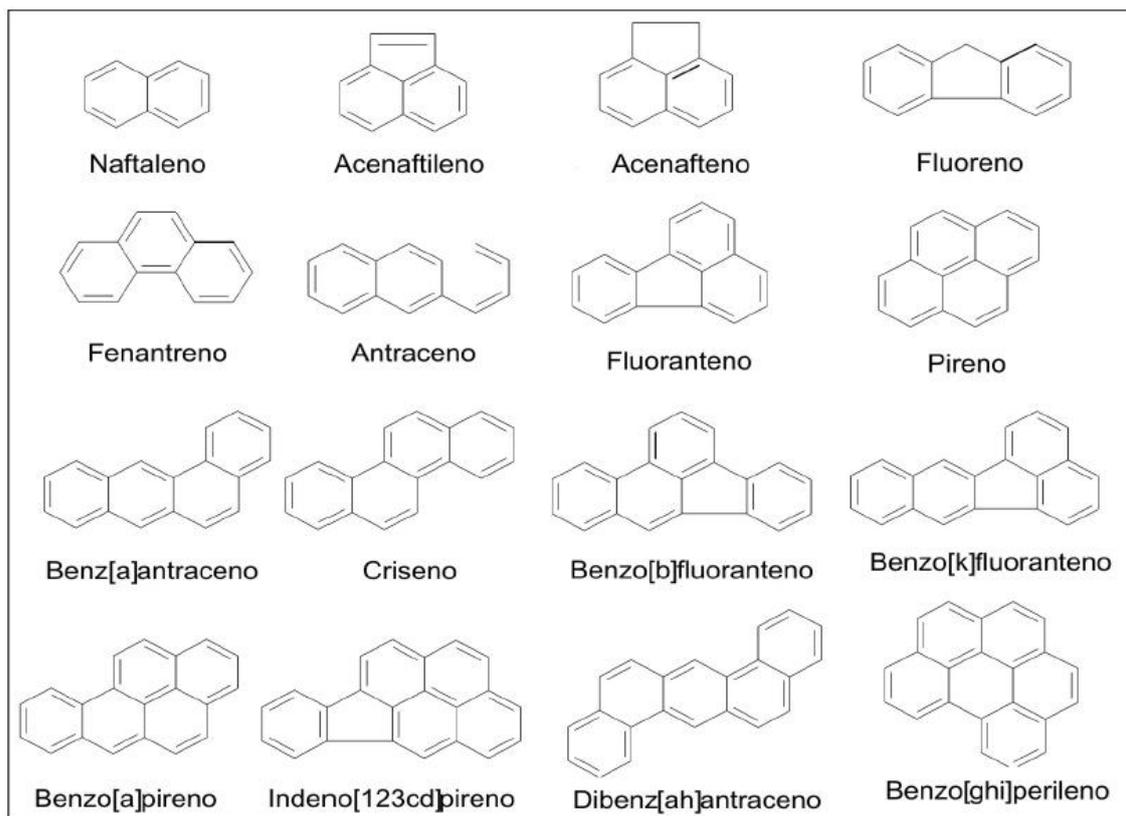


Figura 1 - 16 PAHs prioritários em estudos ambientais de acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (Fonte: Meire et al., 2007)

Nas emissões petrogénicas os PAHs são formados durante a maturação do petróleo bruto e processos semelhantes. Estes são comuns devido ao amplo transporte, armazenamento e uso de petróleo bruto e derivados. Algumas das principais fontes deste tipo de emissões são derrames de petróleo, vazamentos em tanques subterrâneos ou acima do solo e acumulações de pequenas libertações da gasolina, óleo do motor e outras substâncias relacionadas com transportes. Os PAHs também podem ser produzidos biologicamente, como por exemplo sintetizados por determinadas plantas e bactérias ou formados durante a degradação de matéria vegetal (Abdel-Shafy e Mansour, 2016).

Até ao início do século XX os processos de produção e degradação destes compostos estavam em equilíbrio, pelo que a sua concentração era baixa e constante. No entanto, com o desenvolvimento industrial, esse balanço foi afetado e a razão entre a produção e a degradação de PAHs tem vindo a aumentar constantemente (Bettin e Franco, 2005).

2.1.1.1 Propriedades físico-químicas

As propriedades físico-químicas dos PAHs são importantes para se perceber o seu comportamento ambiental e biológico (Netto et al., 2000), como por exemplo a solubilidade em água e a pressão de vapor, que influenciam a distribuição destes contaminantes entre as fases solúvel e particulada no meio atmosférico, aquoso e biótico (Meire et al., 2007). A Tabela 1 apresenta algumas destas propriedades para os 16 PAHs definidos como prioritários para a USEPA.

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas dos PAHs. Número de anéis aromáticos; PM, peso molecular (g/mol); S, solubilidade (mg/L); PV, pressão de vapor (Pa - Pascal); Log Koa, coeficiente de partição (octanol/água) (Fonte: Meire et al., 2007)

| PAHs | Nº. de anéis | PM (g/mol) | S (mg/L) | PV (Pa) | Log Koa |
|------------------------|--------------|------------|----------|------------------------|---------|
| Naftaleno | 2 | 128 | 31 | 10,4 | 3,37 |
| Acenaftileno | 3 | 150 | 16,1 | 0,9 | 4,00 |
| Acenafteno | 3 | 154 | 3,8 | 0,3 | 3,92 |
| Fluoreno | 3 | 166 | 1,9 | 0,09 | 4,18 |
| Fenantreno | 3 | 178 | 1,1 | 0,02 | 4,57 |
| Antraceno | 3 | 178 | 0,045 | 0,001 | 4,54 |
| Fluoranteno | 4 | 202 | 0,26 | 0,00123 | 5,22 |
| Pireno | 4 | 202 | 0,132 | 0,0006 | 5,18 |
| Benzo[a]antraceno | 4 | 228 | 0,011 | $2,80 \times 10^{-5}$ | 5,91 |
| Criseno | 4 | 228 | nd | $5,70 \times 10^{-7}$ | 5,86 |
| Benzo[b]fluoranteno | 5 | 252 | 0,0015 | nd | 5,80 |
| Benzo[k]fluoranteno | 5 | 252 | 0,0008 | $5,20 \times 10^{-8}$ | 6,00 |
| Benzo[a]pireno | 5 | 252 | 0,0038 | $7,00 \times 10^{-7}$ | 6,04 |
| Indeno[1,2,3-cd]pireno | 6 | 278 | nd | nd | nd |
| Dibenzo[a,h]antraceno | 5 | 278 | 0,0006 | $3,70 \times 10^{-10}$ | 6,75 |
| Benzo[g,h,i]perileno | 6 | 268 | 0,00026 | nd | 6,50 |

nd - Não determinado

Estas substâncias apresentam características lipofílicas, podendo ser classificadas como moderadamente a altamente lipossolúveis, apresentando coeficientes de partição octanol-água ($\log K_{oa}$) que variam entre 3,37 e 6,75. Os PAHs têm uma baixa solubilidade em água e, de uma maneira geral, esta diminui com o aumento do número de anéis, variando entre os altamente insolúveis (por exemplo, o benzo[g,h,i]perileno: 0,003 mg/L) a pouco solúveis em água (por exemplo o naftaleno, 31 mg/L). Por outro lado, a sua volatilidade diminui com o aumento do peso molecular, ou seja, os PAHs com menor peso molecular são mais voláteis e apresentam uma maior pressão de vapor que os mais pesados, variando esta entre compostos altamente voláteis, como o naftaleno, e compostos menos voláteis, como o dibenzo[a,h]antraceno (Netto et al., 2000; Caruso e Alaburda, 2008).

Os PAHs são quimicamente inertes, no entanto, quando reagem efetuam reações de substituição eletrofílica e de adição. No caso destas últimas, os compostos formados tendem a sofrer reações de eliminação, regenerando a aromaticidade (Caruso e Alaburda, 2008).

2.1.1.2 Ocorrências no meio ambiente

A ubiquidade dos PAHs faz com haja várias formas de exposição, devido à sua elevada capacidade de se distribuírem e difundirem pelo meio ambiente, podendo ser encontrados nos alimentos, água solo e ar (Castro, 2010).

Como mencionado anteriormente, os PAHs podem ser encontrados na atmosfera tanto na fase gasosa como adsorvidas no material particulado, sendo a repartição pelas duas fases dependente da temperatura. Assim, temperaturas quentes (no verão ou em regiões tropicais) levam a elevadas concentrações de PAHs na fase gasosa, enquanto temperaturas baixas (durante o inverno ou regiões Árticas) levam a uma maior quantidade de PAHs na fase particulada, estando a emissão destes no inverno relacionada também com o aquecimento doméstico (Netto et al., 2000; Paris et al., 2018). Esta repartição está também associada à pressão de vapor dos compostos (Tabela 1). PAHs com uma pressão de vapor menor, como o benzo(a)pireno, têm tendência a serem adsorvidos por partículas, enquanto PAHs com pressões de vapor mais elevadas, como o naftaleno, são maioritariamente encontrados na fase gasosa (Paris et al., 2018).

A sua remoção na atmosfera pode ocorrer através de reações fotoquímicas ou físico-químicas, estando os PAHs associados a partículas mais suscetíveis a degradações fotoquímicas. Os PAHs normalmente reagem com ozono, óxido de azoto (NO_x), óxido de enxofre (SO_x) e radicais OH, formando poluentes secundários, como nitro-PAHs e oxi-PAHs, que podem ser mais mutagénicos e carcinogénicos que os próprios PAHs (Paris et al., 2018). Apesar destes serem suscetíveis a degradação, estes poluentes podem ser transportados pela atmosfera por grandes

distâncias, tendo sido detetados em zonas remotas, tais como áreas montanhosas de elevada altitude (van Drooge et al., 2014). Isto verifica-se principalmente nos PAHs na fase gasosa, uma vez que os PAHs mais pesados na fase particulada se depositam normalmente perto da sua fonte de emissão, devido à sua baixa mobilidade (Paris et al., 2018).

Estes poluentes também têm tendência a acumularem-se nos solos, uma vez que são pouco solúveis, facilmente adsorvidos por partículas do solo e difíceis de degradar. Consequentemente, os sistemas de solos são um bom indicador da poluição e risco ambiental em áreas urbanas (Wang et al., 2007).

Apesar da sua baixa solubilidade em água, estes podem ser transportados em meios aquáticos, adsorvidos em partículas em suspensão, depositando-se posteriormente em sedimentos (Caruso e Alaburda, 2008). A maioria dos organismos possui um alto potencial de biotransformação dos PAHs, o que resulta numa bio magnificação não significativa na cadeia alimentar aquática. No entanto, bivalves, como mexilhões e ostras, filtram grandes volumes de água e possuem uma baixa capacidade metabólica de PAHs, pelo que os podem acumular (Abdel-Shafy e Mansour, 2016). Sendo os PAHs com menor peso molecular facilmente degradados na água, a sua contínua libertação pelas águas residuais que são descarregadas para o ambiente marinho pode resultar em elevadas concentrações em bivalves próximos de áreas industrializadas. Os PAHs contidos em sedimentos e água dos poros são captados por organismos como lagostas e moluscos, que são consumidos diretamente pelos humanos ou por predadores que também fazem parte da dieta humana, como lulas e peixes (Abdel-Shafy e Mansour, 2016).

Os PAHs estão presentes em quantidades substanciais em alguns alimentos, dependendo da origem, modo de confeção, conservação e armazenamento, sendo detetados essencialmente em carnes fumadas, peixe, folhas de vegetais, óleos e gorduras vegetais. Nas plantas concentram-se mais na superfície, principalmente devido à deposição atmosférica, enquanto que nos animais encontram-se mais nos tecidos internos, devido à sua natureza hidrofóbica que faz com que se bioacumulem nos tecidos adiposos dos organismos ao longo da cadeia trófica (Castro, 2010).

2.1.1.3 Toxicidade

Os PAHs, tal como os seus derivados nitrados e oxigenados, são poluentes orgânicos capazes de reagir, após transformações metabólicas, com o ácido desoxirribonucleico (ADN), podendo provocar vários efeitos adversos crónicos, tais como imunotoxicidade, genotoxicidade, carcinogenicidade, toxicidade reprodutiva (afetando tanto a descendência masculina como a feminina), e possivelmente influenciar também o desenvolvimento da aterosclerose (WHO, 2000; Castro, 2010). A exposição humana a poluentes orgânicos ocorre a partir de três vias:

ingestão oral, inalação e contacto dérmico. A repetida exposição afeta principalmente o fígado ou os rins, dependendo do PAH, normalmente provocando um aumento do peso do fígado devido à indução enzimática (Zhang et al., 2013; WHO, 2014).

O benzo[a]pireno é o PAH mais estudado de todos, e na literatura existem estudos dando conta da possibilidade de que provoque tumores em diferentes tecidos, dependendo da espécie testada e forma de exposição. Inicialmente pensava-se que este composto era o responsável pela atividade carcinogénica, mas estudos posteriores mostraram que a presença de benzo[a]pireno por si só não justificava toda a carcinogenicidade, pelo que a mesma foi atribuída à presença conjunta dos outros membros da família dos PAHs e de alguns derivados. No entanto, devido à necessidade de um indicador da fração carcinogénica do elevado número de PAHs no ar, foi considerado o benzo[a]pireno o indicador mais apropriado, dado o conhecimento já presente e a base de dados existente (WHO, 2000; Netto et al., 2000).

2.1.1.4 Legislação

A legislação existente para estabelecer valores-limite nas diversas matrizes ambientais não é muito abundante. A nível atmosférico apenas é imposto, pela Diretiva 2004/107/CE de 15 de dezembro de 2004 da União Europeia, um limite de 1 ng/m³ de benzo[a]pireno para a fração total de material particulado de 10 µm, calculado para um período de um ano (Azevedo et al., 2013). A nível nacional, a legislação atual refere os PAHs no Decreto-Lei relativo à qualidade da água destinada ao consumo humano, impondo um valor limite de 0,010 µg/L para o benzo[a]pireno e de 0,10 µg/L para a soma das concentrações de benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[g,h,i]perileno e indeno[1,2,3-cd]pireno (Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto de 2007, Diretiva CE, 1998).

2.1.2 Almíscares sintéticos

O termo “fragrância”, normalmente encontrado na lista de ingredientes de vários produtos cosméticos, refere-se a uma mistura de compostos com o objetivo de produzir uma variedade de odores agradáveis (Pinkas et al., 2017). Um dos principais grupos de fragrâncias são os almíscares sintéticos ou, em inglês, *synthetic musk compounds*.

Os almíscares sintéticos são compostos orgânicos produzidos em grandes quantidades e vastamente utilizados diariamente na vida humana, presentes em vários produtos tais como perfumes, desodorizantes, loções, cosméticos, sabonetes, maquilhagem, etc. Estes são utilizados como fragâncias e como compostos fixadores. Os almíscares podem ser divididos em

quatro classes de acordo com a sua estrutura química (Figura 2): nitro, policíclicos, macrocíclicos e alicíclicos (Vallecillos et al., 2015; Homem et al., 2017; Wang et al., 2018).

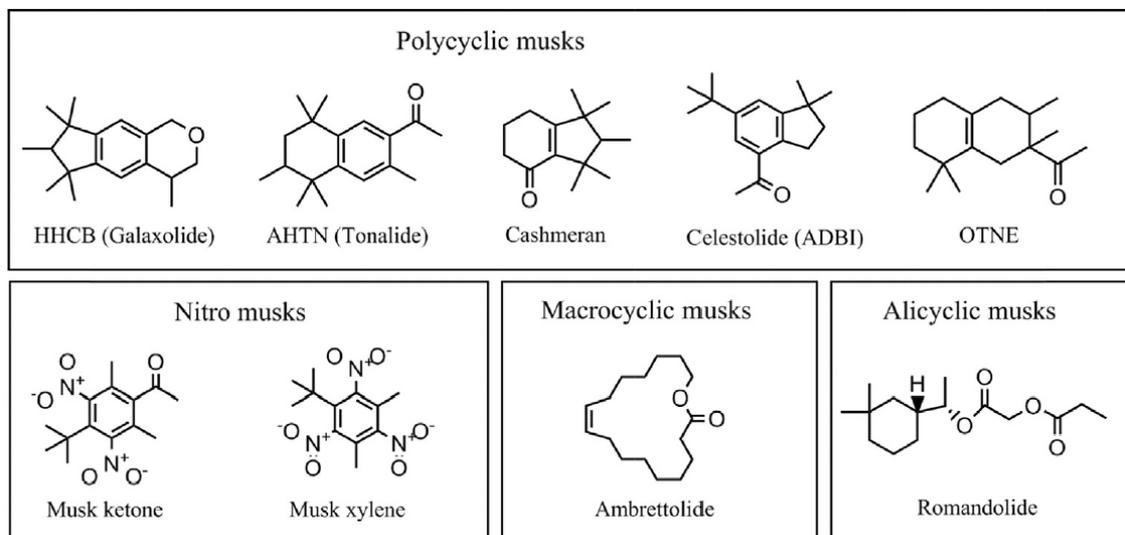


Figura 2 - Estruturas representativas dos almíscares (Fonte: Rainieri et al., 2017)

Nesta dissertação apenas serão abordados os nitro-almíscares e os almíscares policíclicos.

2.1.2.1 Propriedades físico-químicas

Nas Tabela 2 e 3 apresentam-se algumas propriedades físico-químicas dos nitro-almíscares e dos almíscares policíclicos.

Como se pode observar na Tabela 2, os almíscares mosqueno e tibetano são os que apresentam um maior carácter lipofílico, apresentando valores mais altos de Log K_{ow} e uma menor solubilidade em água (Silva, 2013). No entanto, pode-se considerar que todos estes compostos são pouco solúveis. A volatilidade, sendo inversamente proporcional ao ponto de ebulição e diretamente proporcional à pressão de vapor, nos nitro-almíscares é superior para o ambrette diminuindo até ao xileno, que é o menos volátil. O almíscar policíclico mais volátil é o cashmeran e os menos voláteis o traseolide e o tonalide. Relativamente ao peso molecular, estes são semelhantes para todos os nitro-almíscares, embora a cetona e o xileno apresentem valores um pouco superiores aos demais.

Tabela 2 - Propriedades físico-químicas dos nitro-almíscares. *PM*, peso molecular (g/mol); *S*, solubilidade (mg/L); *PE*, ponto de ebulição a 760 mmHg (°C); *PV*, pressão de vapor (Pa); *Log Koa*, coeficiente de partição (octanol/água) (Tabela adaptada de Silva, 2013 e Ramos, 2013)

| <i>Almíscares</i> | <i>PM (g/mol)</i> | <i>S (mg/L)</i> | <i>PE (°C)</i> | <i>PV (Pa)</i> | <i>Log Koa</i> |
|-------------------|-------------------|-----------------|----------------|------------------------|----------------|
| Ambrette | 268,3 | 1,67 | 369 | $1,746 \times 10^{-3}$ | 5,7 |
| Cetona | 294,3 | 1,90 | 395 | $5,333 \times 10^{-3}$ | 4,3 |
| Mosqueno | 278,3 | 0,17 | 351 | $2,280 \times 10^{-4}$ | 5,8 |
| Tibeteno | 266,3 | 0,29 | 391 | $5,813 \times 10^{-4}$ | 5,9 |
| Xileno | 297,2 | 0,49 | 392 | $8,466 \times 10^{-5}$ | 4,9 |

Tabela 3 - Propriedades físico-químicas dos almíscares policíclicos. *PM*, peso molecular (g/mol); *S*, solubilidade (mg/L); *PE*, ponto de ebulição a 760 mmHg (°C); *PV*, pressão de vapor (Pa); *Log Koa*, coeficiente de partição (octanol/água) (Tabela adaptada de Silva, 2013 e Ramos, 2013)

| <i>Almíscares</i> | <i>PM (g/mol)</i> | <i>S (mg/L)</i> | <i>PE (°C)</i> | <i>PV (Pa)</i> | <i>Log Koa</i> |
|--------------------|-------------------|-----------------|----------------|------------------------|----------------|
| Cashmeran | 206,3 | 0,17 | 286 | $5,370 \times 10^{-1}$ | 4,9 |
| Celestolide | 244,4 | 0,02 | 308-309 | $1,920 \times 10^{-2}$ | 6,6 |
| Galaxolide | 258,4 | 1,75 | 326 | $7,266 \times 10^{-2}$ | 5,9 |
| Phantolide | 244,4 | 0,03 | 337 | $1,950 \times 10^{-2}$ | 6,7 |
| Tonalide | 258,4 | 1,25 | 357 | $2,520 \times 10^{-2}$ | 5,7 |
| Traseolide | 258,4 | 0,09 | 350 | $9,110 \times 10^{-3}$ | 8,1 |

Os almíscares policíclicos, devido à sua maior estabilidade e baixo custo, acabaram por substituir os nitro-almíscares, que durante vários anos dominaram o mercado dos fixadores de fragâncias. De acordo com a Tabela 3, o traseolide é o que apresenta a maior lipofilicidade, uma vez que possui uma solubilidade muito baixa e o valor de Koa mais elevado (Silva, 2013). Relativamente à volatilidade, o *cashmeran* é o almíscar policíclico mais volátil, enquanto que o traseolide é o menos volátil. O almíscar *cashmeran* é o que apresenta um menor peso molecular e ponto de ebulição, destacando-se dos restantes que registam valores semelhantes para estas duas propriedades, com o tonalide a possuir o ponto de ebulição mais alto.

2.1.2.2 Ocorrências no meio ambiente

Os nitro-almíscares e os almíscares policíclicos são os mais mencionados na literatura, tendo o uso destes últimos duplicado entre 1987 e 2000, dado que têm vindo a substituir os nitro-almíscares, que por sua vez têm diminuído a sua presença (Busso et al., 2018). Isto verifica-se porque a maioria dos nitro-almíscares foram retirados do mercado. Na Europa, os almíscares ambrette, mosqueno e tibeteno foram banidos dos produtos cosméticos, estando o uso dos almíscares xileno e cetona restrito, devido à suspeita de efeitos carcinogénicos a concentrações elevadas. No entanto, a Comissão Europeia, sob a nova regulação REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals), recentemente considerou o xileno uma substância muito persistente e bioacumulativa (*very Persistent and very Bioaccumulative*, vPvB) e decidiu bani-lo também (Homem et al., 2015; Busso et al., 2018).

Uma vez que os almíscares estão incorporados em produtos perfumados, que apresentam com uma elevada taxa de utilização, os resíduos da utilização humana constituem principal fonte de contaminação, estando estes a serem continuamente libertados para o meio ambiente através de descargas de efluentes de estações de tratamento de águas residuais (ETARs), uma vez que estas não conseguem remover completamente alguns almíscares policíclicos, nomeadamente galaxolide, tonalide e o almíscar macrocíclico ambrette (Silva 2013; Busso et al., 2018).

Ao serem libertados, estes compostos podem ser transportados para ecossistemas aquáticos, tendo já sido detetadas várias gamas de concentração de almíscares em locais como águas superficiais e na água do mar (Homem et al., 2017), nomeadamente lagos e rios no Japão, Alemanha, República Checa, Michigan nos EUA e nos mares Báltico e do Norte (Pinkas et al., 2017), sedimentos, tecidos de diferentes organismos, no ar e na neve (Zhang et al., 2013), o que demonstra a sua extensa presença no meio ambiente.

Os almíscares, devido à sua lipofilicidade, persistência à degradação e natureza bioacumulativa, são facilmente adsorvidos por matéria orgânica particulada, acumulando-se no solo e sedimentos (Homem et al., 2017). Esta persistência à degradação natural e boa capacidade bioacumulativa, aliadas à sua volatilidade, torna-os também propícios a transporte atmosférico por longas distâncias, causando impactos ambientais em locais distantes da sua fonte de emissão (Busso et al., 2018).

2.1.2.3 Toxicidade

A inalação é uma das principais vias de exposição humana aos almíscares sintéticos, dada a sua ubiquidade sob uma vasta variedade de locais públicos e casas. O contacto dérmico é também uma forma frequente de exposição, uma vez que os produtos que contém almíscares

normalmente encontram-se no estado líquido. Estes compostos acumulam-se no corpo humano devido ao seu carácter lipofílico através da absorção percutânea de produtos de cuidado pessoal que os contêm (Zhang et al., 2013; Busso et al., 2018).

Os principais problemas associados à exposição de almíscares sintéticos são distúrbios endócrinos, uma vez que alguns destes mostraram possuir atividade estrogénica, causando um desequilíbrio na produção de estrogénio e androgénio, e aumentaram a taxa de proliferação de células do cancro da mama em humanos, um efeito inibido pelo anti estrogénio tamoxifeno. Daí o facto de os almíscares xileno e cetona terem um uso restrito, uma vez que são suspeitos de provocarem efeitos carcinogénicos a elevadas concentrações (Zhang et al., 2013; Pinkas et al., 2017; Homem et al., 2017).

Apesar de alguns estudos não mostrarem efeitos genotóxicos diretos, outros mostraram que os almíscares interagem com outros agentes genotóxicos, aumentando os seus efeitos tanto *in vivo* como *in vitro*. Mostraram também provocar uma interrupção do efluxo celular dos xenobióticos, resultando assim numa maior exposição mais prolongada a estes (Pinkas et al., 2017).

A produção do nitro-almíscar ambrette diminuiu consideravelmente devido a observações que demonstraram a sua capacidade de causar fraqueza nos membros e desmielinização central e periférica (Pinkas et al., 2017). Os almíscares policíclicos galaxolide e tonalide são os mais comumente usados e podem inibir a proteína PMPMEase, aumentando a predisposição a doenças degenerativas (Pinkas et al., 2017).

2.1.2.4 Legislação

Atualmente, na UE, encontra-se em vigor a Diretiva de Execução 2012/21/EU e pela IFRA (Associação Internacional de Fragrâncias) que legisla as concentrações máximas permitidas dos nitro-almíscares e almíscares policíclicos em produtos de higiene de acordo com a Tabela 4. Como já foi referido, o REACH classifica o almíscar xileno como vPvB, desaconselhando a utilização deste químico (Silva, 2013).

Tabela 4 - Legislação europeia e limitações ao uso dos nitro-almíscares e almíscares policíclicos em produtos de higiene (Fonte: Silva, 2013)

| | Almíscares | Diretiva 2012/21/EU (%m/m) | IFRA | REACH |
|-------------------------|------------|---|----------|--------------------------------|
| Nitro-almíscares | Ambrette | Proibido | Proibido | - |
| | Cetona | Restringido Fragrâncias finas: 1,4% Eau de toilette: 0,56% Produtos hidroalcoólicos: 0,042% Crems perfumados: 0,042% Produtos mantidos na pele após aplicação: 0,042% Produtos com enxaguamento após aplicação: 0,042% Produtos de aplicação oral: 0% | - | - |
| | Mosqueno | Proibido | Proibido | - |
| | Tibeteno | Proibido | Proibido | - |
| | Xileno | Restringido Fragrâncias finas: 1,0% Eau de toilette: 0,4% Produtos hidroalcoólicos: 0,03% Crems perfumados: 0,03% Produtos mantidos na pele após aplicação: 0,03% Produtos com enxaguamento após aplicação: 0,03% Produtos de aplicação oral: 0% | Proibido | Regulamento N° 412/2010 - vPvB |

Tabela 4 (Cont.) - Legislação europeia e limitações ao uso dos nitro-almíscares e almíscares policíclicos em produtos de higiene (Fonte: Silva, 2013)

| | Almíscares | Diretiva 2012/21/EU (%m/m) | IFRA | REACH |
|-------------------------|-------------|---|--|-------|
| Almíscares policíclicos | Cashmeran | - | - | - |
| | Celestolide | - | - | - |
| | Galaxolide | - | - | - |
| | Phantolide | - | Restringido Produtos mantidos na pele após aplicação: 2% Produtos com enxaguamento após aplicação: - | - |
| | Tonalide | Restringido Fragrâncias finas: 2,5% Eau de toilette: 0,1% Produtos hidroalcoólicos: 1,0% Cremes perfumados: 0,5% Produtos mantidos na pele após aplicação: 0,1% Produtos com enxaguamento após aplicação: 0, 2% Produtos de aplicação oral: 0% | - | - |
| | Traseolide | - | - | - |

Esta legislação europeia sobre a regulamentação dos produtos cosméticos, representada na Tabela 4, foi transposta para a lei nacional (Decreto-Lei n.º 189/2008), que foi posteriormente alterado pelos Decreto-Lei n.º 115/2009, 113/2010, 63/2012 e 245/2012. Para além desta legislação, a IFRA definiu restrições adicionais e, como se pode observar pela Tabela 4, existe uma autorregulação uma vez que alguns almíscares, como o xileno e o phantolide, foram proibidos/restringidos, mas ainda não o foram pela legislação europeia (Silva, 2013).

2.2 Biomonitorização

A biomonitorização pode ser definida como o uso de organismos e biomateriais para obter informação sobre certas características da biosfera. A informação é deduzida, usando por exemplo plantas ou animais, a partir de mudanças no comportamento do organismo monitor (composição das espécies e/ou riqueza, desempenho fisiológico e/ou ecológico e morfologia)

ou a partir da concentração de substância específicas nos tecidos do monitor, de forma a reconhecer as tendências existentes às alterações do ambiente, ao longo do espaço e do tempo (Szczepaniak & Biziuk, 2003; Piairo, 2013). Com uma seleção correta de organismos, a vantagem da biomonitorização está relacionada com a ocorrência comum e permanente do organismo, mesmo em áreas remotas na área de trabalho, a facilidade da amostragem e com o facto de não haver necessidade de utilizar equipamentos técnicos caros e complexos (Szczepaniak e Biziuk, 2003).

De forma a um organismo ser aplicável enquanto monitor para a matéria particulada do ar, têm de ser cumpridos alguns requisitos específicos, sendo os mais importantes (Sloof, 1993):

- A resposta do organismo à quantidade de elementos a ser monitorizada deve ser conhecida;
- Os organismos devem ser comuns na área de interesse;
- Devem estar disponíveis a qualquer altura ou estação;
- O monitor deve ser tolerante a poluentes a níveis relevantes.

Vários tipos de espécies têm sido utilizados na monitorização do ar, tais como líquenes, musgos, fetos, relva, casca de árvores, anéis de árvores e agulhas de pinheiro (Sloof, 1993). Nesta dissertação a biomonitorização foi realizada através de agulhas de pinheiro.

A biomonitorização tem sido usada como uma ferramenta para avaliar a concentração de PAHs no ambiente desde o fim da época de 80, quando os cientistas começaram a considerar a vegetação como uma matriz privilegiada para a absorção de poluentes orgânicos. A vegetação tem um grande impacto na vida e no ciclo de transporte de vários poluentes orgânicos, podendo as florestas atuar como um “filtro” para estes, removendo de uma forma irreversível alguns compostos de um dado sistema ambiental (Ratola et al., 2010; Ratola et al., 2011).

Algumas espécies de plantas, como agulhas de pinheiro, têm sido usadas como amostras passivas do ar na análise de poluentes como PAHs, uma vez que esta análise é de baixo custo, sendo necessárias poucas amostras (dependendo do propósito) para a monitorização de uma área de estudo, a recolha de amostras é fácil e pode ser efetuada ao longo de todo o ano, visto que os pinheiros são árvores de folha persistente (van Drooge et al., 2014). Isto é possível uma vez que as agulhas estão cobertas por uma camada cerosa, que age como uma barreira de proteção para a planta contra radiação ultravioleta, dessecação e possíveis ataques de agentes patogénicos. Esta camada retém compostos de baixa e média polaridade durante vários anos, visto que estes compostos possuem uma afinidade com a camada cerosa devido à sua composição química (Eriksson et al., 1989; Ratola et al., 2014).

Outra grande vantagem da utilização de agulhas de pinheiro é a sua vasta distribuição. Em Portugal os pinheiros podem ser encontrados ao longo de todo o terreno, representando cerca de 33% das áreas florestais (Ratola et al., 2011). As duas espécies mais abundantes são o pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*) e o pinheiro-manso (*Pinus pinea*) mas, devido ao facto de a partição entre o PAH gasoso e a agulha de pinheiro ser específico a cada espécie, é preferível retirar amostras sempre da mesma espécie de pinheiro quando se efetuam gradientes temporais e espaciais de níveis destes compostos numa área (Ratola et al., 2011; van Drooge et al., 2014).

No entanto, estes estudos de monitorização ambiental resultam em elevadas quantidades de parâmetros físicos e concentrações químicas recolhidas de diferentes locais geográficos, períodos de tempo e/ou diferentes compartimentos ambientais (como por exemplo ar, água, sedimentos e biota) (Mas et al., 2010). Por isso, a necessidade de novas ferramentas e mais sofisticadas para tratar dessa grande quantidade de dados e extrair informações relevantes dos mesmos deu origem à Quimiometria, uma área especificamente destinada à análise de dados químicos de natureza multivariada, empregando métodos matemáticos e estatísticos para planear ou seleccionar experiências de forma otimizada e para fornecer o máximo de informação química com a análise dos dados obtidos (Ferreira et al., 1999).

2.3 Métodos estatísticos

Como já foi referido, a extração de informações dos resultados de um estudo científico envolve frequentemente a análise de um grande número de variáveis, sendo que, muitas vezes, a maioria delas pouco ou nada acrescenta à interpretação dos resultados em termos químicos, e apenas um pequeno número contém as informações mais relevantes (Neto e Moita, 1997). Os métodos de análise de dados multivariados são bastante utilizados uma vez que este tipo de análise permite uma redução do número de variáveis, facilitando a extração de informação com um mínimo de perda da mesma (Guedes et al., 2012). Os testes estatísticos são também uma ferramenta poderosa na análise de dados, permitindo verificar se amostras provém da mesma população (Guo et al., 2013).

De entre os métodos de análise multivariada destacam-se a análise por agrupamento hierárquico (*Hierarchical Cluster Analysis*, HCA) e a análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA). A HCA procura agrupar as amostras em classes, baseando-se na semelhança dos participantes de uma mesma classe e nas diferenças entre os membros de classes diferentes. A representação gráfica obtida é denominada “dendrograma”, um gráfico bidimensional, independentemente do número de variáveis do conjunto de dados (Correia e Ferreira, 2007). A PCA foi o método utilizado nesta dissertação, pelo que será aprofundado no subcapítulo seguinte.

Relativamente aos testes estatísticos, alguns dos mais populares são a análise de variância (ANOVA), o *t-test*, o teste de Kruskal-Wallis (KW) e o teste de Wilcoxon. Apesar de estes testes cumprirem o mesmo objetivo de verificarem se as amostras pertencem à mesma população, estes assumem diferentes premissas. A ANOVA e o *t-test* são testes paramétricos que assumem a distribuição normal dos dados, enquanto que os testes de Kruskal-Wallis e Wilcoxon são não-paramétricos, pelo que têm um melhor desempenho quando os dados não seguem uma distribuição normal (Guo et al., 2013). Nesta dissertação recorreu-se ao *t-test* e ao teste de Kruskal-Wallis que serão desenvolvidos nas secções seguintes.

2.3.1 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais foi proposta por Pearson, em 1901, e desenvolvida por Hotelling 30 anos depois. No entanto, apenas nos anos 70 é que começou a ser utilizada como método de classificação em química (Neto et al., 2006).

A ideia central da PCA é reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados de um elevado número de variáveis interrelacionadas, retendo a maior variação possível presente nesse conjunto de dados. Isto é conseguido através da transformação das variáveis originais num conjunto de novas variáveis, não correlacionadas, ordenadas de tal forma que as primeiras explicam a maior parte da variação existente em todas as variáveis originais. Estas novas variáveis são designadas por componentes principais (*principal components*, PC) (Jolliffe, 2004; Silva, 2012).

Ou seja, este método reescreve as coordenadas das amostras noutro sistema de eixos mais conveniente para a análise dos dados, onde as *n*-variáveis originais geram, através de combinações lineares, *n*-componentes principais, que além de ortogonais, são obtidos por ordem decrescente de variância. Isto significa que a componente principal 1 possui mais informação estatística que a componente principal 2, que por sua vez detém mais informação que a componente principal 3 e assim sucessivamente (Neto e Moita, 1997). Como tal, a primeira componente principal é a combinação linear de máxima variância. A segunda componente principal também é de máxima variância, no entanto é ortogonal à primeira, enquanto que a terceira é ortogonal às duas primeiras e assim por diante. Por isso a informação relevante fica concentrada nas duas ou três primeiras PCs, que podem então ser examinadas à procura de padrões (Neto et al., 2006).

A decomposição ortogonal pode ser efetuada, entre outros métodos, através da decomposição por valores singulares (*singular value decomposition*, SVD). Neste método a matriz original *X* de “*n*” amostras por “*m*” variáveis é decomposta e representada pelo produto

de três novas matrizes, duas delas ortonormais, U e V, e uma diagonal, S (Equação 1) (Parreira, 2003; Sabin et al., 2004):

$$X = USV^t \quad (1)$$

A matriz V é a matriz dos *loadings*, onde a primeira coluna contém esses mesmos *loadings*, isto é, os coeficientes da combinação linear ou vetores próprios, da PC 1 (o peso ou quanto cada variável original contribui), e assim sucessivamente. U*S corresponde à matriz T dos *scores*, que correspondem às coordenadas das amostras nos novos eixos das componentes principais e, por fim, a matriz S é uma matriz diagonal cujos elementos (valores singulares) dão informação acerca da quantidade de variância que cada componente principal descreve (Ferreira et al., 1999; Godinho et al., 2008; Silva, 2012). A correlação entre as variáveis originais e as componentes principais (*loadings*), indica a importância das variáveis originais na formação das PCs. Assim sendo, *loadings* próximos de um indicam que essa variável é importante na formação da PC, enquanto *loadings* próximos de zero indicam que a variável não é importante na formação da PC (Gomes, 2013).

Ao utilizar esta técnica é necessário decidir o número de componentes a reter, ou seja, quantas componentes são necessárias para explicar a variabilidade dos dados. Para isso pode-se recorrer a alguns critérios (Gomes, 2013):

- Reter o número de componentes principais que expliquem pelo menos 80% da variabilidade total;
- Critério de Kaiser, proposto em 1960, que consiste em excluir as componentes principais cujos valores próprios sejam inferiores à sua média aritmética (quando usada a matriz de correlações, a média dos valores próprios é um);
- Por fim, o terceiro critério consiste em utilizar uma representação gráfica do número de componentes principais em função dos valores próprios, designado *scree plot* (proposto por Cattell em 1966). Deve-se reter o número de componentes principais até onde o declive atenuar e o gráfico se tornar praticamente paralelo ao eixo Ox, como se pode observar na Figura 3, uma vez que esses valores próprios são muito reduzidos e praticamente iguais, logo pouco ou nada contribuem para a explicação da variabilidade dos dados. No caso da Figura 3 devem-se reter 5 componentes principais.

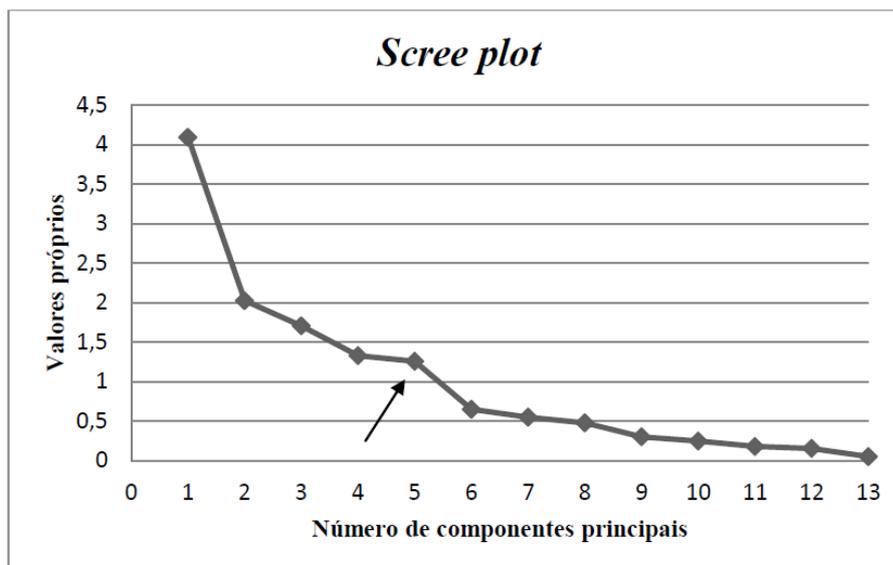


Figura 3 - Exemplo de um scree plot (Gomes, 2013)

No entanto, este método apresenta também algumas desvantagens, nomeadamente a sensibilidade a valores atípicos (amostras anómalas) e o facto de não ser recomendado quando se tem muitos zeros na matriz, dados ausentes, mais variáveis que unidades amostrais ou quando as variáveis originais são pouco correlacionadas, onde, neste caso os componentes principais coincidem com estas (Hongyu et al., 2015).

Portanto, cabe a quem trabalha com estatística multivariada interpretar a distribuição dos pontos nos gráficos de componentes principais e identificar quais as variáveis originais com maior peso na combinação linear das PCs mais importantes (Neto et al., 2006).

2.3.2 Teste de Kruskal-Wallis

O teste de Kruskal-Wallis (KW) é um teste não paramétrico simples e de fácil execução e que, ao contrário da ANOVA, não exige suposições de normalidade da variável nem homogeneidade de variâncias entre os tratamentos. É considerado um teste livre de distribuição, ou seja, a distribuição teórica populacional dos dados não precisa de ser estimada pelas médias ou variâncias amostrais para a sua correta aplicação (Bianconi et al., 2008). Este teste é apropriado para comparar as distribuições de duas ou mais variáveis pelo menos ordinais observadas em duas ou mais amostras independentes, ou seja, permite testar se duas ou mais amostras provêm da mesma população ou se de populações diferentes ou se, de igual modo, as amostras provêm de populações com a mesma distribuição. As hipóteses sob estudo podem ser escritas pelas Equações 2 e 3 (Marôco, 2011):

$$H_0: F(X_1) = F(X_2) = \dots = F(X_k) \quad (2)$$

(as distribuições dos valores da variável dependente são idênticas nas k populações)

vs.

$$H_1: \exists i, j: F(X_i) \neq F(X_j) \quad (i \neq j; i, j = 1, \dots, k) \quad (3)$$

(existe pelo menos uma população onde a distribuição da variável dependente é diferente de uma das distribuições das outras populações em estudo).

Em vez de uma hipótese baseada em médias, a hipótese nula para o teste de KW é que os dados são de populações com a mesma “localização”. A hipótese H_0 é rejeitada se o valor de prova, p , for menor ou igual ao valor de significância, α ($p \leq \alpha$) (Elliott e Hynan, 2011; Marôco, 2011). O valor de prova é a probabilidade de obter um valor da característica em estudo tão ou mais extremo que o valor observado, admitindo que a hipótese nula é verdadeira.

2.3.3 *t*-test

O *t*-test, também chamado de teste *t* de Student, é frequentemente utilizado como um método estatístico para avaliar se o valor médio de uma população que segue uma distribuição normal é consistente ou diverge significativamente do valor médio especificado numa hipótese nula, ou se a diferença entre as médias de duas populações independentes que seguem uma distribuição normal é estatisticamente significativa. Este tipo de teste é adequado para pequenas amostras (como $n < 30$), em que as estatísticas seguem uma distribuição normal, mas o desvio padrão (DP) é desconhecido, podendo ser dividido em *t*-test de uma amostra, de duas amostras independentes e de duas amostras emparelhadas (Yang-chun et al., 2017). Nesta dissertação recorreu-se ao *t*-test de amostras emparelhadas (*paired t*-test).

O *paired t*-test utiliza-se quando as observações de duas populações de interesse são recolhidas em pares (X_{1j}, X_{2j}) sob condições homogêneas, no entanto essas condições podem variar de um par para outro. Sendo $(X_{11}, X_{21}), (X_{12}, X_{22}), \dots, (X_{1n}, X_{2n})$ um conjunto de n observações emparelhadas onde se assume que a média e a variância da população representada por X_1 são μ_1 e σ_1^2 e a média e a variância da população representada por X_2 são μ_2 e σ_2^2 e as diferenças entre cada par de observações define-se como $D_j = X_{1j} - X_{2j}$, $j = 1, 2, \dots, n$. Os D_j são assumidos serem normalmente distribuídos com média

$$\mu_D = E(X_1 - X_2) = E(X_1) - E(X_2) = \mu_1 - \mu_2 \quad (4)$$

com variância σ_D^2 , pelo que o teste de hipóteses para a diferença entre μ_1 e μ_2 pode ser realizado através de um *t*-test de uma amostra em μ_D (Montgomery e Runger, 2003).

Ou seja, testar $H_0: \mu_1 - \mu_2 = \Delta_0$ contra $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq \Delta_0$ é equivalente a testar:

$$H_0: \mu_D = \Delta_0 \quad (5)$$

$$H_1: \mu_D \neq \Delta_0 \quad (6)$$

A estatística de teste é dada pela seguinte fórmula:

$$T_0 = \frac{\bar{D} - \Delta_0}{S_D / \sqrt{n}} \quad (7)$$

Onde \bar{D} é a média da amostra das n diferenças D_1, D_2, \dots, D_n , e S_D é o desvio padrão da amostra dessas diferenças (Montgomery e Runger, 2003).

3 Estado da Arte

Como já foi referido, a vegetação tem um grande impacto na vida e no ciclo de transporte de vários poluentes orgânicos, tendo começado a ser considerada como uma matriz privilegiada para a sua absorção desde o fim dos anos 1980 (Ratola et al., 2010; Ratola et al., 2011). O estudo mais antigo encontrado acerca da importância da vegetação na remoção de compostos orgânicos da atmosfera foi o de Simonich e Hites, em 1994 (Simonich e Hites, 1994). De forma a entender a magnitude da vegetação na remoção destes compostos foi desenvolvido um modelo de balanço de massa regional, baseado em medições de PAHs numa área situada a nordeste dos Estados Unidos da América. Foram medidas as concentrações de 10 PAHs, nomeadamente fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[e]pireno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno e benzo[ghi]perileno, tendo sido recolhidas 147 amostras de solo e vegetação numa zona suburbana em Bloomington, Indiana. Foram utilizadas folhas e sementes de bordo-açucareiro (*Acer saccharum*) de forma a representarem superfícies de plantas largas e planas, agulhas de *Pinus strobus* para superfícies estreitas e redondas e por fim casca destas duas plantas para representarem superfícies de plantas ásperas. Estas plantas representam também diferentes níveis de teor lipídico: a casca de *Pinus strobus* apresentou o teor mais elevado, seguido da casca do bordo-açucareiro, agulhas de *Pinus strobus*, folhas do bordo-açucareiro e por fim, as sementes deste. Para 46 amostras de folhas obteve-se uma concentração média de PAHs de 567 ng/g de vegetação numa base de peso seco, para 12 amostras de sementes registou-se 189 ng/g, para 44 amostras de agulhas 893 ng/g e por fim, para 31 amostras de casca obteve-se 877 ng/g. As diferenças nos valores das médias podem ser explicadas pelos diferentes níveis de teor lipídico, uma vez que as matrizes com os valores mais elevados, como as agulhas e a casca, normalmente apresentam uma maior concentração de PAHs. O modelo mostrou que cerca de 44% dos PAHs emitidos para a atmosfera naquela região eram removidos pela vegetação, o que revela a sua importância na remoção de compostos orgânicos lipofílicos da atmosfera.

Outro exemplo do uso de agulhas de pinheiro para este tipo de monitorização é o estudo de Tremolada et al. (1996), onde se avaliou a distribuição espacial de PAHs no Reino Unido através do uso de agulhas da espécie *Pinus sylvestris*, tendo as amostras sido recolhidas em 2 períodos de 1994: maio-junho e agosto, num total de 28 locais afastados o mais possível das principais cidades e estradas e de indústrias, de forma a melhor representar a dispersão destes poluentes. Os compostos analisados foram o acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, 1-metilfenantreno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, dibenzo[ac]antraceno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[ghi]perileno e coroneno e para tratamento estatístico dos dados foi utilizada a média

geométrica, calculada a partir das concentrações. A concentração total de PAHs nas agulhas variou de 19 a 3091 ng/g em peso seco, com uma média geométrica de 323 ng/g em peso seco. O fenantreno foi o PAH mais presente nas amostras, correspondendo entre 50 a 80% da concentração total na maioria dos casos. De todos os compostos analisados 10 deles foram quase sempre detetados na vegetação ao nível das ng/g, mesmo na região mais afastada, o que pode ser visto como o resultado da distribuição difusa de fontes de emissões, dispersão atmosférica e fenómeno de deposição.

No entanto, podem ser utilizados outros tipos de vegetação, como por exemplo no estudo efetuado por Alfani et al. (2001) onde se recorreu a folhas de azinheira (*Quercus ilex* L.), para se avaliar o grau de contaminação por PAHs na área urbana de Nápoles comparativamente a áreas remotas. A amostragem decorreu em julho de 1998 em 12 locais diferentes: quatro parques urbanos, seis estradas com diferentes fluxos de tráfego e dois em áreas remotas. A primeira área remota corresponde ao Monte Tubenna, a cerca de 70 km de Nápoles, e a segunda ao Monte Vesúvio, um vulcão a cerca de 12 km da mesma cidade. Foram analisados o naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, criseno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[e]pireno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenz[a,h]antraceno, benzo[ghi]perileno e coroneno, tendo-se recorrido à Análise de Componentes Principais para avaliar a similaridade do grau de contaminação dos locais amostrados. As concentrações totais nas folhas de azinheira variaram entre 106,6 a 4607,5 ng/g em peso seco, com o valor mais baixo pertencente ao Monte Tubenna e o mais alto a uma estrada na baixa de Nápoles caracterizada por um elevado fluxo de tráfego. Os elevados valores de PAHs encontrados nas folhas dos locais de amostragem urbanos comparados com os remotos mostraram uma contaminação na Nápoles urbana. A vasta gama de concentrações de PAHs nas folhas reflete os fortes gradientes de poluição, podendo esta ser atribuída tanto às fontes como a diferentes graus de dispersão do ar. Os perfis dos PAHs individuais que caracterizam cada local mostraram que os compostos com menor peso molecular são mais prevalentes nas áreas remotas, enquanto que os que possuem mais de quatro anéis encontram-se quase inteiramente na matéria particulada na área urbana. Isto deve-se ao facto de as moléculas maiores serem menos voláteis e terem uma maior tendência a unirem-se a material particulado, pelo que os PAHs mais pesados se depositam normalmente perto da sua fonte de emissão devido à sua baixa mobilidade (Paris et al., 2018). Verificou-se também que as concentrações de PAH determinadas nas folhas representam uma acumulação de longo prazo. Os autores concluíram então que as folhas de *Quercus ilex* são um bom monitor para os PAHs.

Piccardo et al (2005) realizaram um estudo de forma a comparar a concentração de PAHs em agulhas de pinheiro de idades diferentes (desde 6 a 30 meses de idade) das espécies

Pinus nigra e *Pinus pinaster*, ambas comuns na zona Mediterrânea e, até à altura, ainda não usadas para a biomonitorização de PAHs. Isto teve como objetivo verificar a importância da espécie das agulhas e idade das mesmas como meio de classificar os locais de amostragem de acordo com a concentração de PAHs encontrado em folhas. A amostragem foi realizada em agosto de 1997 em 7 locais diferentes ao longo de um transecto de uma área suburbana até uma área rural, em Génova, Itália. Os PAHs analisados foram o fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno e benzo[a]pireno. Os valores mais baixos de PAH verificaram-se numa área rural sem fontes específicas de PAHs, com valores entre 10,4 a 39,1 ng/g em peso seco, e num local remoto com 21,8 a 63,5 ng/g em peso seco, enquanto que as concentrações mais altas registaram-se numa estrada com elevado tráfego de uma pedreira, com valores entre 201,6 a 817,4 ng/g em peso seco (o primeiro valor de concentração para cada par de valores corresponde a agulhas de 1997 e o segundo a agulhas de 1995). As concentrações totais encontradas nas agulhas de *P. nigra* nos locais rurais foram superiores, em média, cerca de 2,3 vezes comparativamente às de *P. pinaster*. Em ambas as espécies, as concentrações para os PAHs mais voláteis, nomeadamente o fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno, eram maiores que as dos menos voláteis (benzo[a]antraceno, criseno, benzofluoranteno e benzo[a]pireno), que são preferencialmente adsorvidos por partículas do ar. Relativamente à idade das agulhas verificaram que as concentrações dos PAHs voláteis aumentaram proporcionalmente com a idade das agulhas, enquanto que as tendências com os restantes PAHs eram mais variáveis, mas de uma maneira geral a concentração destes diminuía com a idade. Entre as duas espécies, as agulhas de *P. pinaster* mostraram ser mais fidedignas, uma vez que são mais resistentes a doenças de plantas, enquanto que nas agulhas de *P. nigra* verificou-se uma variação considerável na concentração de PAHs devido a bolor e fungos.

Em 2009, St-Amand et al. recorreram a outra espécie de forma a examinar a acumulação de PAHs em agulhas de abetos (*Picea abies*), monitorizando a concentração de PAH atmosférico, tanto na fase gasosa como na fase particulada de forma a calcular as velocidades de deposição e transferência. Os PAHs analisados foram o acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, pireno, benzo[a]antraceno + criseno, benzo[b]fluoranteno + benzo[k]fluoranteno, indeno[1,2,3-cd]pireno e benzo[g,h,i]perileno. As amostras foram recolhidas de um aterro sanitário perto de Ottawa, no Canadá, numa zona maioritariamente agrícola com pouca atividade industrial e analisadas através de cromatografia gasosa. Nas agulhas dos abetos as concentrações de PAH variaram entre 10,7 até 608 ng/g, com as concentrações mais altas verificadas em alturas mais tardias do período de estudo, uma vez que estas acumulam os PAHs. Os compostos mais presentes foram o benzo[b]fluoranteno + benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno e indeno[1,2,3-cd]pireno, contribuindo para mais de 80% da quantidade de PAHs

nas agulhas. Relativamente à concentração atmosférica gasosa, esta variou entre 280 a 3680 pg/m³, com acenaftileno, fenantreno, fluoreno e antraceno a constituírem mais de 90% das concentrações gasosas. No entanto, a maior parte dos PAHs encontravam-se associados a partículas, exceto os mais leves que se encontravam predominantemente na fase gasosa, sendo que as concentrações dos PAHs particulados variaram entre 28,4 a 1120 pg/m³, apresentando uma média de 247 pg/m³ (St-Amand, et al., 2009).

Um problema associado a estes estudos de monitorização ambiental é a grande quantidade de dados gerados e a extração de resultados relevantes dos mesmos, que pode ser resolvido recorrendo a métodos estatísticos uni e multivariados. Um exemplo disto é o estudo de Ratola et al. (2010), que analisaram as tendências anuais e sazonais de PAHs através do uso de ferramentas de análise univariáveis juntamente com multivariáveis, nomeadamente PCA. Os compostos estudados foram os 16 PAHs considerados prioritários em estudos ambientais de acordo com a USEPA, nomeadamente acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[ghi]perileno, benzo[k]fluoranteno, criseno, dibenzo[a,h]antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, indeno[1,2,3-cd]pireno, naftaleno e pireno. Para isso foram recolhidas agulhas de *Pinus Pinaster* Ait. e *Pinus pinea* L. em 29 locais de Portugal em quatro campanhas de amostragem (inverno, primavera, verão e outono), realizadas no ano de 2007, tendo sido as duas espécies analisadas separadamente. Uma vez que os pinheiros possuem a capacidade de preservarem agulhas durante vários anos (*P. pinaster* durante pelo menos 3 anos e *P. pinea* durante pelo menos 2 anos), foram analisadas agulhas pertencentes a anos diferentes. As concentrações médias dos PAHs analisados, em peso seco, variaram de 71 ± 33 ng/g para agulhas novas (2007) no verão a 514 ± 317 ng/g para agulhas com 2 anos de idade (2005) na primavera para *P. pinea* e entre 90 ± 50 ng/g para agulhas novas (2007) no verão e 1212 ± 436 ng/g para agulhas com 3 anos (2004) no verão para *P. pinaster*, o que vai de acordo com o facto de ser expectável a absorção ser maior quanto maior for a exposição ao contaminante. A evolução sazonal mostrou que as concentrações totais mais elevadas foram encontradas no inverno, diminuindo até ao verão e voltando a aumentar do verão até ao outono. Isto pode ser explicado pelo aumento de potenciais fontes de PAHs, tais como aquecimento doméstico e um maior tráfego rodoviário no inverno (Amigo et al., 2011), e a tendência para a fotodegradação e resuspensão para a atmosfera dos PAHs mais voláteis com o aumento da temperatura. A análise de componentes principais, aplicada separadamente a cada espécie, indicou que os PAHs mais leves, ou seja com menor número de anéis, estão mais ligados às estações mais frias e às agulhas mais antigas, especialmente para *P. pinea*, enquanto que em *P. pinaster* mostraram um comportamento mais consistente, menos dependente das condições sazonais e tempo de exposição ao contaminante. De uma maneira geral, concluiu-se as agulhas de pinheiro são bioindicadores adequados para cargas de PAHs e a sua variação temporal, no entanto as duas espécies apresentam diferentes

capacidades de absorção, o que se deve ter em conta aquando a realização de estudos de biomonitorização comparativos.

Utilizando as mesmas espécies e amostras do estudo anterior e com o objetivo de avaliar e enfatizar a importância de fazer a distinção entre diferentes espécies de pinheiro no caso de mais de uma ter sido amostrada, Ratola et al. (2011) recorreram novamente à análise uni e multivariada, nomeadamente Análise de Componentes Principais, de forma a comparar estas duas espécies. Os resultados indicaram que o comportamento das duas espécies de pinheiro a nível de absorção de PAHs era diferente, com as estatísticas univariáveis e a PCA a mostrar que a concentração média total de PAHs em agulhas de *P. pinaster* (574 ± 248 ng/g em peso seco) é bastante superior do que em agulhas de *P. pinea* (251 ± 102 ng/g em peso seco) e que as primeiras apresentam uma maior afinidade por PAHs mais leves, com 2 a 4 anéis, e as últimas estão mais ligadas a PAHs mais pesados, com 5 e 6 anéis. Por isso concluíram que, quando se realiza um estudo de biomonitorização com vegetação, é preferível usar apenas uma espécie de forma a obter-se uma comparação mais precisa entre locais, sempre que tal for possível.

Amigo et al. (2011) estudaram a distribuição de PAHs sobre várias localizações geográficas em Portugal ao longo do tempo, usando agulhas de pinheiro como marcadores destes compostos. As espécies analisadas e locais de amostragem foram os mesmos dos dois casos anteriores, cobrindo grandes centros urbanos, alguns pontos industriais, áreas rurais e locais remotos. Os compostos estudados foram os 16 EPA PAHs. Os valores médios obtidos, em peso seco, variaram de 96 ± 30 ng/g para locais remotos a 866 ± 304 ng/g para sítios industriais para agulhas de *P. pinaster* e de 188 ± 117 ng/g para sítios rurais a 337 ± 153 ng/g para áreas urbanas para *P. pinea*, o que significa que a tendência espacial indica um aumento dos locais remotos para os urbanos e industriais. Através da análise de componentes principais aliada a sistemas de informação geográfica os autores observaram que os padrões de contaminação estão relacionados com vários parâmetros sócio-geográficos dos locais de amostragem e que a tendência geográfica para os PAHs é semelhante entre as diferentes estações em termos dos níveis destes.

Ao contrário dos PAHs, cuja ocorrência em vegetação é frequentemente estudada, o uso de plantas enquanto biomonitoras de almíscares sintéticos ainda não foi devidamente investigado (Busso, et al., 2018). O primeiro estudo encontrado que utilizou agulhas de pinheiro como biomonitor passivo na deteção de almíscares sintéticos foi o de Ratola et al. (2014). Foram analisados 5 nitro-almíscares e 6 almíscares policíclicos em agulhas de *Pinus Pinaster* e *Pinus pinea* recolhidas em 30 locais diferentes de Portugal com diferentes tipos de padrões de exposição. As concentrações médias totais variaram entre <1 ng/g e 460 ng/g, sendo o *cashmeran* e a galaxolide os almíscares mais comumente detetados.

Silva et al. (2015) estabeleceram um protocolo de análise multi-componente de forma a quantificar cinco tipos de compostos: retardantes de chama bromados (BFRs), bifenilos policlorados (PCBs), pesticidas organoclorados (OCPs), PAHs e almíscares sintéticos, uma vez que a maioria dos procedimentos analíticos não são tão abrangentes. Este estudo quantificou os compostos mencionados acima em agulhas de pinheiro da espécie *P. pinaster* de 3 locais em Portugal: Porto, Fóia e Benlhevai, cada um representando um diferente padrão de exposição em função da sua localização (urbano, remoto e rural, respetivamente). Relativamente aos PAHs, o Porto apresentou a concentração total mais elevada no valor de 967,8 ng/g em peso seco, quase o triplo de Fóia e Benlhevai, que apresentaram valores semelhantes: 245,8 ng/g para a primeira e 305,9 ng/g para a última. Isto pode ser explicado pelo facto de o Porto ser uma área urbana, com tráfego e atividade industrial elevada. Os almíscares, ao contrário dos PAHs, encontram-se em concentrações mais elevadas na Fóia (local remoto), com 201,6 ng/g, e em Benlhevai (área rural), com 277,5 ng/g, do que na área urbana do Porto, com apenas 20,7 ng/g. Isto pode ser explicado devido à presença de um aterro perto do local de amostragem de Benlhevai e devido ao facto de o local de Fóia ser propício à exposição destes compostos por transporte atmosférico. O ponto de amostragem no Porto estava rodeado por prédios altos, o que pode ter diminuído a exposição das agulhas a almíscares. Não foram detetados nitro-almíscares uma vez que estes foram banidos ou tiveram o seu uso restringido na União Europeia segundo a Diretiva 2012/21/EU.

No entanto outros tipos de vegetação também podem ser utilizados. Busso et al. (2018) utilizaram folhas de *Ligustrum lucidum* de modo a analisar as concentrações de PAHs e almíscares em diferentes áreas da cidade de Córdoba, na Argentina. Foram recolhidas 29 amostras ao todo, 11 pertencentes a zonas urbanas, 10 a zonas industriais e 7 a locais afastados de indústrias e de estradas com elevado tráfego, que foram denominadas de peri-urbanas. Ao todo foram analisados 16 PAHs, 6 almíscares policíclicos e 5 nitro-almíscares, tendo sido efetuado um procedimento de mapeamento de forma a avaliar a distribuição destes dois poluentes. Para a elaboração da estrutura dos mapas foi utilizado o programa Surfer com o método estatístico de Krigagem. Para os PAHs obtiveram uma concentração média de 112,62 ng/g em peso seco para as zonas urbanas, 168,04 ng/g para as zonas industriais e 94,87 ng/g para as peri-urbanas, sendo o naftaleno um dos compostos mais dominantes nas três zonas. As concentrações maiores nas áreas urbanas e zonas industriais refletem o elevado grau de poluição desses locais comparado com os peri-urbanos, podendo as concentrações presentes nestes últimos ser atribuídas às fontes emissoras e diferentes graus de dispersão do ar. Relativamente aos almíscares, os policíclicos foram detetados mais frequentemente do que os nitro-almíscares, com os valores médios de concentração a variarem entre 0,01 e 81,36 ng/g em peso seco. O galaxolide foi o almíscar mais frequente nas amostras, estando presente em 61% destas, e o segundo o phantolide, presente em 50% das amostras, o que indica um elevado

risco ambiental devido à ocorrência frequente destes dois compostos. Os valores mais elevados correspondem às zonas industriais, com concentrações 4 vezes mais elevadas que nas zonas urbanas e 8 vezes superiores às peri-urbanas. Apesar de a distribuição espacial dos almíscares mostrar uma proximidade com as indústrias, os autores afirmam que são necessários mais estudos para confirmar as suas fontes de emissão. Os resultados deste estudo indicam que as folhas de uma árvore urbana ubíqua podem ser utilizadas de forma a caracterizar o comportamento espacial de poluentes orgânicos, permitindo assim uma avaliação da qualidade de ar urbano onde os dispositivos de amostragem de ar mais comuns não estão disponíveis.

Na Tabela 5 apresenta-se um resumo dos artigos mencionados anteriormente, relativos à determinação de PAHs e almíscares sintéticos em agulhas de pinheiro e matrizes similares.

Como se pode observar pela Tabela 5, o uso da vegetação na biomonitorização de PAHs já ocorre desde os anos 80, no entanto o mesmo não se verifica para os almíscares sintéticos, cujos estudos com este tipo de matriz começaram há menos de 5 anos. Devido ao facto de este tipo de monitorização gerar uma enorme quantidade de dados, são necessárias ferramentas que ajudem a interpretar esses dados e extrair a informação relevante, sendo a mais utilizada a PCA. Esta permite diminuir o número de variáveis, facilitando a interpretação dos mesmos, complementando assim os métodos estatísticos univariados.

Vários tipos de vegetação podem ser utilizados para estes estudos, porém as agulhas de pinheiro são das mais usadas por serem bastante comuns, de folha permanente e terem a capacidade de armazenar os compostos por vários anos. Os estudos mostraram que, em geral, quanto maior a idade de agulha, maior a concentração de PAHs. No entanto, diferentes espécies de pinheiro apresentam diferentes características, pelo que se deve ter isso em consideração em estudos comparativos.

Relativamente aos PAHs, normalmente estes encontram-se em maior concentração em áreas urbanas e industriais, devido ao facto de terem origem maioritariamente antropogénica. Podem, no entanto, ser transportados para zonas rurais e remotas, principalmente os PAHs mais leves (com menos anéis) que são mais facilmente transportados, enquanto que os mais pesados têm uma maior tendência a depositarem-se em locais próximos da fonte de emissão. A concentração destes aumenta em estações mais frias, devido a uma maior utilização dos aquecimentos domésticos e maior tráfego rodoviário.

Tabela 5 - Resumo de metodologias utilizadas para a análise de PAHs e almíscares sintéticos através do uso de vegetação

| Local | Compostos analisados | Espécie utilizada | Método estatístico utilizado | Valores obtidos (ng/g em peso seco) | Referência |
|---------------------------|---|---|------------------------------|--|--------------------------|
| Estados Unidos da América | 10 PAHs | - <i>Acer saccharum</i> (Sementes, folhas e casca) - <i>Pinus strobus</i> (Aglhas e casca) | Não referido | Concentração média: Folhas: 567 Sementes: 189 Aglhas: 893 Casca: 877 | (Simonich e Hites, 1994) |
| Reino Unido | 16 PAHs | - <i>Pinus sylvestris</i> (Aglhas) | Média geométrica | Concentração total: 19 - 3091 Média geométrica: 323 | (Tremolada et al., 1996) |
| Itália | 18 PAHs | - <i>Quercus ilex</i> L. (Folhas) | PCA | Concentração total: 106,6 - 4607,5 | (Alfani et al., 2001) |
| Itália | 9 PAHs | - <i>Pinus nigra</i> (Aglhas) - <i>Pinus pinaster</i> (Aglhas) | Não referido | Concentração total: <i>Pinus nigra</i> 12,19 - 507,3 <i>Pinus pinaster</i> 10,41 - 817,41 | (Piccardo et al., 2005) |
| Canadá | 11 PAHs | - <i>Picea abies</i> (Aglhas) | Não referido | Concentração total: 10,7 - 608 | (St-Amand et al., 2009) |
| Portugal | 16 PAHs | - <i>Pinus Pinaster</i> Ait. (Aglhas) - <i>Pinus pinea</i> L. (Aglhas) | PCA | Concentração média total (Média ± Desvio padrão): <i>P. pinaster</i> 90 ± 50 - 1212 ± 436 <i>P. pinea</i> 71 ± 33 ng/g - 514 ± 317 | (Ratola et al., 2010) |
| Portugal | 16 PAHs | - <i>Pinus Pinaster</i> Ait. (Aglhas) - <i>Pinus pinea</i> L. (Aglhas) | PCA | Concentração média total (Média ± Desvio padrão): <i>P. pinaster</i> 96 ± 30 - 866 ± 304 <i>P. pinea</i> 188 ± 117 - 337 ± 153 | (Amigo et al., 2011) |
| Portugal | 11 almíscares sintéticos | - <i>Pinus Pinaster</i> Ait. (Aglhas) - <i>Pinus pinea</i> L. (Aglhas) | Não referido | Concentração média total: <1 - 460 | (Ratola et al., 2014) |
| Portugal | - 15 PAHs - 11 almíscares sintéticos | - <i>Pinus Pinaster</i> | Não referido | Concentração média total: PAHs 245,7 - 967,8 Almíscares 20,7 - 277,5 | (Silva et al., 2015) |
| Argentina | - 16 PAHs - 11 almíscares sintéticos | - <i>Ligustrum lucidum</i> | Krigagem | Concentração média total: PAHs 112,62 (zonas urbanas) 168,04 (zonas industriais) 94,87 (peri-urbanas) Almíscares sintéticos 0,01 - 81,36 | (Busso et al., 2018) |

No caso dos almíscares sintéticos, estes também são esperados estarem mais presentes em ambientes urbanos e industriais devido às suas origens antropogénicas, nomeadamente a sua produção em grandes quantidades e incorporação em produtos perfumados, sendo estes utilizados diariamente pelos seres humanos. Dentro das suas classes, a concentração de almíscares policíclicos é por norma superior à dos nitro-almíscares, uma vez que o uso destes últimos foi restringido ou banido.

Por fim, comparando as duas classes de poluentes, verifica-se que, de uma maneira geral, a concentração de PAHs é superior às dos almíscares sintéticos. Isto pode ser explicado pelo facto de, como já foi referido, uma das classes destes últimos ter sido restringido ou banido, e também porque o número de fontes de emissão dos PAHs é superior, logo é expectável que a presença de almíscares no ambiente seja menor.

4 Metodologia

Os dados utilizados para a elaboração deste estudo pertencem a uma campanha de amostragem realizada no outono de 2011. Foram recolhidas agulhas de pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*) e pinheiro-manso (*Pinus pinea*), de acordo com a disponibilidade de cada espécie, em 40 locais diferentes com diferentes tipos de ocupação. Na Tabela 6 encontram-se representados os locais, com o respetivo tipo de ocupação, e a espécie da(s) amostra(s) recolhida(s).

Tabela 6 - Locais de amostragem de agulhas de pinheiro

| Local | Tipo de ocupação | Espécie(s) recolhida(s) |
|----------------------------|------------------|---------------------------------------|
| Leça da Palmeira | Industrial | <i>P. pinaster</i> |
| Caminha | Rural | <i>P. pinaster</i> |
| Braga | Urbano | <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> |
| Outeiro | Remoto | <i>P. pinaster</i> |
| Vila Real | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Rio de Onor | Remoto | <i>P. pinaster</i> |
| Bragança | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Benlhevai | Remoto | <i>P. pinaster</i> |
| Guarda | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Serra da Estrela | Remoto | <i>P. pinaster</i> |
| Castelo Branco | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Portalegre | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Portel | Rural | <i>P. pinaster</i> |
| Alcoutim 1 | Remoto | <i>P. pinaster</i> |
| Alcoutim 2 | Remoto | <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> |
| Vila Real de Santo António | Rural | <i>P. pinaster</i> |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> |
| Faro (Universidade) | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Fóia | Remoto | <i>P. pinaster</i> |
| Fóia (Sul) | Remoto | <i>P. pinaster</i> |
| Sines | Industrial | <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> |

Tabela 6 (Cont.) - Locais de amostragem de agulhas de pinheiro

| Local | Tipo de ocupação | Espécie(s) recolhida(s) |
|---------------------------------|------------------|---------------------------------------|
| Arrábida (Outão) | Industrial | <i>P. pinaster</i> |
| Arrábida (Topo sul) | Industrial | <i>P. pinaster</i> |
| Arrábida (Vale da Rasca) | Industrial | <i>P. pinaster</i> |
| Santarém | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Vale das Mós | Rural | <i>P. pinaster</i> |
| Leiria | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Coimbra | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> |
| Porto (Aeroporto) | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Midões | Rural | <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> |
| Quintãs | Rural | <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> |
| Aveiro (Universidade) | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Aveiro (Estação, Rotunda Norte) | Urbano | <i>P. pinaster</i> |
| Estarreja | Industrial | <i>P. pinaster</i> |
| Évora | Urbano | <i>P. pinea</i> |
| Beja (Hospital) | Urbano | <i>P. pinea</i> |
| Beja (Parque) | Urbano | <i>P. pinea</i> |
| Lisboa (INAG) | Urbano | <i>P. pinea</i> |
| Lisboa (Bela Vista) | Urbano | <i>P. pinea</i> |

Foram analisados 15 PAHs, nomeadamente acenafteno (ACP), acenaftileno (ACY), antraceno (ANT), benzo[a]antraceno (BaA), benzo[b]fluoranteno (BbF), benzo[k]fluoranteno (BkF), benzo[ghi]perileno (BghiP), benzo[a]pireno (BaP), criseno (CHR), dibenzo[a,h]antraceno (DBahA), fluoranteno (FA), fluoreno (FLR), indeno[1,2,3-cd]pireno (IP), fenantreno (PHE) e pireno (PYR), e 11 almíscares sintéticos, 5 pertencentes ao grupo dos nitro-almíscares, ambrette (MA), cetona (MK), mosqueno (MM), tibetano (MT) e xileno (MX), e 6 almíscares policíclicos, *cashmeran* (CASH), celestolide (CEL), galaxolide (GAL), phantolide (PHAN), tonalide (TON) e traseolide (TRAS).

A análise e tratamento dos dados foram efetuados através do *Excel 2016* e do *software R 3.4.3*. O *R* é uma linguagem, podendo ser considerada uma implementação diferente de *S*, a linguagem de escolha para pesquisa em metodologias de estatística, e um ambiente para computação estatística e gráficos. Este programa disponibiliza uma ampla variedade de

técnicas estatísticas e gráficas, incluindo modelação linear e não linear, testes estatísticos clássicos, análise de séries temporais, classificação, agrupamento e outras, sendo também facilmente extensível através de funções e extensões (R, 2018).

Na interpretação dos dados foram utilizados métodos univariados, nomeadamente a média e o desvio padrão, e o método multivariado da PCA. Esta última foi realizada no *software R*, juntamente com testes Kruskal-Wallis e *paired t-tests*.

A análise de PAHs foi dividida em análise individual dos 15 congéneres, em que se teve em conta a concentração de cada composto, e análise por anéis, somando as concentrações dos compostos com o mesmo número de anéis, agrupando-os em 4 grupos de 3, 4, 5 e 6 anéis. Os PAHs benzo[b]fluoranteno e benzo[k]fluoranteno tiveram que ser analisados como um só, benzo[b+k]fluoranteno (BbkF), uma vez que os picos destes na análise cromatográfica por vezes podem ser difíceis de distinguir.

Para o estudo de comparação do tipo de local foi calculada a média para cada tipo, uma vez que cada ocupação de terreno apresenta um número de pontos de amostragem diferentes, impedindo a comparação direta das concentrações totais obtidas. Para a espécie de pinheiro *P. pinaster* recolheram-se 15 amostras de locais urbanos, 6 de industriais, 6 de rurais e 8 de remotos, enquanto que para a *P. pinea* foram 8 urbanos, 1 industrial, 2 rurais e 1 remoto.

A comparação de espécies teve como objetivo averiguar se há diferenças na acumulação de poluentes entre as duas espécies (*P. pinaster* e *P. pinea*). As duas espécies só foram encontradas lado a lado em 7 locais (Alcoutim 2, Braga, Faro (Aeroporto), Sines, Porto, Midões e Quintãs), para os quais se efetuou a comparação. Para isso foram estudados gráficos de barras com as concentrações para cada composto para ambas as espécies neste 7 locais. Foram também realizados *paired t-tests*, a um nível de significância de 5%, de forma a avaliar se há diferenças entre as médias das amostras para cada espécie. No entanto, uma vez que este teste é paramétrico e como tal requer uma distribuição normal dos dados, realizou-se previamente um teste de normalidade a cada composto, sendo que apenas foi realizado o *t-test* aos compostos que apresentavam uma distribuição normal.

De seguida efetuou-se o teste de Kruskal-Wallis, que permite ver se as amostras provêm da mesma população, ou seja, permite verificar se há diferenças entre os diferentes tipos de local, tipos de amostra e, no caso dos PAHs, o número de anéis. Este teste foi realizado a um nível de significância de 5%.

A PCA teve como objetivo analisar a informação conferida pelos níveis de PAHs e *musks* encontrados nas agulhas de pinheiro, através da redução da dimensionalidade do conjunto de dados de forma a explicar a variabilidade dos mesmos e encontrar correlações entre as variáveis em estudo. Ou seja, tentar encontrar uma relação entre a concentração dos poluentes e o tipo

de ocupação de cada local de onde se retirou a amostra (urbano, industrial, rural e remoto), o tipo de amostra (espécie de pinheiro de onde foi retirada a agulha - *Pinus pinaster* ou *Pinus pinea*) e, no caso dos PAHs, o número de anéis aromáticos de cada composto analisado.

Como pré-tratamento do conjunto de dados para a PCA os dados foram normalizados, isto é, a média dos elementos de coluna foi subtraída a cada elemento individual e dividido pelo desvio padrão da respetiva coluna, onde cada coluna corresponde a um composto e as linhas a cada um dos locais de amostragem. De seguida, depois de obtidos os PCs, através dos valores próprios e do respetivo *scree plot* e da proporção de variância explicada por cada um deles decidiu-se o número de componentes a reter para posterior análise através dos critérios anteriormente mencionados. Depois de escolhidos os PCs a reter, verificou-se os respetivos *loadings*, de forma a ver quais os compostos mais contribuíam para cada PC.

Através da PCA, foram analisadas as concentrações dos tipos de local para as duas espécies e os gráficos de *scores* dos PCs que se escolheu reter, de forma a comparar as diferentes concentrações obtidas nos diferentes locais e verificar se existe alguma relação entre o tipo de ocupação e os compostos em estudo, e também, no caso dos PAHs, entre o número de anéis.

Por fim, comparou-se os valores de concentração obtidos dos PAHs com os dos almíscares sintéticos, de forma a concluir acerca da presença de cada um na atmosfera.

5 Resultados e Discussão

Como já mencionado anteriormente, este estudo tem como base agulhas de pinheiro recolhidas em 40 locais com diferentes tipos de ocupação e de duas espécies de pinheiro diferentes. As Tabelas com as concentrações para ambos os poluentes analisados, PAHs e almíscares sintéticos, em todos os locais estão presentes nos anexos (Tabelas A.1 e A.4).

5.1 PAHs

5.1.1 Descrição dos dados

Na Tabela 7 encontram-se as concentrações totais obtidas para cada composto individual e a soma total e média de concentrações de todos os PAHs para cada espécie e os respetivos desvios padrão.

A concentração total obtida para os PAHs foi de 6265 ng/g para *P. pinaster* (n = 35) e 3233 ng/g para *P. pinea* (n = 12). No entanto, nada se pode aferir em relação a estes valores uma vez que os pontos de amostragem para cada espécie são diferentes. As concentrações totais por PAH individual variaram entre 50 ng/g e 2600 ng/g para *P. pinaster*, e entre 6 ng/g e 1615 ng/g para *P. pinea*. O PAH que registou o maior valor de concentração foi o PHE, com 2600 ng/g (*P. pinaster*) e 1615 ng/g (*P. pinea*), seguido do PYR, com 986 ng/g e 372 ng/g para *P. pinaster* e *P. pinea*, respetivamente. Isto indica que os valores de PHE são extremamente elevados quando comparados com os dos outros PAHs. Uma vez que o PHE possui 3 anéis e o PYR é composto por 4, os grupos com maiores concentrações foram os de 3 e 4 anéis, sendo a contribuição para o grupo de 3 anéis maioritariamente pelo PHE, e para o grupo de 4 anéis o PYR e o FA.

Por outro lado, o DBahA foi o PAH com a menor concentração para *P. pinaster* e o IP para *P. pinea*. No entanto, apesar de o DBahA possuir também uma concentração baixa em *P. pinea* (8,8 ng/g), o IP apresenta uma concentração notavelmente superior em *P. pinaster*, com 284 ng/g. O grupo de anéis com a concentração total mais baixa foi o de 5 anéis para *P. pinaster* e o de 6 anéis para *P. pinea*.

Relativamente às concentrações médias, obtiveram-se os valores de 179 ± 38 ng/g para *P. pinaster* e 269 ± 52 ng/g para *P. pinea*. Comparando com outros estudos semelhantes realizados em Portugal e que utilizaram estas duas espécies, Ratola et al (2010) registaram valores médios de 90 a 1212 ng/g para *P. pinaster* e 71 a 514 ng/g para *P. pinea*. e Silva et al (2015) entre 245,7 a 967,8 ng/g para *P. pinaster*. Pode-se, por isso, afirmar que os valores obtidos encontram-se dentro dos valores esperados.

Tabela 7 - Soma das concentrações totais obtidas (ng/g) para todos os locais para cada PAH

| Nº de anéis | PAH | <i>P. pinaster</i> (n = 35) | <i>P. pinea</i> (n = 12) |
|-------------------------------|-------------|-----------------------------|--------------------------|
| 3 anéis | ACY | 163 | 29 |
| | ACP | 206 | 63 |
| | FLR | 323 | 277 |
| | PHE | 2600 | 1615 |
| | ANT | 191 | 98 |
| | Soma | 3483 | 2082 |
| 4 anéis | FA | 747 | 392 |
| | PYR | 986 | 372 |
| | BaA | 164 | 77 |
| | CHR | 354 | 248 |
| | Soma | 2252 | 1090 |
| 5 anéis | BbkF | 55 | 17 |
| | BaP | 79 | 19 |
| | DBahA | 50 | 9 |
| | Soma | 184 | 45 |
| 6 anéis | IP | 284 | 6 |
| | BghiP | 62 | 10 |
| | Soma | 347 | 17 |
| Total | | 6265 | 3233 |
| Média ± Desvios padrão | | 179 ± 38 | 269 ± 52 |

5.1.2 Análise estatística

5.1.2.1 Comparação de locais

De forma a analisar e comparar os locais com diferentes tipos de ocupação, somou-se as concentrações obtidas para cada tipo de local por número de anéis e calculou-se a média e o desvio padrão, para ambas as espécies de árvore. Os valores obtidos encontram-se na Tabela

8 para *P. pinaster* e na Tabela 9 para *P. pinea*, juntamente com as concentrações mínimas e máximas (dadas pela soma da concentração de todos os PAHs nesse local) registadas para cada tipo de local, e as respetivas representações gráficas na Figura 4. Os valores mais detalhados encontram-se nas Tabelas A.2 e A.3 do Anexo A.

Tabela 8 - Concentração total, concentração total média e concentrações mínimas e máximas para cada tipo de local, em ng/g (*P. Pinaster*), para os PAHs

| Tipo de local | Concentração total | Concentração média | Concentração mínima | Concentração máxima |
|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|------------------------|
| Urbano (n = 15) | 2320 | 155 | 15 (Santarém) | 306 (Faro - Aeroporto) |
| Industrial (n = 6) | 1318 | 220 | 41 (Sines) | 929 (Leça da Palmeira) |
| Rural (n = 6) | 983 | 164 | 13 (Vale das Mós) | 568 (Caminha) |
| Remoto (n = 8) | 1644 | 233 | 29 (Fóia) | 471 (Rio de Onor) |
| Soma | 6265 | 771 | | |

Tabela 9 - Concentração total, concentração total média e concentrações mínimas e máximas para cada tipo de local, em ng/g (*P. Pinea*), para os PAHs

| Tipo de local | Concentração total | Concentração média | Concentração mínima | Concentração máxima |
|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| Urbano (n = 8) | 2310 | 288,7 | 53 (Faro - Aeroporto) | 894 (Beja - Hospital) |
| Industrial (n = 1) | 18 | 18 | 18 (Sines) | |
| Rural (n = 2) | 511 | 256 | 167 (Midões) | 344 (Quintãs) |
| Remoto (n = 1) | 394 | 394 | 394 (Alcoutim 2) | |
| Soma | 3233 | 956 | | |

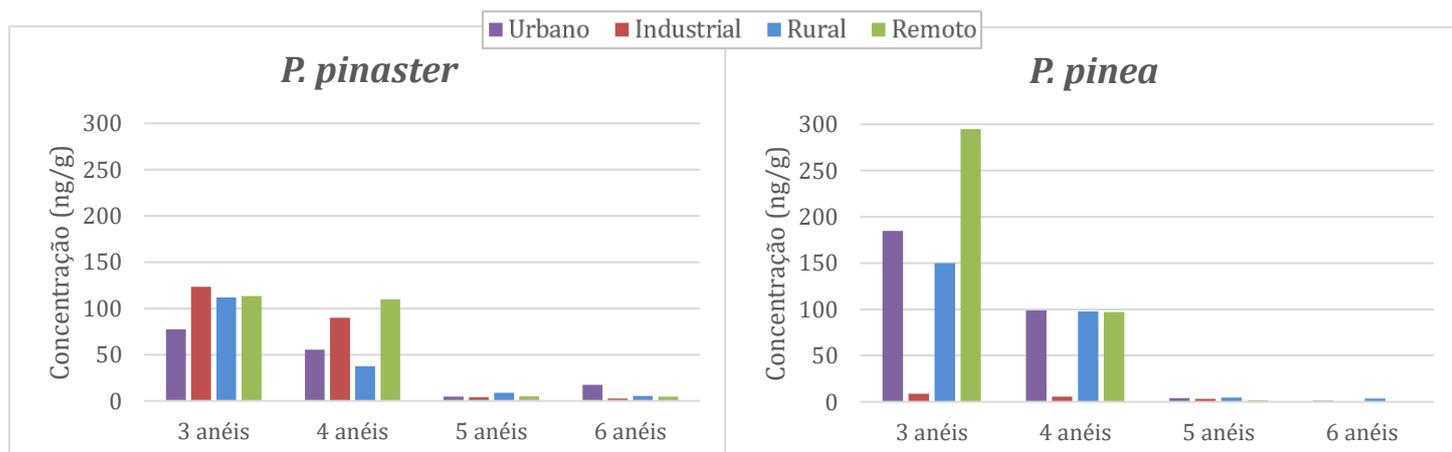


Figura 4 - Representação das concentrações médias para cada tipo de local para ambas as espécies

A partir da análise da Figura 4 verifica-se que, para ambas as espécies, há uma predominância de PAHs mais leves, ou seja, com 3 e 4 anéis, em praticamente todos os tipos

de locais, exceto no único local industrial onde foi possível recolher agulhas de *P. pinea* (Sines), onde a concentração deste tipo de PAHs é muito baixa.

Em relação à *P. pinaster*, para os PAHs com 3 anéis registou-se uma maior concentração média para as zonas industriais, remotas e rurais e, por fim, as zonas urbanas. Para os PAHs de 4 anéis, as maiores médias correspondem aos locais industriais e remotos. Nos PAHs de 5 anéis a diferença entre os locais é mínima, enquanto que os de 6 anéis encontram-se maioritariamente nas zonas urbanas.

Relativamente a *P. pinea*, os PAHs de 3 anéis encontraram-se principalmente nos locais remotos, seguidos de urbanos e depois rurais. No entanto, no único ponto industrial a concentração era quase nula. Esta concentração baixa no local industrial também se verifica nos de 4 anéis, enquanto que os restantes locais apresentaram concentrações bastante semelhantes entre si. Nos PAHs de 5 anéis e 6 anéis todos os locais registaram concentrações quase nulas. Estas baixas concentrações verificadas nos PAHs mais pesados devem-se ao facto de se encontrarem na fase particulada na atmosfera, o que torna difícil manterem-se presos à superfície das agulhas, por exemplo por ações climáticas (chuva ou vento forte). Pelo contrário, os PAHs mais leves encontram-se maioritariamente na fase gasosa, o que ajuda na sua captação e incorporação pela camada cerosa das agulhas, aumentando os níveis de concentração destes (Ratola et al., 2010; Amigo et al., 2011).

As elevadas concentrações de PAHs leves nos locais remotos podem ser explicadas pelo facto de estes serem mais voláteis e facilmente transportados através de longas distâncias. No entanto, seria de esperar concentrações mais elevadas nas zonas industriais e urbanas, uma vez que estes poluentes têm origem maioritariamente antropogénica. Pelo contrário, nestas duas zonas é esperada uma maior presença de PAHs mais pesados, ou seja, com 5 e 6 anéis, uma vez que, por terem um maior peso, se depositam mais rapidamente próximos da sua fonte, devido à sua baixa mobilidade (Alfani et al., 2001; Paris, et al., 2018). Isto verificou-se para *P. pinaster* nos PAHs de 6 anéis na zona urbana, mas não para *P. pinea*.

5.1.2.2 Comparação de espécies

A comparação de espécies tem por objetivo analisar se há diferenças na capacidade de captação entre agulhas de *P. pinaster* e *P. pinea*. Esta comparação só pôde ser efetuada em 7 locais (Alcoutim 2, Braga, Faro (Aeroporto), Sines, Porto, Midões e Quintãs), uma vez que foi apenas nestes em que foi possível encontrar árvores de ambas as espécies lado a lado, ou seja, expostas às mesmas massas de ar. Na Figura 5 encontram-se as concentrações obtidas por ambas as espécies, *P. pinaster* e *P. pinea*, de cada PAH nos locais previamente mencionados.

Nas Figuras 5.d) e 5.f) foi necessário utilizar uma escala diferente de forma a ser possível visualizar os resultados, devido às grandes diferenças dos valores das concentrações.

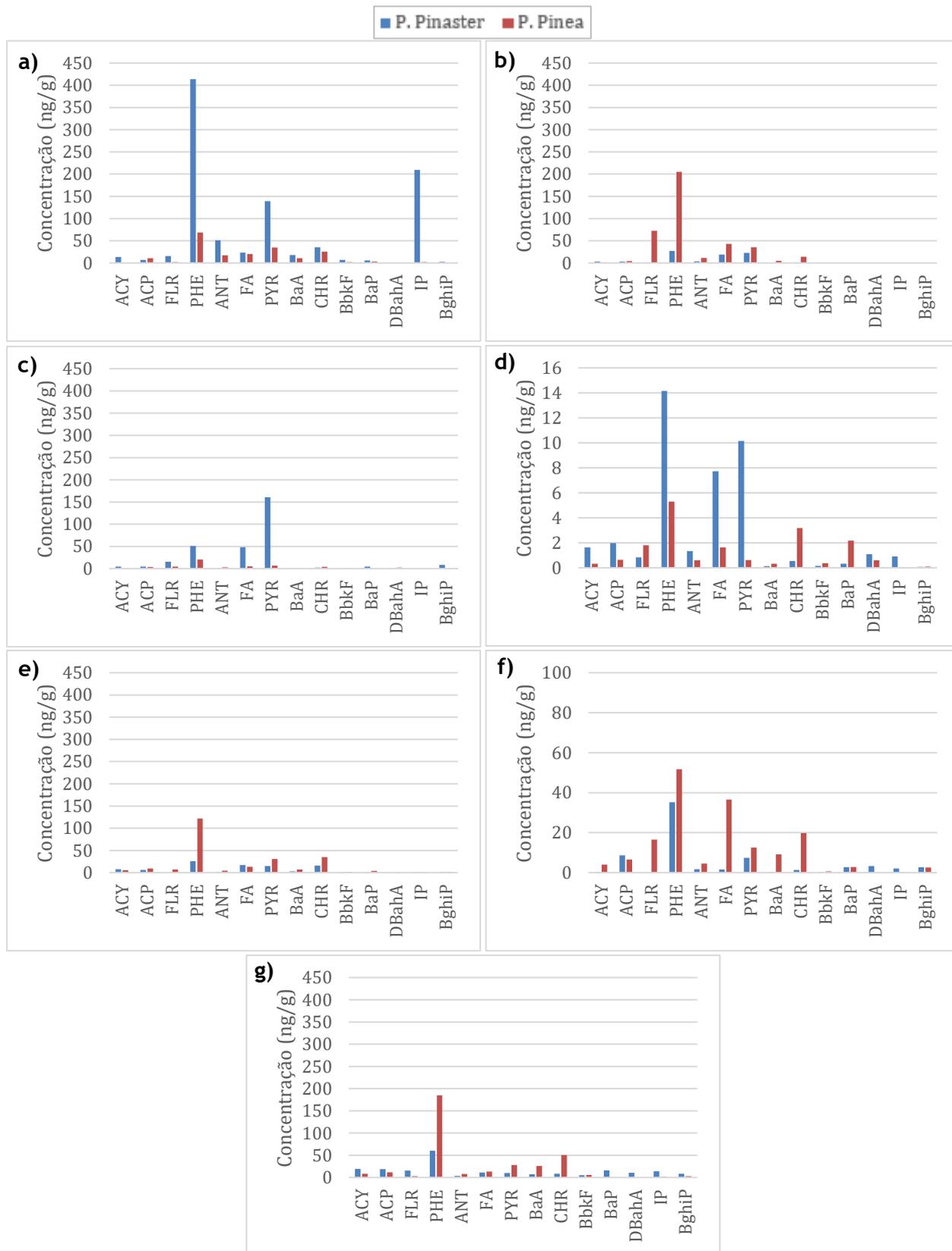


Figura 5 - Representações gráficas das concentrações (ng/g) de PAH para *P. pinaster* e *P. pinea*: a) Braga - Urbano, b) Alcoutim 2 - Remoto, c) Faro (Aeroporto) - Urbano, d) Sines - Industrial, e) Porto (FEUP) - Urbano, f) Midões - Rural, g) Quintãs - Rural

A concentração total obtida de PAHs, nestes locais, para *P. pinaster* foi de 1746 ng/g, enquanto que para *P. pinea* foi de 1418 ng/g. É possível observar que na maioria dos locais, nomeadamente Braga, Alcoutim 2, Faro, Porto e Quintãs, há uma diferença significativa na concentração de determinados PAHs nas agulhas de uma espécie para a outra, principalmente no PHE (Braga, Alcoutim 2, Porto e Quintãs) e no PYR (Braga e Faro). No entanto, a espécie que apresenta a maior concentração desses PAHs varia de local para local, o que indica que a adsorção desses compostos não está associada a uma determinada espécie. No entanto, segundo Ratola et al (2011), as agulhas de *P. pinaster* são mais grossas e longas, o que favorece a adsorção de PAHs mais leves na fase gasosa. Tal não se verificou neste estudo talvez devido à grande incerteza relacionada com a análise de vegetação, ou organismos vivos em geral, devido à sua heterogeneidade.

Para verificar estatisticamente se há diferenças nas concentrações dos PAHs entre as duas espécies estudadas, efetuou-se um *paired t-test* para cada um dos PAHs. No entanto, uma vez que este é um teste paramétrico só aplicável a populações normais, foi necessário verificar primeiro este requisito para cada composto através de um teste de normalidade. Este não se verificou para as amostras de ANT, BaA, BbkF, CHR, DBahA, FLR, IP, PHE e PYR, pelo que não foi possível realizar este teste para estes PAHs.

Na Tabela 10 encontram-se os valores de prova do programa *R* para os *paired t-tests*, realizados a um nível de significância de 5%. Os *resultados* destes testes obtidos no programa *R* encontram-se em anexo (Figura A.1).

Tabela 10 - Valores de prova obtidos para os PAHs

| PAH | Valor de prova |
|-------|----------------|
| ACY | 0,116 |
| ACP | 0,731 |
| BaP | 0,331 |
| BghiP | 0,130 |
| FA | 0,949 |

Através da análise do valor de prova verifica-se que em todos os casos este é superior ao α (0,05), pelo que não se rejeita H_0 , ou seja, não há diferenças significativas entre as médias das concentrações para estes PAHs para cada uma das espécies estudadas, (*P. pinaster* e *P. pinea*). Estes resultados não vão de encontro a outros estudos de comparação entre estas duas espécies (Ratola et al. (2010), Ratola et al. (2011) e Amigo et al. (2011)), que observaram que há efetivamente diferenças na capacidade de adsorção de PAHs das duas espécies.

O teste de Kruskal-Wallis foi realizado de forma a verificar se há diferenças entre as distribuições das concentrações dos PAHS tendo com conta o tipo de local, tipo de amostra e número de anéis, a um nível de significância de 5%. A Tabela 11 apresenta os valores de prova de cada um dos testes. Os testes completos realizados no R podem ser consultados na figura A.3.

Tabela 11 - Testes de Kruskal-Wallis para o tipo de local, tipo de amostra e número de anéis

| Variável | Valor de prova |
|-----------------|-----------------------|
| Tipo de local | 0,823 |
| Tipo de amostra | 0,463 |
| Número de anéis | $2,2 \times 10^{-16}$ |

O valor de prova foi superior ao α nos testes relativamente ao tipo de local e ao tipo de amostra, o que significa que não há diferenças significativas na distribuição dos valores das concentrações nestes casos, o que não se verificou em relação ao número de anéis, logo existem diferenças nas concentrações de PAHs com diferente número de anéis. No entanto, seria de esperar que nos três testes se rejeitasse a hipótese nula de igualdade de distribuições, uma vez que o tipo de local e de espécie amostrada deveria influenciar a concentração destes poluentes. Isto pode ser explicado, tal como já foi referido, devido às incertezas associadas à utilização da vegetação enquanto biomonitor de poluentes orgânicos atmosféricos, uma vez que a concentração presente nesta pode ser afetada por vários fatores.

5.1.3 PCA

De forma a efetuar uma análise mais aprofundada, recorreu-se à PCA de forma a encontrar correlações entre as variáveis em estudo, ou seja, aferir se existe uma relação entre a concentração do poluente e o tipo de ocupação de cada local de onde a amostra foi retirada e a espécie de pinheiro analisada. A análise dos PAHs foi efetuada de forma individual e agrupando de acordo com o número de anéis.

5.1.3.1 Análise individual

Para a PCA foi preciso, em primeiro lugar, verificar o número de PCs necessárias a reter, ou seja, quantas PCs são necessárias para explicar uma parte significativa da variabilidade dos dados. Para isso, recorreu-se aos critérios referidos anteriormente.

Para a análise individual dos PAHs obtiveram-se 14 PCs no total, estando representados na Tabela B.1 do Anexo B os desvios padrão, os valores próprios (dados pelo quadrado do desvio padrão) e a proporção de variância explicada para cada um deles.

Segundo o critério de Kaiser, que consiste em excluir as componentes principais cujos valores próprios sejam inferiores à sua média aritmética (neste caso igual a 1) (Gomes, 2013), o número de componentes a reter é 5, uma vez que a partir da sexta PC os valores próprios são inferiores a 1. Outro dos critérios refere que o número de PCs a reter é aquele que explique pelo menos 80% da variância. De acordo com a Tabela A7, esse valor é alcançado a partir da quinta PC, no entanto até à quarta PC é explicada 79% da variância, pelo que se pode considerar apenas 4 PCs. Por fim, o terceiro critério é através do *scree plot*, representado na Figura 4, que corresponde a uma representação gráfica dos valores próprios em função das PCs.

Este critério afirma que o número de PCs a reter corresponde ao ponto que antecede o momento em que o declive atenua e os valores próprios se começam a aproximar de 0, o que significa que são iguais entre si e pouco ou nada contribuem para a explicação da variabilidade dos dados. Segundo a Figura 6, este valor corresponde à quinta PC, uma vez que a partir deste valor estão próximos de 0. No entanto decidiu-se ter em consideração apenas 4 PCs, uma vez que, como se verificou pelo segundo critério, a maior parte da informação é explicada por eles, pelo que a quinta PC não é muito significativa para a análise dos dados.

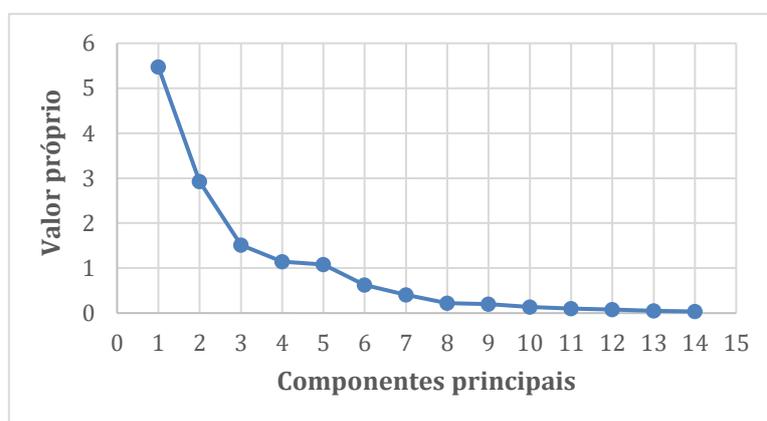


Figura 6 - Scree plot para a análise individual dos PAHs

Na Tabela B.2 do Anexo B encontram-se os *loadings* para as quatro PCs que se escolheu reter, que indicam quais os PAHs que mais contribuíram para a formação dessa componente, ou seja, quanto maior for o *loading* (em valor absoluto), maior o peso dessa variável no PC. A representação gráfica dos *loadings* encontra-se na Figura 7.

Com a análise dos gráficos verifica-se que, relativamente ao PC 1, os PAHs que mais contribuem para a formação desta componente são, por ordem, o ANT, o PHE, o CHR, o PYR e o BaA, que possuem *loadings* superiores a 0,3. Para a PC 2, os compostos com maior peso na componente são o BghiP, o DBahA e o BaP, com *loadings* acima de 0,4 e ACY, acima de 0,3. Por outro lado, é importante referir que o IP apresenta um *loading* praticamente nulo, o que significa que não contribuiu para esta componente. No que diz respeito ao PC 3, destacam-se o IP e FLR, com 0,57 e 0,47 respetivamente, e o DBahA, FA e ANT, com *loadings* superiores a 0,3. Por fim, para a PC 4, o PAH que mais que contribui para a formação desta componente é o ACY, seguido do ACP e BbkF. Nesta componente o DBahA e o FLR apresentam valores praticamente nulos.

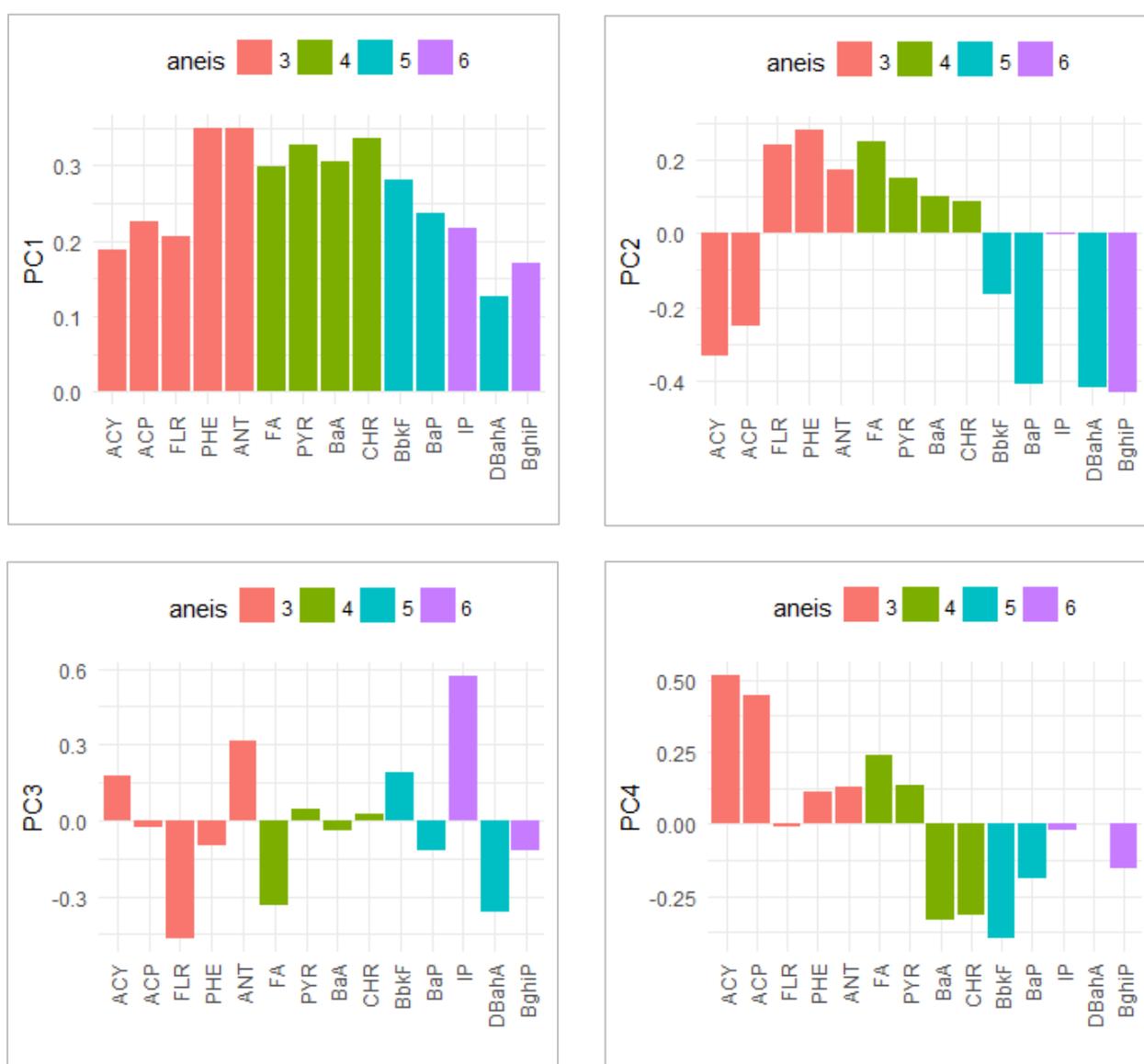


Figura 7 - Representação em gráfico de barras dos loadings para a PC 1, PC 2, PC 3 e PC 4

De seguida, nas Figuras 8 e 9, estão representados os gráficos dos scores da PC 1 vs PC 2 de acordo com o tipo de local e tipo de amostra. Os gráficos para as restantes componentes podem ser consultados nos anexos (Figuras B.2, B.3 e B.4 para o tipo de local e Figuras B.5, B.6 e B.7 para o tipo de amostra, do Anexo B). Os valores dos scores para todas as PCs encontram-se na Tabela B.3 e B.4.

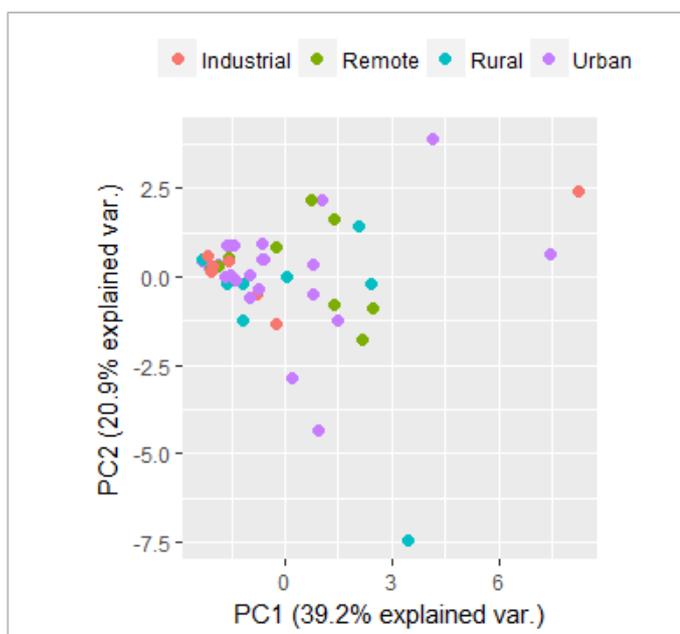


Figura 8 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise individual do tipo de local

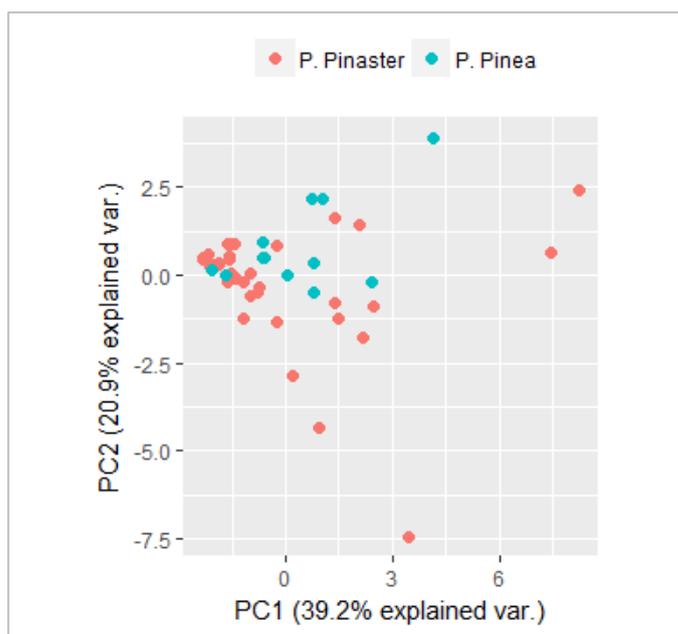


Figura 9 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise individual do tipo de amostra

Em todas as figuras, os pontos relativos aos locais urbanos e rurais estão espalhados sem uma distinção clara entre eles, pelo que é impossível fazer uma análise da correlação entre as amostras e o tipo de local. Relativamente aos locais do tipo industrial, na Figura 8 os pontos encontram-se todos no eixo negativo da PC 1, com exceção de um valor atípico, que apresenta um valor superior a 8. Pela figura dos *loadings* da PC 1 verifica-se que este local possui elevadas concentrações de ANT, PHE, CHR, PYR e BaA, uma vez que são estes compostos que têm mais peso na formação desta componente. A Figura B.1 do Anexo B, com os nomes dos locais identificados em cada ponto, indica que este ponto pertence a Leça da Palmeira. Dos 9 locais remotos amostrados, 5 deles apresentam valores positivos da PC 1 enquanto que 3 locais, nomeadamente Fóia, Fóia (Sul) e Alcoutim 2, apresentam valores negativos deste componente. Isto pode indicar um contraste entre os locais remotos e industriais, uma vez que os pontos destes últimos são maioritariamente negativos.

Não foi possível retirar conclusões acerca da correlação das amostras com o tipo de espécie de pinheiro, uma vez que os pontos se encontram demasiado dispersos sem uma

separação clara entre as duas espécies. No entanto, de acordo com a Figura 9, a espécie *P. pinea* está associada a valores positivos de PC 2 ou próximos de zero, o que, relacionando com os *loadings* da Figura 7, mostra que valores mais elevados deste componente estão associados a concentrações mais altas de PAHs com menos anéis, o que significa que *P. pinea* apresenta uma maior capacidade de captação de PAHs mais leves.

5.1.3.2 Análise por anéis

Para a análise por anéis obtiveram-se 4 PCs, estando na Tabela B.5 do Anexo B representados os desvios padrão, os valores próprios (dados pelo quadrado do desvio padrão) e a proporção de variância explicada para cada um deles.

Segundo o critério de Kaiser deve-se reter apenas o primeiro PC, uma vez que a partir do segundo os valores próprios são inferiores a 1, no entanto, o valor próprio para a PC 2 é tão próximo de 1 que se pode considerar também. Através da proporção da variância explicada acumulada, devem-se reter os PC 1 e PC 2, uma vez que explicam mais de 80% da variância. O *scree plot*, representado na Figura 10, reforça esta escolha.

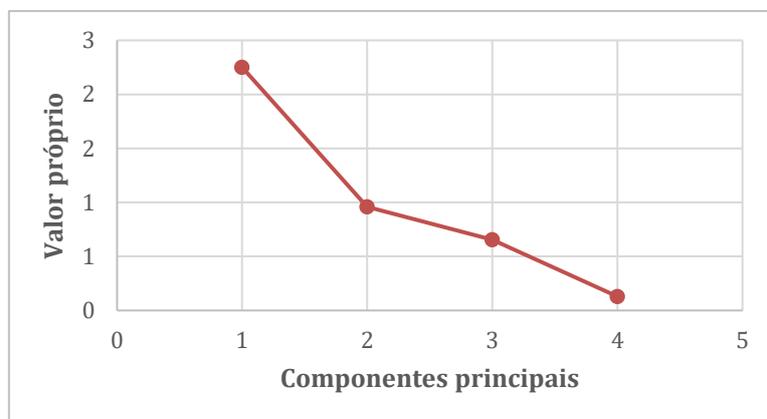


Figura 10 - Scree plot para a análise por anéis dos PAHs

Por isso, para a análise dos PAHs por anéis optou-se por ter em consideração os dois primeiros PCs. Os *loadings* para as duas PCs a reter encontram-se na Tabela B.6 do Anexo B e estão representados graficamente na Figura 11.

Através da Figura 11 é possível observar que, para a PC 1, os PAHs com 3 e 4 anéis são os que mais contribuem para a formação da mesma, apresentando ambos um valor de 0,60, enquanto que para a PC 2 destacam-se os PAHs com 5 anéis. O PC 1 não mostra uma distinção entre os PAHs mais leves, com 3 e 4 anéis, e os mais pesados, com 5 e 6 anéis, no entanto o PC 2 separa

estes dois grupos, os mais leves apresentando *loadings* positivos, e os mais pesados *loadings* negativos.

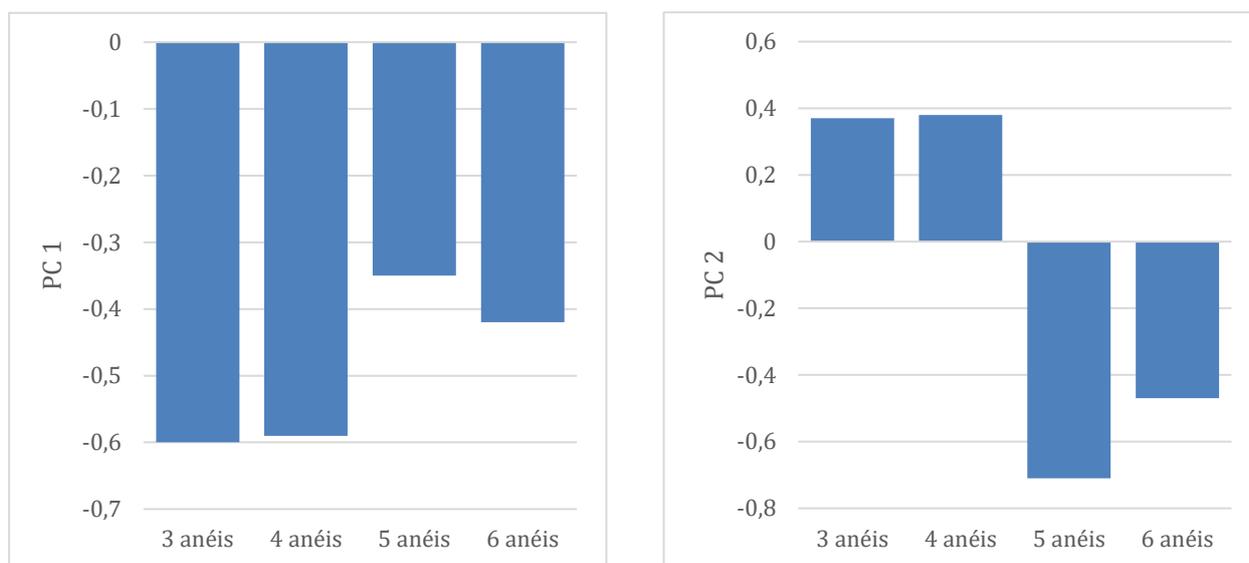


Figura 11 - Representação em gráfico de barras dos loadings para a PC 1 e a PC 2

De seguida, nas Figuras 12 e 13, estão representados os gráficos dos scores da PC 1 vs PC 2 de acordo com o tipo de local e com o tipo de amostra. Os valores dos scores para todas as PCs encontram-se na Tabela B.7.

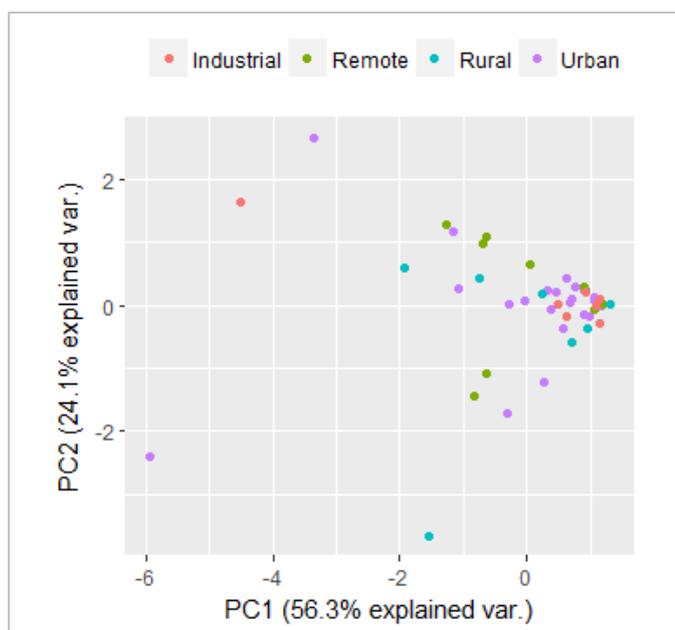


Figura 12 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise por anéis do tipo de local

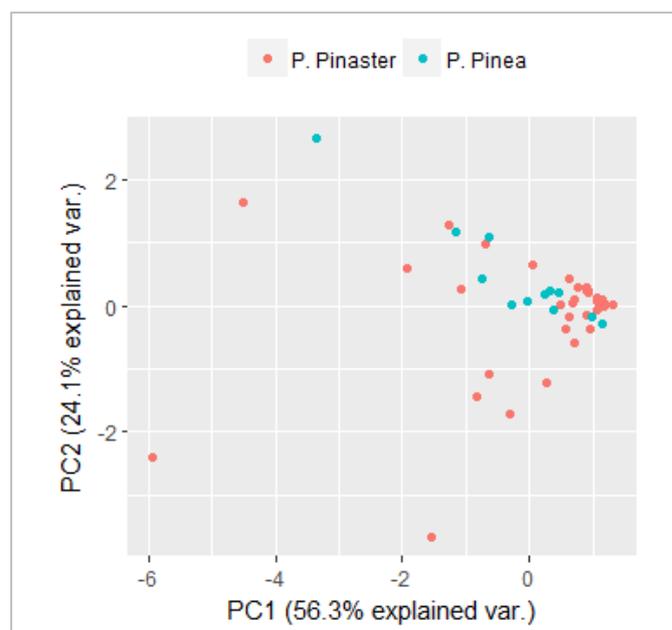


Figura 13 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise por anéis do tipo de amostra

Os gráficos obtidos, tanto para o tipo de local como para o tipo de amostra, são semelhantes aos obtidos para a análise individual pelo que as conclusões retiradas também são similares. No entanto, estes gráficos são simétricos aos da análise individual relativamente ao eixo vertical uma vez que os *loadings* da PC 1 da análise por anéis apresentam sinal oposto ao da PC 1 da análise individual.

Os pontos dos locais urbanos e rurais estão espalhados sem uma distinção clara entre eles, pelo que é impossível fazer uma análise da correlação entre as amostras e o tipo de local. Tal como na análise individual, destaca-se um valor atípico nos pontos relativamente aos locais industriais, que se encontra na parte negativa do PC 1, enquanto que os restantes pontos industriais encontram-se na parte positiva deste. Observando os *loadings* desta componente verifica-se que este local, nomeadamente Leça da Palmeira de acordo com a Figura B.8 presente no Anexo B, apresenta elevadas concentrações de PAHs com 3 e 4 anéis, o que está em concordância com a análise individual.

Não foi possível retirar conclusões acerca da correlação das amostras com o tipo de espécie de pinheiro, uma vez que os pontos se encontram demasiado dispersos, pelo que não se pode comparar as duas espécies. Mas para *P. pinea*, tal como se verificou na análise individual, os scores da PC 2 encontram-se principalmente na parte positiva ou próximos de zero que, segundo os *loadings* na Figura 11, mostram que os valores positivos desta componente estão associados a PAHs com menor número de anéis, o que indica uma maior afinidade desta espécie com PAHs mais leves.

5.2 Almíscares sintéticos

A Tabela A.4 com as concentrações para cada almíscar sintético em todos os locais encontra-se no Anexo A. Não foram detetadas concentrações de nitro almíscares, nomeadamente MA, MK, MM, MT e MX, pelo que apenas foram analisados os almíscares policíclicos: CASH, CEL, GAL, PHAN, TON e TRAS.

5.2.1 Descrição dos dados

Na Tabela 12 encontram-se as somas das concentrações totais obtidas para cada almíscar policíclico em todos os locais e os respetivos desvios padrão.

A concentração total de almíscares sintéticos foi de 1602 ng/g para *P. pinaster* (n = 35) e 217 ng/g para *P. Pinea* (n = 12), no entanto estas concentrações não se podem comparar uma vez que os pontos de amostragem foram diferentes. As concentrações dos compostos variaram

entre 0,5 e 783 ng/g para *P. pinaster* e 0,2 e 150 para *P. pinea*. Os almíscares que registaram uma maior concentração foram, para *P. pinaster*, o GAL e o CASH, com 783 ng/g e 772 ng/g, respetivamente. Para *P. pinea*, a concentração de GAL foi de 57 ng/g e de CASH foi 150 ng/g. O GAL também foi o almíscar mais frequente no estudo de Busso et al (2018). Os únicos almíscares policíclicos com uso restringido são o PHAN e o TON, pelo que é expectável que estes apresentem valores de concentração mais baixos, o que se verifica. No entanto, não são as concentrações mais reduzidas. Os valores mais baixos registaram-se para o TRAS, com 0,5 ng/g e 0,2 ng/g para *P. pinaster* e *P. pinea*, respetivamente, e para o CEL, com 0,1 ng/g e 3,8 ng/g.

A concentração média obtida para *P. pinaster* foi de 46 ± 31 ng/g e 18 ± 8 ng/g para *P. pinea*. No primeiro estudo da presença de almíscares sintéticos na atmosfera, Ratola et al (2014) registaram entre <1 a 460 ng/g de concentração de média total utilizando *P. pinaster* e *P. pinea* como espécies biomonitoras em Portugal. Silva et al (2015) obtiveram entre 20,7 a 277 ng/g, para *P. pinaster*, também em Portugal, pelo que se pode afirmar que a concentração média obtida é um valor baixo quando comparado com outros estudos efetuados no mesmo país.

Tabela 12 - Soma das concentrações obtidas (ng/g) para cada local para cada almíscar sintético

| Almíscar sintético | <i>P. pinaster</i> (n=35) | <i>P. pinea</i> (n=12) |
|------------------------------|---------------------------|------------------------|
| CASH | 772 | 150 |
| CEL | 0,1 | 3,8 |
| PHAN | 15 | 0,9 |
| TRAS | 0,5 | 0,2 |
| GAL | 783 | 57 |
| TON | 32 | 5 |
| Total | 1602 | 217 |
| Média ± Desvio padrão | 46 ± 31 | 18 ± 8 |

5.2.2 Análise estatística

5.2.2.1 Comparação de locais

As somas, médias e desvios padrão das concentrações obtidas para cada tipo de local, para ambas as espécies de árvore, estão representados nas Tabelas 13 e 14, juntamente com as concentrações mínimas e máximas, e na Figura 14 os gráficos com as concentrações médias para cada tipo de local.

Tabela 13 - Concentrações totais, médias, desvios padrão e concentrações mínimas e máximas obtidas para cada tipo de local, em ng/g (*P. pinaster*), para os almíscares sintéticos

| Tipo de local | Soma | Média | Desvio padrão | Concentração mínima | Concentração máxima |
|--------------------|-------------|------------|---------------|--|--------------------------------|
| Urbano (n = 15) | 341 | 23 | 27 | 0,0 (Vila Real, Faro - Universidade, Santarém e Coimbra) | 82 (Leiria) |
| Industrial (n = 6) | 359 | 60 | 70 | 0,1 (Estarreja) | 193 (Arrábida - Vale da Rasca) |
| Rural (n = 6) | 318 | 53 | 72 | 0,0 (Vila Real Santo de António e Vale das Mós) | 190 (Quintãs) |
| Remoto (n = 8) | 584 | 73 | 126 | 1,4 (Fóia - Sul) | 371 (Alcoutim) |
| Soma | 1602 | 209 | 296 | | |

Tabela 14 - Concentrações totais, médias, desvios padrão e concentrações mínimas e máximas obtidas para cada tipo de local, em ng/g (*P. pinea*), para os almíscares sintéticos

| Tipo de local | Soma | Média | Desvio padrão | Concentração mínima | Concentração máxima |
|--------------------|------------|-----------|---------------|---------------------|---------------------|
| Urbano (n = 8) | 142 | 18 | 14 | 2,0 (Beja - Parque) | 42 (Braga) |
| Industrial (n = 1) | 0,2 | 0,2 | - | 0,2 (Sines) | |
| Rural (n = 2) | 45 | 23 | 9 | 16 (Sines) | 29 (Quintãs) |
| Remoto (n = 1) | 30 | 30 | - | 30,1 (Alcoutim 2) | |
| Soma | 217 | 71 | 23 | | |

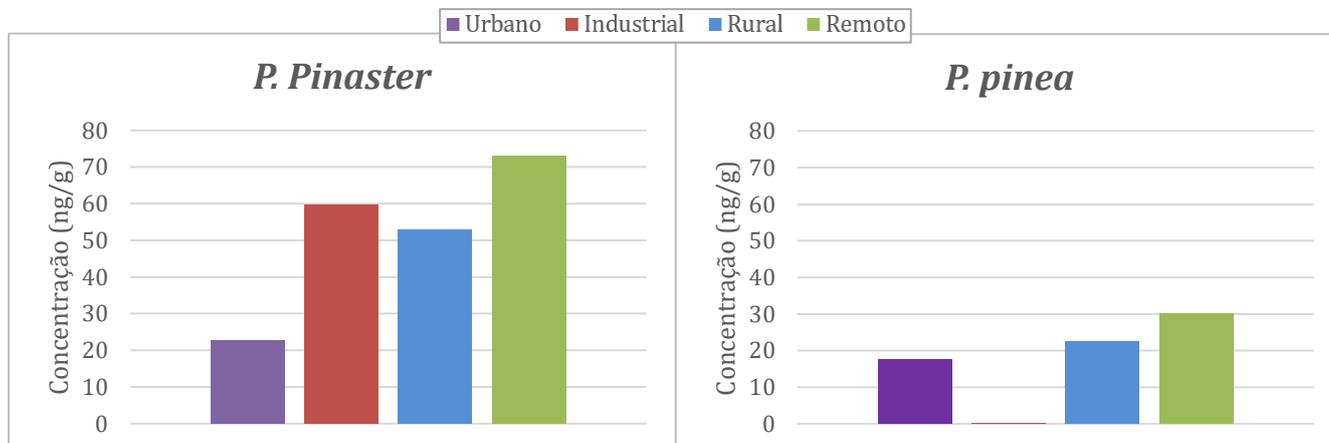


Figura 14 - Representação das concentrações médias para cada tipo de local para ambas as espécies

As figuras mostram que, para as duas espécies, os locais remotos são os que possuem uma maior concentração média de almíscares. No entanto, seria de esperar maiores concentrações nas zonas urbanas e industriais, uma vez que as fontes dos almíscares são antropogénicas, e menores concentrações nas zonas rurais e remotas. Esta tendência verificou-se nos estudos de Silva et al (2015) e Busso et al (2018). O facto de os locais remotos mostrarem ter as concentrações mais elevadas indica que estes poluentes podem ser facilmente transportados pela atmosfera por longas distâncias, depositando-se em lugares afastados da sua fonte de emissão.

Para *P. pinaster*, o tipo de local com valores mais elevados depois dos remotos são os industriais, onde é esperado encontrar também valores elevados. No entanto, para *P. pinea*, o valor de concentração é quase nulo no único local industrial onde foi possível recolher amostras desta espécie, o que pode significar que Sines, apesar de industrial, é um local quase sem a presença destes poluentes. Contudo, uma vez que se trata de apenas um ponto, este pode não representar uma tendência generalizada, para isso seria necessário a recolha de um maior número de amostras.

5.2.2.2 Comparação de espécies

Na Figura 15 encontram-se as concentrações obtidas por ambas as espécies, *P. pinaster* e *P. pinea*, de cada almíscar sintético nos 7 locais onde foi possível recolher amostras das duas espécies. Nas Figuras 5.a) e 5.b) foi necessário alterar a escala do eixo vertical de forma a conseguir visualizar alguns valores. Como o CEL não foi detetado em nenhum destes locais, não foi representado nos gráficos.

A concentração total para estes locais registada na *P. pinaster* foi de 440 ng/g, enquanto que em *P. pinea* foi de 149 ng/g, o que mostra que *P. pinaster* tem uma melhor capacidade de adsorção destes compostos. Isto verifica-se em todos os locais, exceto em Alcoutim 2, onde a concentração de GAL era nula em *P. pinaster* e 28,9 ng/g em *P. pinea*, e em Midões, onde a concentração de CASH é maior em *P. pinea* do que em *P. pinaster*. Praticamente em todos os locais só se verificou a presença de CASH e GAL, excetuando Braga, que tinha uma pequena concentração de TON, e Quintãs, que possui também PHAN e TON. A forte presença de CASH e GAL deve-se às suas altas volatilidades, que faz com que sejam mais facilmente transportados, e à sua elevada utilização.

Para tentar arranjar uma relação entre as duas espécies recorreu-se ao *paired t-test*, que apenas pôde ser efetuado ao CASH (Figura A.2), uma vez que, para os outros almíscares os valores, os valores de concentração obtidos são nulos, ou têm apenas um valor não nulo. O *paired t-test* realizado no R, a um nível de significância de 5%, teve como valor de prova 0,081. Como o valor de prova é superior ao α (0,05), não se rejeita H_0 , logo a diferença das médias das concentrações de CASH para cada uma das espécies não é significativamente diferente de zero. Como tal pode-se afirmar que, para este único composto, não há diferenças entre *P. pinaster* e *P. pinea*, tal como no caso dos PAHs, no entanto como apenas se trata de um teste não se pode generalizar esta conclusão.

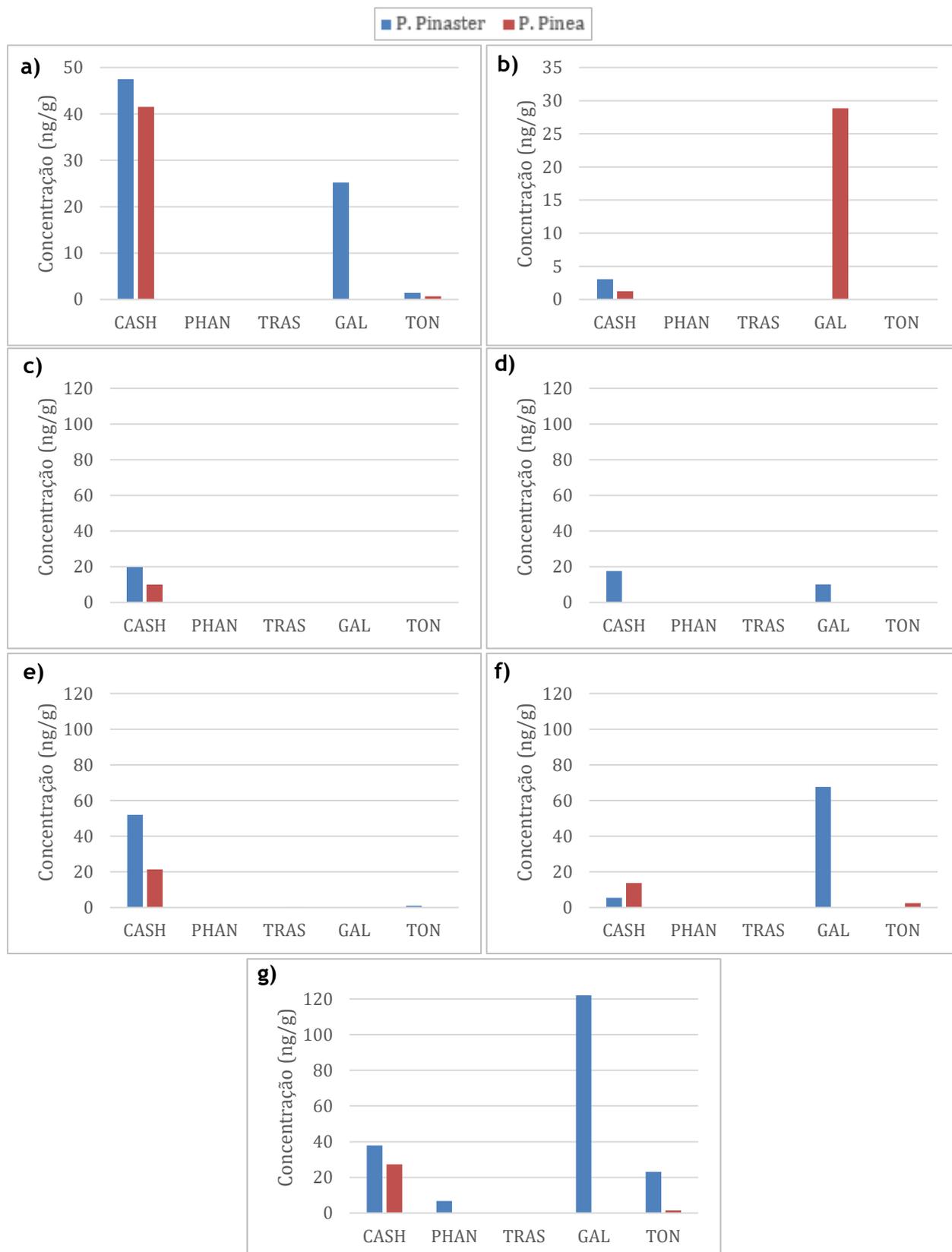


Figura 15 - Representações gráficas das concentrações (ng/g) de almíscares sintéticos para *P. pinaster* e *P. pinea*: a) Braga - Urbano, b) Alcoutim 2 - Remoto, c) Faro (Aeroporto) - Urbano, d) Sines - Industrial, e) Porto (FEUP) - Urbano, f) Midões - Rural, g) Quintãs - Rural

O teste de Kruskal-Wallis foi realizado de forma a verificar se há diferenças entre os valores das concentrações dos compostos tendo em conta o tipo de local e o tipo de amostra, a um nível de significância de 5%. Estes testes encontram-se na Figura A.4. Para o tipo de local obteve-se um valor de prova de 0,608 e para o tipo de amostra um valor de 0,536. Em ambos os testes, o valor de prova foi superior ao α , pelo que se conclui que a distribuição dos valores de cada composto não é significativamente diferente, no entanto seria de esperar que o fossem, uma vez que o tipo de ocupação do local e a espécie de onde se retirou a amostra deveria influenciar a concentração destes compostos.

5.2.3 PCA

No *R* obtiveram-se 6 PCs, estando na Tabela B.8 do Anexo B representados os desvios padrão, os valores próprios (dados pelo quadrado do desvio padrão) e a proporção de variância explicada para cada um deles.

De acordo com o critério de Kaiser devem-se reter apenas os dois primeiros PCs, uma vez que a partir do terceiro PC os valores próprios são inferiores a 1. Através da proporção de variância explicada acumulada, deve-se reter até ao PC 4, uma vez que é a partir desse ponto explicam mais de 80% da variância, e segundo o *scree plot*, representado na Figura 16, também se devem reter os dois primeiros PCs, uma vez que a partir do segundo PC o declive atenua. Por isso, para a análise dos almíscares sintéticos optou-se por ter em consideração três PCs.

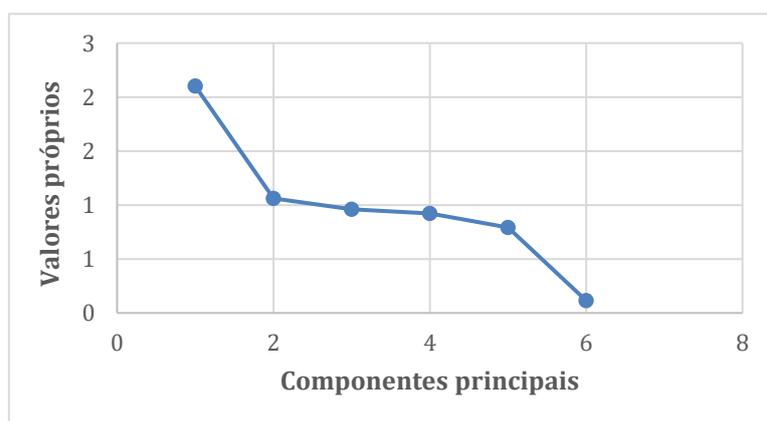


Figura 16 - Scree plot para os almíscares sintéticos

Os *loadings* para as três PCs a reter (Tabela B.9 do Anexo B) estão representados graficamente na Figura 17.

Na Figura 17 observa-se que, para a PC 1, os almíscares que mais contribuem para a sua formação são o PHAN e o TON com *loadings* acima de 0,60. No PC 2 destacam-se o TRAS, o CEL e o CASH, com *loadings* de -0,64, 0,52 e -0,47, respetivamente, o que mostra uma separação do CEL em relação ao TRAS e CASH, devido aos sinais opostos. Relativamente ao PC 3, este é formado maioritariamente pelo CEL, com um *loading* de -0,85, enquanto que o segundo maior *loading* corresponde ao TRAS com -0,41.

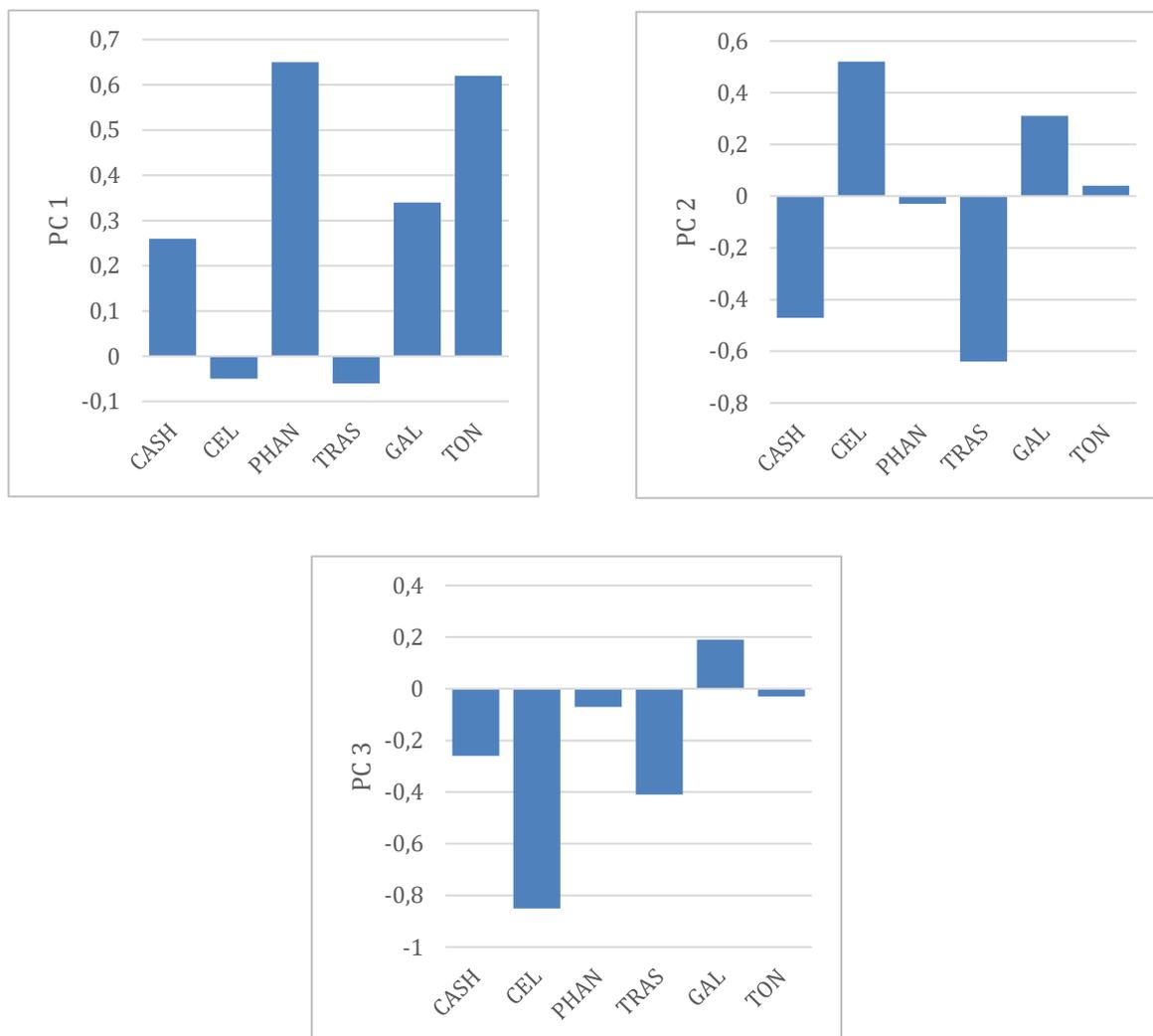


Figura 17 - Representação em gráfico de barras dos loadings para PC 1, PC 2 e PC 3

Nas Figuras 18 e 19 estão representados os gráficos dos *scores* da PC 1 vs PC 2 para a análise dos tipos de locais e do tipo de amostras, respetivamente. Os gráficos das restantes PCs encontram-se no Anexo B (Figuras B.10 e B.11). Os valores das *scores* para todas as PCs estão na tabela B.10.

Na Figura 18 os pontos dos locais urbanos, industriais e remotos encontram-se distribuídos de uma forma dispersa, logo não é possível retirar as conclusões pretendidas. A única análise possível de se fazer é no gráfico da PC 1 vs PC 2 nos pontos rurais, onde todos se encontram no eixo negativo da PC 1, exceto um valor atípico, na parte positiva desta PC à direita do gráfico. De acordo com a Figura B.9 do Anexo B, este ponto pertence a Quintãs, onde foi registada uma elevada concentração de almíscares comparativamente aos restantes locais, o que explica a sua separação do resto dos pontos. Através do gráfico dos *loadings* para a PC 1 (Figura 17), verifica-se que os compostos mais presentes em Quintãs são o PHAN e o TON.

Em relação ao tipo de amostra, na Figura 19 nada se pode observar nos pontos de *P. pinaster*, enquanto que para *P. pinea* verifica-se que esta está associada a valores negativos da PC 1. Através dos gráficos dos *loadings* para esta componente na Figura 17 chega-se à conclusão de que esta espécie possui valores mais elevados de CEL e TRAS, comparativamente a *P. pinaster*.

No entanto, deve-se ter em consideração que o conjunto de valores para estes poluentes apresenta poucos valores não nulos, pelo que esta PCA deve ser interpretada com algum cuidado.

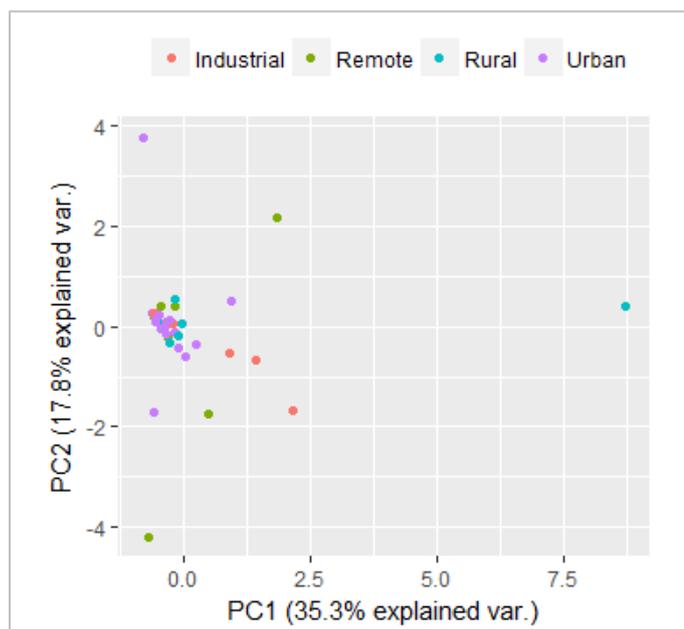


Figura 18 - Scores da PC 1 vs PC 2 para o tipo de local

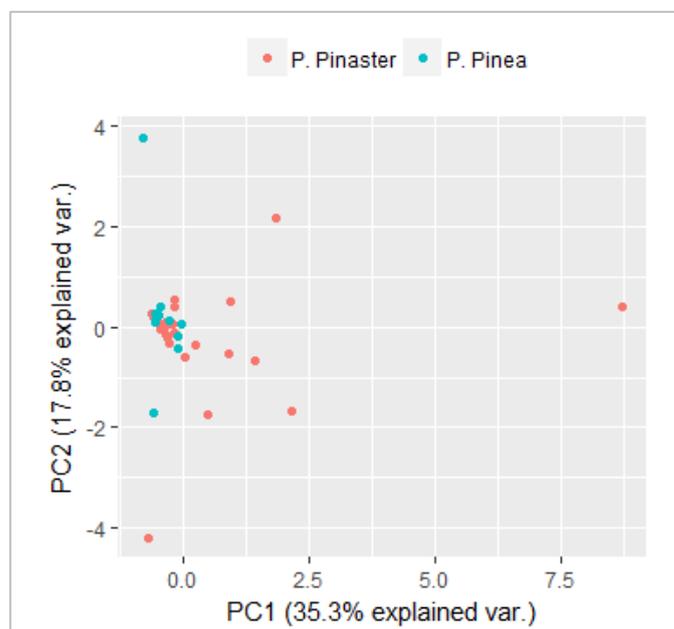


Figura 19 - Scores da PC 1 vs PC 2 para o tipo de amostra

6 Conclusões

Esta dissertação foi realizada com o objetivo de efetuar uma avaliação estatística, através do uso de vegetação, da presença de PAHs e almíscares sintéticos na atmosfera de Portugal, estabelecendo correlações entre os tipos de locais e espécie de pinheiro amostrada.

6.1 Resultados obtidos

As concentrações médias de PAHs obtidas foram de 179 ± 38 ng/g para a *P. pinaster* e 269 ± 52 ng/g para *P. pinea*, enquanto que as concentrações totais por composto variaram entre 49,6 ng/g e 2600 ng/g para *P. pinaster*, e entre 6,4 ng/g e 1615 ng/g para *P. pinea*. Os PAHs mais presentes foram os de menor peso molecular, nomeadamente PHE e PYR, que possuem 3 e 4 anéis, respetivamente. Verificou-se uma elevada concentração em locais remotos destes compostos, o que não era expectável, mas que pode ser explicado pelo facto de os PAHs mais leves serem mais voláteis e por isso, mais facilmente transportados para locais distantes da sua fonte de emissão. Na comparação das duas espécies, a concentração total obtida para *P. pinaster* foi de 1746 ng/g e para *P. Pinea* foi de 1418 ng/g. Verificou-se diferenças nas concentrações de cada tipo de árvore, contudo essa diferença não foi confirmada pelos *paired t-tests* aos compostos a que foram realizados, que indicaram que não havia diferenças entre as espécies. Por fim o teste de Kruskal-Wallis mostrou que não havia influência do tipo de local ou espécie de árvore, mas sim pelo número de anéis.

Em relação aos almíscares, só se analisou os policíclicos, uma vez que não foram detetados nitro-almíscares. A concentração média obtida para *P. pinaster* foi de 46 ± 31 ng/g e 18 ± 8 ng/g para *P. pinea*, em que as concentrações dos compostos variaram entre 0,5 e 783 ng/g para *P. pinaster* e 0,2 e 150 para *P. pinea*. Os almíscares que registaram uma maior concentração foram, para ambas as espécies, o GAL e o CASH. Os locais que mostraram a maior presença de almíscares foram os remotos, o que também não era de esperar, o que indica que estes também são facilmente transportados por longas distâncias. Nos 7 locais onde foi possível recolher ambas as espécies, a concentração total registada, na *P. pinaster* foi de 441 ng/g, enquanto que na *P. pinea* foi de 149 ng/g, o que mostra que a *P. pinaster* possui uma melhor capacidade de adsorção destes poluentes. Esta diferença não foi confirmada pelo *t-test*, que apenas pode ser realizado para o CASH, pelo que não pode ser generalizada. O teste de Kruskal-Wallis mostrou que não havia diferenças nos valores das amostras tendo em conta o tipo de local ou tipo de amostra.

Os valores de PAHs foram bastante superiores aos dos almíscares, o que demonstra que os primeiros estão mais presentes na atmosfera. Isto pode dever-se ao facto de alguns

almíscares terem tido o seu uso restringido, ou mesmo banido e também por o número de fontes de emissão dos PAHs ser superior ao dos almíscares sintéticos.

Na PCA, a nível de PAHs para a análise individual foi possível observar uma separação entre os pontos remotos e industriais na PC 1, onde os primeiros apresentaram maioritariamente valores positivos e os segundos valores negativos. Destacou-se também um valor atípico pertencente a Leça da Palmeira, uma zona industrial uma elevada concentração de PAHs leves. A nível do tipo de amostra não foi possível verificar uma separação entre as duas espécies, apenas se verificou que *P. pinea* apresenta uma maior capacidade de captação de PAHs mais leves. As mesmas conclusões foram retiradas para a análise por anéis. Relativamente aos almíscares sintéticos, também se registou um valor atípico que correspondia a Quintãs, uma zona rural com uma elevada presença de PHAN e TON mas não se observou nenhuma correlação para os restantes tipos de locais. No que diz respeito ao tipo de espécie, nada se concluiu acerca de *P. pinaster*, verificou-se apenas que *P. pinea* apresenta valores elevados de CEL e TRAS. Contudo, esta PCA deve ser interpretada com alguma precaução, uma vez que o conjunto de valores para os almíscares apresentava poucos valores não nulos.

6.2 Limitações e trabalhos futuros

Alguns dos resultados que não permitiram retirar conclusões evidentes podem ser explicados uma vez que o uso da vegetação enquanto matriz para biomonitorização pode ser, por vezes, demasiado incerta devido à influência de vários fatores, como as condições climatéricas, nomeadamente chuva e vento, a localização da árvore e até da folha/agulha na própria planta. A comparação entre *P. pinaster* e *P. pinea* apenas pôde ser efetuada em 7 locais, o que constitui um pequeno número de observações, pelo que seria necessário um número de amostras maior para se realizar uma avaliação mais fidedigna. Também é preciso ter em consideração os valores de concentração obtidos, uma vez que, neste caso, muitos dos valores para os almíscares eram nulos, o que impossibilitou a realização de *t-tests* para todos os compostos exceto o CASH.

Apesar de terem sido analisadas agulhas de pinheiro e ter sido realizado apenas para o outono, este tipo de estudos poderá ser realizado também com outras espécies de vegetação e ainda para verificar eventuais variações temporais/sazonais das concentrações dos poluentes-alvo. Para isso seriam necessárias um mínimo de 4 campanhas de amostragem por ano, uma em cada estação. Por outro lado, na realização de estudos comparativos é importante o uso da mesma espécie de vegetação, uma vez que estas apresentam diferentes propriedades e por isso, diferentes capacidades de captação.

Seja como for, a utilização de agulhas de pinheiro apresenta várias vantagens: fácil recolha de amostras que pode ser realizada ao longo de todo o ano e em vários locais, uma vez que os pinheiros possuem uma vasta distribuição ou a capacidade de retenção deste tipo de compostos durante vários anos. Por isso a utilização da vegetação na biomonitorização, aliada a técnicas estatísticas uni e multivariadas, é uma ferramenta extremamente útil para avaliação da concentração e tendências de poluentes orgânicos atmosféricos.

7 Referências

- Alfani, A., Maisto, G., Prati, M. V. & Baldantoni, D., 2001. Leaves of *Quercus ilex* L. as biomonitors of PAHs in the air of Naples (Italy). *Atmospheric Environment*, Volume 35, pp. 3553-3559.
- Amigo, J. M., Ratola, N. & Alves, A., 2011. Study of geographical trends of polycyclic aromatic hydrocarbons using pine needles. *Atmospheric Environment*, Volume 45, pp. 5988-5996.
- Arbex, M. A., Santos, U. P., Martins, L. C., Saldiva, Paulo H. N., Pereira, L. A. A. & Braga, A. L. F., 2012. A poluição do ar e o sistema respiratório. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, Volume 38, pp. 643-655.
- Bettin, S. M. & Franco, D. W., 2005. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em aguardentes. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Volume 2, pp. 234-238.
- Bianconi, A., Govone, J. S., von Zuben, C. J., Pião, A. C. S., Pizano, M. A. & Alberti, L. F., 2008. Transformação de dados e implicações da utilização do teste de Kruskal-Wallis em pesquisas agroecológicas. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, Volume 18, pp. 27-34.
- Busso, I. T., Florencia, T., Silva, J. A., Ramos, S., Homem, V., Ratola, N., Carreras, H., 2018. Biomonitoring levels and trends of PAHs and synthetic musks associated with land use in urban environments. *Science of the Total Environment*, Volume 618, pp. 93-100.
- Caruso, M. S. F. & Alaburda, J., 2008. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, Volume 1, pp. 1-27.
- Castro, D. M. O., 2010. *Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos no ar ambiente*, Porto: FEUP.
- Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto de 2007, Diretiva CE, 1998
- Diretiva 2004/107/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 15 de dezembro de 2004
- Drooge, B. L. v., Garriga, G. & Grimalt, J. O., 2014. Polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles (*Pinus halepensis*) along a spatial gradient between a traffic intensive urban area (Barcelona) and a nearby natural park. *Atmospheric Pollution Research*, Volume 5, pp. 398-403.
- Elliott, A. C. & Hynan, L. S., 2011. A SAS® macro implementation of a multiple comparison. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, Volume 112, pp. 75-80.
- Eriksson, G., Jensen, S., Kylin, H. & Strachan, W., 1989. The pine needle as a monitor of atmospheric pollution. *Nature Publishing Group*, Volume 341, pp. 42-44.

- Ferreira, M. M. C., Antunes, A. M., Melgo, M. S. & Volpe, P. L. O., 1999. Quimiometria I: Calibração multivariada, um tutorial. *Química Nova*, Volume 22, pp. 724-731.
- Godinho, M. S., Pereira, R. O., Ribeiro, K. O., Schimidt, F., Oliveira, A. E. & Oliveira, S. B., 2008. Classificação de refrigerantes através de análise de imagens e análise de componentes principais (PCA). *Química Nova*, 31(6), pp. 1485-1489.
- Gomes, V. S. P. S., 2013. *Análise estatística multivariada aplicada a dados hidrológicos*. Universidade de Lisboa: Faculdade de Ciências.
- Guo, S., Zhong, S. & Zhang, A., 2013. Privacy-preserving Kruskal-Wallis test. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, Volume 112, pp. 135-145.
- Gupta, H., 2018. PAH determination in effluent and sludge samples of paper industry. *Environmental Technology & Innovation*, Volume 9, pp. 115-121.
- Homem, V., Magalhães, I., Alves, A. & Santos, L., 2017. Assessing seasonal variation of synthetic musks in beach sands from Oporto coastal area: A case study. *Environmental Pollution*, Volume 226, pp. 190-197.
- Homem, V., Silva, J. A., Ratola, N., Santos, L. & Alves, A., 2015. Long lasting perfume e A review of synthetic musks in WWTPs. *Journal of Environmental Management*, Volume 149, pp. 168-192.
- Hongyu, K., Sandanielo, V. L. M. & Junior, G. J. d. O., 2015. Análise de Componentes Principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. *Engineering and Science*, Volume 1, pp. 83-90.
- Jolliffe, I. T., 2004. *Principal Component Analysis*. EUA: Springer.
- Kuklinska, K., Wolska, L. & Namiesnik, J., 2014. Air quality policy in the U.S. and the EU - a review. *Atmospheric Pollution Research*, Volume 6, pp. 129-137.
- Marôco, J., 2011. *Análise Estatística com o SPSS Statistics*. 5ª ed. Portugal:ReportNumber.
- Mas, S., Juan, A., Tauler, R., Olivieri, A. C. & Escandar, G. M., 2010. Application of chemometric methods to environmental analysis of organic pollutants: A review. *Talanta*, Volume 80, pp. 1052-1067.
- Meire, R. O., Azeredo, A. & Torres, J. P. M., 2007. Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. *Oecologia brasiliensis*, Volume 11, pp. 188-201.
- Montgomery, D. C. & Runger, G. C., 2003. *Applied Statistics and Probability for Engineers*. 3ª ed. Estados Unidos da América: John Wiley & Sons.
- Neto, B. d. B., Scarminio, I. S. & Bruns, R. E., 2006. 25 anos de quimiometria no Brasil. *Química Nova*, 9(6), pp. 1401-1406.

Netto, A. D. P., Moreira, J. C., Dias, A. E. X. O., Arbilla, G., Ferreira, L. F. V., Oliveira, A. S. & Barek, J., 2000. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): Uma revisão metodológica. *Química Nova*, Volume 6, pp. 765-773.

Paris, A., Ledauphin, J., Poinot, P. & Gaillard, J.-L., 2018. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables: Origin, analysis, and occurrence. *Environmental Pollution*, Volume 234, pp. 96-106.

Parreira, T. F., 2003. *Utilização de métodos quimiométricos em dados de natureza multivariada*. Instituto de Química: Universidade Estadual de Campinas.

Piairo, H. I. d. R., 2013. *Biomonitorização Ambiental em Portugal Continental: Uma Análise Espacial e Temporal*. Universidade do Minho: Escola de Ciências.

Piccardo, M. T., Pala, M., Bonaccorso, B., Stella, A., Redaelli, A., Paola, G. & Valerio, F., 2005. *Pinus nigra* and *Pinus pinaster* needles as passive samplers of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Pollution*, Volume 133, pp. 293-301.

Pinkas, A., Gonçalves, C. L. & Michael, A., 2017. Neurotoxicity of fragrance compounds: A review. *Environmental Research*, Volume 158, pp. 342-349.

R, 2018. *R: What is R?*. [Online]

Available at: <https://www.r-project.org/about.html>

[Acedido em 30 05 2018].

Rainieri, S., Barranco, A., Primec, M. & Langerholc, T., 2017. Occurrence and toxicity of musks and UV filters in the marine environment. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 104, pp. 57-68.

Ramos, S. F., 2013. *Pine needles as biosamplers for emergent pollutants*. Faculdade de Engenharia: Universidade do Porto.

Ratola, N., Amigo, J. M. & Alves, A., 2010. Comprehensive assessment of pine needles as bioindicators of PAHs using multivariate analysis. The importance of temporal trends. *Chemosphere*, Volume 81, pp. 1517-1525.

Ratola, N., Amigo, J. M., Oliveira, M. S. N., Araújo, R., Silva, J. A. & Alves, A., 2011. Differences between *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* as bioindicators of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental and Experimental Botany*, Volume 72, pp. 339-347.

Ratola, N., Homem, V., Silva, J. A., Araújo, R., Amigo, J. M., Santos, L. & Alves, A., 2014. Biomonitoring of pesticides by pine needles – Chemical scoring, risk of exposure, levels and trends. *Science of the Total Environment*, Volume 476-477, pp. 114-124.

- Ratola, N., Silva, J. A., Homem, V., Santos, L. & Alves, A., 2014. *Occurrence of synthetic musks in mainland Portugal - a biosampling approach using pine needles*. Basel, Switzerland: SETAC Europe 24th Annual Meeting.
- Sabin, J. G., Ferrão, M. F. & Furtado, J. C., 2004. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 40(3), pp. 387-396.
- Sanidas, E., Papadopoulos, D. P., Grassos, H., Velliou, M., Tsioufis, K., Barbetseas, J. & Papademetriou, V., 2017. Air pollution and arterial hypertension. A new risk factor is in the air. *Journal of the American Society of Hypertension*, Volume 11, p. 709-715.
- Santos, V. d. P., Medeiros, A. P. P. d., Lima, T. A. C. d. & Nascimento, L. F. C., 2014. O papel dos poluentes atmosféricos sobre o peso ao nascer em cidade de médio porte Paulista. *Revista Paulista de Pediatria*, Volume 32, pp. 306-312.
- Silva, C. P. d., 2012. *Aplicação da quimiometria para a caracterização química de combustíveis tipo MTR por fluorescência de raios X*. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares: Universidade de São Paulo.
- Silva, E. S. M. d., 2013. *Deteção de fragâncias sintéticas (Musks) em produtos de higiene e cuidado pessoal por GC-MS*. Porto: FEUP.
- Silva, J. A., Ratola, N., Ramos, S., Homem, V., Santos, L. & Alves, A., 2015. An analytical multi-residue approach for the determination of semi-volatile organic pollutants in pine needles. *Analytica Chimica Acta*, Volume 858, pp. 24-31.
- Simonich, S. L. & Hites, R. A., 1994. Importance of vegetation in removing polycyclic aromatic hydrocarbons from the atmosphere. *Letters to Nature*, Volume 370, pp. 49-51.
- Sloof, J. E., 1993. *Environmental Lichenology: Biomonitoring Trace Element Air Pollution*. Delft University of Technology: Interfaculty Reactor Institute.
- St-Amand, A. D., Mayer, P. M. & Blais, J. M., 2009. Modeling PAH uptake by vegetation from the air using field measurements. *Atmospheric Environment*, Volume 43, pp. 4283-4288.
- Szczepaniak, K. & Biziuk, M., 2003. Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environmental Research*, Volume 93, pp. 221-230.
- Tremolada, P., Burnett, V., Calamari, D. & Jones, K. C., 1996. Spatial Distribution of PAHs in the U.K. Atmosphere Using Pine Needles. *Environment Science & Technology*, Volume 30, pp. 3570-3577.

Vallecillos, L., Borrull, F. & Pocurull, E., 2015. Recent approaches for the determination of synthetic musk fragrances in environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, Volume 72, pp. 80-92.

Wang, X.-T., Hu, B.-P., Cheng, H.-X., Jia, H.-H. & Zhou, Y., 2018. Spatial variations, source apportionment and potential ecological risks of polycyclic aromatic hydrocarbons and synthetic musks in river sediments in Shanghai, China. *Chemosphere*, Volume 193, pp. 108-117.

WHO, 2000. *Air quality guidelines for Europe*. s.l.:World Health Organization.

WHO, 2014. *WHO guidelines for indoor air quality: selected pollutants*. s.l.:World Health Organization.

WHO, 2018. *WHO | Air pollution*. [Online]

Available at: http://www.who.int/topics/air_pollution/en/

[Acedido em 13 março 2018].

Yang-chun, F., Yan-chun, H. & Xiu-min, M., 2017. The application of Student's t-test in internal quality control of clinical laboratory. *Frontiers in Laboratory Medicine*, Volume 1, pp. 125-128.

Zhang, X., Xu, Q., Man, S., Zeng, X., Yu, Y., Pang, Y., Sheng, G. & Fu, J., 2013. Tissue concentrations, bioaccumulation, and biomagnification of synthetic musks in freshwater fish from Taihu Lake, China. *Environmental Science and Pollution Research*, Volume 20, pp. 311-322.

Anexo A Concentrações obtidas de PAHs e almíscares sintéticos para todos os locais e resultados dos testes estatísticos

Tabela A.1 - Valores de concentração obtidos para os PAHs em cada local, em ng/g

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | ACP | ACY | ANT | BaA | BbkF | BghiP | BaP | CHR | DBahA | FA | FLR | IP | PHE | PYR | Total |
|----------------------------|---------------|--------------------|------|------|------|------|------|-------|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Leça da Palmeira | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 11,8 | 1,9 | 28,4 | 68,5 | 4,3 | 2,8 | 7,1 | 74,4 | 1,5 | 132,2 | 53,6 | 3,4 | 431,6 | 107,8 | 929,3 |
| Caminha | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 5,2 | 1,9 | nd | 6,4 | 2,1 | 0,4 | 2,7 | 16,8 | 4,6 | 65,4 | 110,7 | 2,9 | 302,9 | 45,5 | 567,6 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 7,0 | 13,7 | 51,4 | 18,1 | 7,0 | 2,7 | 6,1 | 35,4 | nd | 23,6 | 15,4 | 209,3 | 413,9 | 138,9 | 942,4 |
| Outeiro | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 6,3 | 2,5 | 10,3 | 4,9 | 6,7 | 1,3 | 1,3 | 33,0 | 4,9 | 23,3 | 12,5 | 16,1 | 64,8 | 26,9 | 214,9 |
| Vila Real | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 11,4 | 10,6 | 4,7 | 2,9 | 2,4 | 3,9 | 4,3 | 4,7 | 4,8 | 5,1 | 3,8 | 3,5 | 37,5 | nd | 99,7 |
| Rio de Onor | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 7,7 | 3,4 | 12,9 | 4,2 | 1,3 | 0,3 | 0,2 | 11,5 | 1,2 | 83,6 | 7,3 | 1,3 | 265,1 | 70,9 | 470,9 |
| Bragança | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 1,2 | 1,2 | 6,0 | 5,6 | 0,4 | nd | 0,3 | 3,2 | 0,4 | 16,4 | 5,4 | 0,9 | 64,7 | 10,5 | 116,1 |
| Benlhevai | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 21,3 | 25,8 | 19,5 | 3,3 | 0,9 | 0,7 | 0,6 | 20,1 | 0,7 | 75,8 | 0,6 | 1,6 | 123,0 | 53,5 | 347,3 |
| Guarda | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 2,0 | 0,4 | 1,1 | 8,9 | 0,3 | nd | 0,4 | 2,8 | nd | 11,7 | 11,6 | 1,1 | 43,2 | 6,6 | 90,0 |
| Serra da Estrela | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 4,9 | 4,7 | 9,2 | 0,7 | 0,6 | 0,4 | 0,6 | 7,3 | 0,4 | 14,4 | 14,4 | 0,7 | 121,8 | 61,1 | 241,2 |
| Castelo Branco | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 2,8 | 2,7 | 2,0 | nd | 0,8 | 0,2 | 0,5 | 1,4 | nd | 4,8 | nd | nd | 34,4 | 8,1 | 57,6 |
| Portalegre | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 1,2 | 1,0 | 1,4 | 0,8 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 6,4 | nd | 23,8 | nd | 0,7 | 67,9 | 27,3 | 131,4 |
| Portel | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 14,5 | 4,3 | 2,4 | 0,5 | 0,2 | 0,2 | 0,4 | 3,9 | nd | 6,1 | 0,4 | 0,4 | 39,2 | 14,4 | 87,0 |
| Alcoutim | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 6,9 | 4,0 | 6,2 | 7,1 | 10,2 | 4,9 | 6,0 | 28,5 | 0,7 | 23,4 | 12,8 | 6,8 | 54,3 | 41,4 | 213,1 |
| Alcoutim 2 | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 2,9 | 3,3 | 3,4 | 0,1 | 0,1 | 0,3 | 0,3 | 1,3 | nd | 19,2 | 1,6 | 0,4 | 27,3 | 22,6 | 82,7 |
| Vila Real de Santo António | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 2,4 | 0,7 | 1,1 | 0,7 | 1,1 | 0,9 | 2,4 | 5,0 | 0,9 | 4,8 | 3,1 | nd | 10,3 | 5,1 | 38,4 |

Tabela A.1 (Cont.) - Valores de concentração obtidos de PAHs em cada local, em ng/g

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | ACP | ACY | ANT | BaA | BbKF | BghiP | BaP | CHR | DBahA | FA | FLR | IP | PHE | PYR | Total |
|---------------------------------|---------------|--------------------|------|------|------|------|------|-------|------|------|-------|-------|------|------|-------|-------|--------------|
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 4,8 | 4,7 | 1,8 | 0,5 | 1,3 | 8,3 | 4,5 | 2,4 | 1,7 | 48,2 | 15,7 | 0,8 | 51,1 | 160,5 | 306,3 |
| Fóia | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 1,4 | 0,6 | 0,6 | 0,5 | 0,1 | 0,4 | 0,6 | 1,9 | 0,3 | 3,4 | 1,3 | 1,1 | 12,6 | 4,4 | 29,1 |
| Fóia (Sul) | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 1,9 | 1,5 | 1,0 | 0,3 | 0,7 | 0,4 | 1,3 | 3,0 | nd | 3,8 | 8,0 | 1,1 | 18,4 | 3,8 | 45,0 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 2,0 | 1,6 | 1,3 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,5 | 1,1 | 7,7 | 0,8 | 0,9 | 14,1 | 10,2 | 41,0 |
| Arrábida (Outão) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 14,2 | 13,5 | 2,0 | 0,7 | 0,5 | 1,5 | 1,3 | 4,9 | 1,7 | 26,0 | 0,1 | 1,7 | 27,7 | 26,5 | 122,3 |
| Arrábida (Topo sul) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 4,9 | 9,2 | 3,6 | 2,5 | 1,3 | 0,5 | 1,7 | 9,3 | 1,3 | 18,0 | nd | 1,3 | 26,5 | 13,6 | 93,6 |
| Arrábida (Vale da Rasca) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 3,0 | 3,8 | 1,3 | 3,3 | 0,4 | 0,5 | 0,3 | 2,3 | nd | 8,3 | 10,1 | 0,7 | 41,9 | 10,0 | 85,9 |
| Santarém | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 2,1 | 0,2 | 0,7 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | nd | 0,9 | 1,4 | 0,7 | 6,5 | 1,2 | 14,7 |
| Vale das Mós | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 1,0 | 0,2 | 0,7 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,4 | 0,9 | nd | nd | 2,0 | 0,2 | 5,8 | 1,5 | 13,3 |
| Leiria | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 13,8 | 1,6 | 1,5 | 4,6 | 0,3 | 0,3 | 0,5 | 1,7 | nd | 5,1 | 3,8 | nd | 23,3 | 4,0 | 60,5 |
| Coimbra | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | nd | nd | 2,0 | 1,6 | 1,5 | 2,5 | 1,4 | 8,4 | nd | 7,5 | nd | nd | 22,8 | 9,4 | 57,3 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 6,1 | 7,5 | 1,9 | 2,8 | 0,9 | 1,7 | 1,2 | 16,1 | nd | 16,9 | nd | 1,1 | 25,7 | 14,8 | 96,9 |
| Porto (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 5,9 | 9,3 | 1,5 | 2,3 | 1,0 | 9,8 | 8,1 | 13,4 | 6,9 | 19,2 | nd | 5,0 | 18,3 | 24,8 | 125,3 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 8,6 | 0,3 | 1,7 | 0,3 | 0,2 | 2,7 | 2,7 | 1,3 | 3,3 | 1,6 | nd | 2,1 | 35,3 | 7,4 | 67,6 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 19,1 | 19,3 | 3,7 | 7,6 | 5,2 | 8,4 | 16,2 | 8,7 | 10,7 | 11,2 | 15,6 | 13,9 | 60,1 | 9,9 | 209,4 |
| Aveiro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 2,7 | 1,6 | 1,5 | 1,1 | 1,3 | 3,0 | 1,7 | 8,5 | 2,2 | 11,4 | 9,8 | 2,0 | 26,8 | 16,1 | 89,9 |
| Aveiro (Estação, Rotunda Norte) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 4,2 | 2,8 | 3,0 | 2,3 | 0,9 | 1,4 | 1,9 | 12,4 | nd | 12,7 | 0,6 | 0,4 | 39,3 | 19,1 | 101,1 |
| Estarreja | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 0,5 | 0,7 | 0,9 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,4 | 1,1 | nd | 6,6 | nd | 1,2 | 29,8 | 3,8 | 45,6 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 10,5 | nd | 17,5 | 10,6 | 2,1 | 1,1 | 3,1 | 25,5 | nd | 20,0 | 1,8 | 2,2 | 68,8 | 34,8 | 198,0 |
| Évora | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 3,4 | 0,8 | 11,3 | 1,2 | 0,5 | nd | 0,8 | 10,2 | 2,0 | 65,0 | 64,5 | nd | 268,0 | 50,5 | 478,2 |
| Beja (Hospital) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 7,0 | 1,5 | 28,2 | 4,4 | 1,0 | 0,3 | 0,5 | 22,0 | 0,8 | 137,5 | 60,9 | 0,7 | 517,1 | 111,5 | 893,6 |

Tabela A.1 (Cont.) - Valores de concentração obtidos de PAHs em cada local, em ng/g

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | ACP | ACY | ANT | BaA | BbkF | BghiP | BaP | CHR | DBahA | FA | FLR | IP | PHE | PYR | Total |
|---------------------|---------------|-----------------|------|-----|------|------|------|-------|-----|------|-------|------|------|-----|-------|------|--------------|
| Beja (Parque) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 1,1 | 1,0 | 2,8 | 2,5 | 1,5 | 0,4 | 1,4 | 19,2 | 0,3 | 24,8 | 24,4 | 0,8 | 63,3 | 21,4 | 164,8 |
| Alcoutim 2 | Remoto | <i>P. Pinea</i> | 4,4 | 1,4 | 11,2 | 4,6 | 0,7 | 0,2 | 0,9 | 13,9 | nd | 43,2 | 72,6 | 0,3 | 205,3 | 35,3 | 394,1 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 3,6 | 1,2 | 2,9 | 1,0 | 0,2 | 0,2 | 0,6 | 4,1 | 2,3 | 5,2 | 4,3 | nd | 20,4 | 6,6 | 52,7 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinea</i> | 0,6 | 0,3 | 0,6 | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 2,2 | 3,2 | 0,6 | 1,6 | 1,8 | nd | 5,3 | 0,6 | 17,7 |
| Lisboa (INAG) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 3,7 | 3,1 | 4,2 | 5,9 | 1,1 | 0,2 | 0,9 | 23,6 | 0,8 | 12,2 | 7,6 | nd | 56,2 | 21,9 | 141,3 |
| Lisboa (Bela Vista) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,9 | 1,0 | 2,3 | 4,3 | 1,9 | 0,3 | 2,0 | 21,5 | 0,9 | 19,4 | 12,9 | nd | 52,1 | 17,9 | 137,4 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 9,2 | 5,8 | 4,7 | 7,0 | 1,8 | 1,7 | 3,8 | 35,0 | 1,0 | 13,0 | 7,0 | 1,1 | 121,7 | 30,9 | 243,7 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinea</i> | 6,5 | 4,0 | 4,5 | 9,2 | 0,6 | 2,6 | 2,8 | 19,8 | nd | 36,5 | 16,5 | 0,1 | 51,7 | 12,5 | 167,4 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinea</i> | 12,0 | 8,5 | 7,8 | 26,1 | 5,6 | 3,0 | nd | 50,4 | nd | 13,1 | 3,0 | 1,1 | 185,0 | 28,2 | 344,0 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 3,6 | 1,2 | 2,9 | 1,0 | 0,2 | 0,2 | 0,6 | 4,1 | 2,3 | 5,2 | 4,3 | nd | 20,4 | 6,6 | 52,7 |

Tabela A.2 - Soma das concentrações obtidas de PAHs, em ng/g, para cada local por número de anéis para *P. pinaster*

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | 3 anéis | 4 anéis | 5 anéis | 6 anéis | Concentração total |
|------------------|---------------|--------------------|---------|---------|---------|---------|--------------------|
| Leça da Palmeira | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 527,3 | 382,9 | 12,8 | 6,2 | 929,3 |
| Caminha | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 420,8 | 134,1 | 9,4 | 3,3 | 567,6 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 501,3 | 216,0 | 13,1 | 212,0 | 942,4 |
| Outeiro | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 96,4 | 88,2 | 13,0 | 17,4 | 214,9 |
| Vila Real | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 68,0 | 12,8 | 11,5 | 7,4 | 99,7 |
| Rio de Onor | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 296,3 | 170,3 | 2,7 | 1,6 | 470,9 |
| Bragança | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 78,5 | 35,7 | 1,1 | 0,9 | 116,1 |
| Benlhevai | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 190,2 | 152,7 | 2,1 | 2,3 | 347,3 |
| Guarda | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 58,3 | 29,9 | 0,7 | 1,1 | 90,0 |
| Serra da Estrela | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 154,9 | 83,6 | 1,6 | 1,0 | 241,2 |

Tabela A.2 (Cont.) - Soma das concentrações obtidas de PAHs, em ng/g, para cada local por número de anéis para *P. pinaster*

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | 3 anéis | 4 anéis | 5 anéis | 6 anéis | Concentração total |
|---------------------------------|---------------|--------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------------|
| Castelo Branco | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 41,9 | 14,3 | 1,3 | 0,2 | 57,6 |
| Portalegre | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 71,5 | 58,3 | 0,5 | 1,0 | 131,4 |
| Portel | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 60,8 | 25,0 | 0,6 | 0,6 | 87,0 |
| Alcoutim 1 | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 84,1 | 100,4 | 16,9 | 11,7 | 213,1 |
| Alcoutim 2 | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 38,5 | 43,2 | 0,5 | 0,7 | 82,7 |
| Vila Real de Santo António | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 17,5 | 15,6 | 4,4 | 0,9 | 38,4 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 78,1 | 211,6 | 7,5 | 9,1 | 306,3 |
| Faro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 16,5 | 11,1 | 1,1 | 1,9 | 30,5 |
| Fóia | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 16,5 | 10,2 | 0,9 | 1,4 | 29,1 |
| Fóia (Sul) | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 30,7 | 10,9 | 2,0 | 1,5 | 45,0 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 19,9 | 18,5 | 1,6 | 1,0 | 41,0 |
| Arrábida (Outão) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 57,6 | 58,1 | 3,5 | 3,2 | 122,3 |
| Arrábida (Topo sul) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 44,1 | 43,4 | 4,3 | 1,8 | 93,6 |
| Arrábida (Vale da Rasca) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 60,1 | 23,9 | 0,7 | 1,2 | 85,9 |
| Santarém | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 10,9 | 2,4 | 0,5 | 0,9 | 14,7 |
| Vale das Mós | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 9,7 | 2,6 | 0,6 | 0,4 | 13,3 |
| Leiria | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 44,0 | 15,4 | 0,8 | 0,3 | 60,5 |
| Coimbra | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 24,8 | 27,0 | 2,9 | 2,5 | 57,3 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 41,2 | 50,7 | 2,2 | 2,8 | 96,9 |
| Porto (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 34,8 | 59,7 | 15,9 | 14,8 | 125,3 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 45,8 | 10,7 | 6,2 | 4,9 | 67,6 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 117,7 | 37,4 | 32,1 | 22,2 | 209,4 |
| Aveiro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 42,4 | 37,1 | 5,3 | 5,1 | 89,9 |
| Aveiro (Estação, Rotunda Norte) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 50,0 | 46,5 | 2,8 | 1,9 | 101,1 |
| Estarreja | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 32,0 | 11,7 | 0,5 | 1,4 | 45,6 |
| | | | 3483,2 | 2251,5 | 183,7 | 346,7 | 6265,0 |

Tabela A.3 - Soma das concentrações obtidas de PAHs, em ng/g, para cada local por número de anéis para *P. pinea*

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | 3 anéis | 4 anéis | 5 anéis | 6 anéis | Concentração total |
|---------------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|-------------|-------------|--------------------|
| Braga | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 98,6 | 91,0 | 5,1 | 3,4 | 198,0 |
| Évora | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 348,0 | 126,9 | 3,3 | nd | 478,2 |
| Beja (Hospital) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 614,8 | 275,4 | 2,3 | 1,0 | 893,6 |
| Beja (Parque) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 92,5 | 68,0 | 3,1 | 1,2 | 164,8 |
| Alcoutim 2 | Remoto | <i>P. Pinea</i> | 294,9 | 97,1 | 1,6 | 0,5 | 394,1 |
| Faro (Aeroporto) | Urban | <i>P. Pinea</i> | 32,4 | 17,0 | 3,1 | 0,2 | 52,7 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinea</i> | 8,7 | 5,8 | 3,1 | 0,1 | 17,7 |
| Lisboa (INAG) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 74,8 | 63,5 | 2,8 | 0,2 | 141,3 |
| Lisboa (Bela Vista) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 69,2 | 63,0 | 4,9 | 0,3 | 137,4 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 148,4 | 85,9 | 6,6 | 2,9 | 243,7 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinea</i> | 83,3 | 78,0 | 3,4 | 2,7 | 167,4 |
| Quintás | Rural | <i>P. Pinea</i> | 216,4 | 117,9 | 5,6 | 4,2 | 344,0 |
| | | | 2081,9 | 1089,3 | 45,0 | 16,8 | 3233,0 |

Tabela A.4 - Valores de concentração obtidos para os almíscares sintéticos em cada local, em ng/g

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | CASH | CEL | PHAN | TRAS | GAL | TON | MA | MK | MM | MT | MX | Total |
|------------------|---------------|--------------------|-------|-----|------|------|------|-----|----|----|----|----|----|-------|
| Leça da Palmeira | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 13,9 | nd | nd | nd | nd | 1,5 | nd | nd | nd | nd | nd | 17,2 |
| Caminha | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 12,4 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 18,7 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 47,5 | nd | nd | nd | nd | 1,4 | nd | nd | nd | nd | nd | 74,1 |
| Outeiro | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 2,2 | nd | 0,4 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 33,5 |
| Vila Real | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Rio de Onor | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 28,6 | nd | nd | nd | nd | 0,2 | nd | nd | nd | nd | nd | 28,8 |
| Bragança | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 4,7 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 4,7 |
| Benlhevai | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 118,3 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 118,3 |
| Guarda | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 14,5 | nd | nd | nd | 10,1 | 0,4 | nd | nd | nd | nd | nd | 25,0 |

Tabela A.4 (Cont.) - Valores de concentração obtidos para os almíscares sintéticos em cada local, em ng/g

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | CASH | CEL | PHAN | TRAS | GAL | TON | MA | MK | MM | MT | MX | Total |
|---------------------------------|---------------|--------------------|-------|-----|------|------|-------|------|----|----|----|----|----|-------|
| Serra da Estrela | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 23,4 | nd | nd | 0,5 | nd | 0,5 | nd | nd | nd | nd | nd | 24,5 |
| Castelo Branco | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 3,2 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 3,2 |
| Portalegre | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 3,5 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 3,5 |
| Portel | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 36,2 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 36,2 |
| Alcoutim 1 | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 7,7 | nd | nd | nd | 361,8 | 1,1 | nd | nd | nd | nd | nd | 370,6 |
| Alcoutim 2 | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 3,1 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 3,1 |
| Vila Real de Santo António | Rural | <i>P. Pinaster</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 19,7 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 19,7 |
| Faro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Fóia | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 3,8 | nd | nd | nd | nd | 0,1 | nd | nd | nd | nd | nd | 3,9 |
| Fóia (Sul) | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 1,4 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 1,4 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 17,6 | nd | 0,1 | nd | 10,1 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 27,8 |
| Arrábida (Outão) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 62,4 | 0,1 | 2,2 | nd | 8,2 | 0,6 | nd | nd | nd | nd | nd | 73,6 |
| Arrábida (Topo sul) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 45,2 | nd | 1,6 | nd | nd | 0,8 | nd | nd | nd | nd | nd | 47,6 |
| Arrábida (Vale da Rasca) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 131,6 | nd | 2,0 | nd | 59,4 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 192,9 |
| Santarém | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Serra da Estrela | Remoto | <i>P. Pinaster</i> | 23,4 | nd | nd | 0,5 | nd | 0,5 | nd | nd | nd | nd | nd | 24,5 |
| Vale das Mós | Rural | <i>P. Pinaster</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Leiria | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 7,6 | nd | 1,8 | nd | 72,4 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 81,9 |
| Coimbra | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 52,0 | nd | nd | nd | nd | 0,9 | nd | nd | nd | nd | nd | 52,9 |
| Porto (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 26,8 | nd | nd | nd | 6,8 | 1,0 | nd | nd | nd | nd | nd | 34,5 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 5,4 | nd | nd | nd | 67,6 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 73,0 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 37,9 | nd | 6,7 | nd | 122,0 | 23,1 | nd | nd | nd | nd | nd | 189,8 |
| Aveiro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 16,1 | nd | 0,2 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 16,3 |
| Aveiro (Estação, Rotunda Norte) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 25,2 | nd | nd | nd | nd | 0,2 | nd | nd | nd | nd | nd | 25,4 |
| Estarreja | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | nd | nd | 0,1 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,1 |

Tabela A.4 (Cont.) - Valores de concentração obtidos para os almíscares sintéticos em cada local, em ng/g

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | CASH | CEL | PHAN | TRAS | GAL | TON | MA | MK | MM | MT | MX | Total |
|---------------------|---------------|-----------------|------|-----|------|------|------|-----|----|----|----|----|----|-------|
| Braga | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 41,5 | nd | nd | nd | nd | 0,7 | nd | nd | nd | nd | nd | 42,2 |
| Évora | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 10,0 | 3,8 | nd | nd | 14,7 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 28,5 |
| Beja (Hospital) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 11,8 | nd | 0,3 | nd | 13,7 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 25,8 |
| Beja (Parque) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 1,7 | nd | 0,2 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 2,0 |
| Alcoutim 2 | Remoto | <i>P. Pinea</i> | 1,2 | nd | nd | nd | 28,9 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 30,1 |
| Faro (Aeroporto) | Urban | <i>P. Pinea</i> | 9,8 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 9,8 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinea</i> | 0,1 | nd | 0,1 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,2 |
| Lisboa (INAG) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 8,8 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 8,8 |
| Lisboa (Bela Vista) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 2,7 | nd | 0,2 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 2,9 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 21,3 | nd | nd | 0,2 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 21,5 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinea</i> | 13,8 | nd | nd | nd | nd | 2,4 | nd | nd | nd | nd | nd | 16,3 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinea</i> | 27,4 | nd | nd | nd | nd | 1,5 | nd | nd | nd | nd | nd | 28,9 |

Tabela A.5 - Concentrações, médias e desvios padrão obtidos para cada tipo de local, em ng/g (*P. pinaster*), para os PAHs

| Tipo de local | 3 anéis | | | 4 anéis | | | 5 anéis | | | 6 anéis | | |
|--------------------|---------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| | Conc. | Média | DP | Conc. | Média | DP | Conc. | Média | DP | Conc. | Média | DP |
| Urbano (n = 15) | 1162,3 | 77,5 | 119,1 | 828,2 | 55,2 | 66,7 | 67,2 | 4,5 | 5,1 | 262,0 | 17,5 | 54,0 |
| Industrial (n = 6) | 741,0 | 123,5 | 198,4 | 538,5 | 89,7 | 144,6 | 23,5 | 3,9 | 4,6 | 14,7 | 2,5 | 2,0 |
| Rural (n = 6) | 672,2 | 112,0 | 156,1 | 225,3 | 37,6 | 48,8 | 53,4 | 8,9 | 11,9 | 32,3 | 5,4 | 8,4 |
| Remoto (n = 8) | 907,7 | 113,5 | 95,7 | 659,4 | 109,9 | 59,6 | 39,7 | 5,0 | 6,3 | 37,6 | 4,7 | 6,3 |
| Soma | 3483,2 | 426,5 | 569,2 | 2251,5 | 292,4 | 319,8 | 183,7 | 22,2 | 27,9 | 346,7 | 30,0 | 70,7 |

Tabela A.6 - Concentrações, médias e desvios padrão obtidos para cada tipo de local, em ng/g (*P. pinea*), para os PAHs

| Tipo de local | 3 anéis | | | 4 anéis | | | 5 anéis | | | 6 anéis | | |
|--------------------|---------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|------------|
| | Conc. | Média | DP | Conc. | Média | DP | Conc. | Média | DP | Conc. | Média | DP |
| Urbano (n = 8) | 1478,7 | 184,8 | 199,1 | 790,6 | 98,8 | 77,8 | 31,3 | 3,9 | 1,4 | 9,3 | 1,2 | 1,3 |
| Industrial (n = 1) | 8,7 | 8,7 | - | 5,8 | 5,8 | - | 3,1 | 3,1 | - | 0,1 | 0,1 | - |
| Rural (n = 2) | 299,6 | 149,8 | 94,1 | 195,8 | 97,9 | 28,2 | 9,1 | 4,5 | 1,6 | 6,9 | 3,5 | 1,0 |
| Remoto (n = 1) | 294,9 | 294,9 | - | 97,1 | 97,1 | - | 1,6 | 1,6 | - | 0,5 | 0,5 | - |
| Soma | 2081,9 | 638,2 | 293,2 | 1089,3 | 299,6 | 106,0 | 45,0 | 13,2 | 3,0 | 16,8 | 5,2 | 2,3 |

```
data: ACY_B and ACY_M
t = 1.8363, df = 6, p-value = 0.116
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
-1.386994  9.728684
sample estimates:
mean of the differences
      4.170845
```

```
data: ACP_B and ACP_M
t = 0.36074, df = 6, p-value = 0.7307
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
-2.893591  3.894316
sample estimates:
mean of the differences
      0.5003628
```

```
data: BaP_B and BaP_M
t = 1.0576, df = 6, p-value = 0.331
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
-3.382569  8.532187
sample estimates:
mean of the differences
      2.574809
```

```
data: BghiP_B and BghiP_M
t = 1.7544, df = 6, p-value = 0.1299
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
-0.8506731  5.1605851
sample estimates:
mean of the differences
      2.154956
```

```
data: FA_B and FA_M
t = -0.06641, df = 6, p-value = 0.9492
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
-23.62580  22.37727
sample estimates:
mean of the differences
     -0.6242654
```

```
data: CASH_B and CASH_M
t = 2.0953, df = 6, p-value = 0.081
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
-1.632202  21.084224
sample estimates:
mean of the differences
      9.726011
```

Figura A.1 - Paired t-test para o CASH no programa R

Figura A.2 - Paired t-tests para o ACY, ACP, BaP, BghiP e FA no programa R

```
> kruskal.test(Soma ~ Site.type, data=Aneis)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  Soma by Site.type
Kruskal-Wallis chi-squared = 0.91212, df = 3, p-value = 0.8225
```

```
> kruskal.test(Soma ~ Sample.type, data=Aneis)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  Soma by Sample.type
Kruskal-Wallis chi-squared = 0.53969, df = 1, p-value = 0.4626
```

```
> kruskal.test(Soma ~ N°.de.anéis, data=Aneis)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  Soma by N°.de.anéis
Kruskal-Wallis chi-squared = 122.6, df = 3, p-value < 2.2e-16
```

Figura A.3 - Testes de Kruskal-Wallis para o tipo de local, tipo de amostra e número de anéis no programa R (PAHs)

```
> kruskal.test(SUM ~ Site.type, data=MUSKS)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  SUM by Site.type
Kruskal-Wallis chi-squared = 2.1721, df = 3, p-value = 0.5375
```

```
> kruskal.test(SUM ~ Sample.type, data=MUSKS)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  SUM by Sample.type
Kruskal-Wallis chi-squared = 0.2628, df = 1, p-value = 0.6082
```

Figura A.4 - Testes de Kruskal-Wallis para o tipo de local e tipo de amostra no programa R (Almíscares sintéticos)

Anexo B Dados e gráficos complementares à PCA

7.1 PAHs

7.1.1 Análise individual

Tabela B.1 - Valores próprios e proporção de variância explicada por cada componente principal para a análise individual dos PAHs

| Componente principal | Desvio padrão | Valor próprio | Proporção de variância explicada (%) | Proporção de variância explicada acumulada (%) |
|----------------------|---------------|---------------|--------------------------------------|--|
| 1 | 2,34 | 5,48 | 39,2 | 39,2 |
| 2 | 1,71 | 2,92 | 20,9 | 60,1 |
| 3 | 1,23 | 1,51 | 10,8 | 70,8 |
| 4 | 1,07 | 1,14 | 8,20 | 79,0 |
| 5 | 1,04 | 1,08 | 7,76 | 86,8 |
| 6 | 0,79 | 0,62 | 4,43 | 91,2 |
| 7 | 0,64 | 0,41 | 2,90 | 94,1 |
| 8 | 0,47 | 0,22 | 1,57 | 95,7 |
| 9 | 0,45 | 0,20 | 1,46 | 97,1 |
| 10 | 0,37 | 0,14 | 0,98 | 98,1 |

Tabela B.1 (Cont.) - Valores próprios e proporção de variância explicada por cada componente principal para a análise individual dos PAHs

| Componente principal | Desvio padrão | Valor próprio | Proporção de variância explicada (%) | Proporção de variância explicada acumulada (%) |
|----------------------|---------------|---------------|--------------------------------------|--|
| 11 | 0,32 | 0,10 | 0,72 | 98,8 |
| 12 | 0,28 | 0,08 | 0,57 | 99,4 |
| 13 | 0,22 | 0,05 | 0,35 | 99,7 |
| 14 | 0,19 | 0,04 | 0,26 | 100 |

Tabela B.2 - Loadings para a análise individual dos PAHs

| PAH | PC 1 | PC 2 | PC 3 | PC 4 |
|-----|------|-------|-------|-------|
| ACY | 0,19 | -0,33 | 0,18 | 0,52 |
| ACP | 0,23 | -0,25 | -0,02 | 0,44 |
| FLR | 0,21 | 0,24 | -0,47 | -0,01 |
| PHE | 0,35 | 0,28 | -0,10 | 0,11 |
| ANT | 0,35 | 0,17 | 0,31 | 0,13 |
| FA | 0,30 | 0,25 | -0,34 | 0,24 |
| PYR | 0,33 | 0,15 | 0,04 | 0,14 |
| BaA | 0,31 | 0,10 | -0,04 | -0,33 |

Tabela B.2 (Cont.) - Loadings para a análise individual dos PAHs

| PAH | PC 1 | PC 2 | PC 3 | PC 4 |
|-------|------|-------|-------|-------|
| CHR | 0,34 | 0,09 | 0,03 | -0,32 |
| BbkF | 0,28 | -0,17 | 0,19 | -0,40 |
| BaP | 0,24 | -0,41 | -0,12 | -0,19 |
| IP | 0,22 | 0,00 | 0,57 | -0,02 |
| DBahA | 0,13 | -0,42 | -0,36 | 0,00 |
| BghiP | 0,17 | -0,43 | -0,12 | -0,16 |

Tabela B.3 - Scores para as PCs 1-7 da análise dos PAHs individual

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC1 | PC2 | PC3 | PC4 | PC5 | PC6 | PC7 |
|------------------|---------------|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Leça da Palmeira | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 8,252 | 2,405 | -1,863 | -2,167 | 2,727 | 1,014 | -1,779 |
| Caminha | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 2,078 | 1,449 | -3,458 | 0,013 | -1,647 | -2,174 | 0,455 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 7,446 | 0,662 | 5,921 | -0,020 | -2,941 | -0,721 | -0,755 |
| Outeiro | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 1,364 | -0,799 | 0,210 | -1,409 | 0,212 | -1,314 | 1,400 |
| Vila Real | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,175 | -2,840 | -0,254 | 0,592 | 0,104 | -0,636 | -0,145 |
| Rio de Onor | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 1,362 | 1,615 | -0,393 | 1,294 | -0,093 | 0,632 | 0,358 |
| Bragança | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -1,413 | 0,894 | 0,239 | -0,199 | -0,101 | -0,029 | -0,439 |
| Benlhevai | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 2,464 | -0,866 | 0,885 | 4,403 | 2,201 | 0,016 | 0,610 |
| Guarda | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -1,617 | 0,879 | 0,027 | -0,427 | 0,115 | -0,105 | -0,512 |
| Serra da Estrela | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,268 | 0,813 | 0,310 | 0,711 | -0,403 | 0,321 | 0,225 |
| Castelo Branco | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -1,849 | 0,331 | 0,504 | 0,016 | -0,005 | -0,071 | 0,033 |
| Portalegre | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -1,484 | 0,903 | 0,182 | -0,060 | -0,202 | 0,477 | -0,036 |

Tabela B.3 (Cont.) - Scores para as PCs 1-7 da análise dos PAHs individual

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC1 | PC2 | PC3 | PC4 | PC5 | PC6 | PC7 |
|---------------------------------|---------------|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Portel | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -1,172 | -0,216 | 0,454 | 1,307 | 1,059 | -0,237 | -0,017 |
| Alcoutim 1 | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 2,163 | -1,757 | 0,621 | -2,416 | 0,312 | -0,030 | 2,593 |
| Alcoutim 2 | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -1,598 | 0,545 | 0,343 | 0,397 | -0,122 | 0,314 | -0,056 |
| Vila Real de Santo António | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -1,634 | -0,176 | 0,100 | -0,603 | -0,224 | -0,076 | -0,163 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 1,463 | -1,216 | -0,924 | 0,371 | -2,141 | 3,643 | 1,027 |
| Faro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -2,095 | 0,240 | 0,305 | -0,230 | -0,270 | 0,141 | -0,226 |
| Foia | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -2,164 | 0,402 | 0,277 | -0,281 | -0,185 | 0,033 | -0,301 |
| Foia (Sul) | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -1,877 | 0,313 | 0,242 | -0,324 | -0,186 | -0,144 | -0,108 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -2,005 | 0,293 | 0,195 | 0,001 | -0,245 | -0,065 | -0,247 |
| Arrábida (Outão) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -0,256 | -1,345 | 0,214 | 2,144 | 0,923 | -0,045 | 0,156 |
| Arrábida (Topo sul) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -0,778 | -0,512 | 0,412 | 0,532 | 0,395 | -0,229 | 0,071 |
| Arrábida (Vale da Rasca) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -1,589 | 0,431 | 0,213 | 0,114 | 0,019 | -0,071 | -0,137 |
| Santarém | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -2,306 | 0,449 | 0,355 | -0,234 | -0,104 | -0,036 | -0,256 |
| Vale das Mós | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -2,339 | 0,514 | 0,359 | -0,370 | -0,184 | -0,040 | -0,232 |
| Leiria | Urban | <i>P. Pinaster</i> | -1,359 | -0,111 | 0,242 | 0,803 | 1,075 | -0,310 | -0,293 |
| Coimbra | Urban | <i>P. Pinaster</i> | -1,511 | 0,050 | 0,309 | -1,039 | -0,288 | 0,554 | 0,155 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,760 | -0,326 | 0,463 | 0,316 | 0,728 | 0,268 | 0,168 |
| Porto (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,917 | -4,342 | -1,330 | -0,455 | -1,247 | 1,298 | -0,737 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -1,205 | -1,252 | -0,389 | 0,048 | -0,285 | -0,019 | -0,600 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 3,467 | -7,438 | -1,678 | 0,343 | -0,685 | -1,187 | -0,774 |
| Aveiro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,979 | -0,594 | -0,305 | -0,596 | -0,526 | 0,211 | 0,066 |
| Aveiro (Estação, Rotunda Norte) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -1,003 | 0,035 | 0,345 | -0,225 | 0,228 | 0,360 | -0,008 |
| Estarreja | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -2,189 | 0,597 | 0,346 | -0,262 | -0,242 | 0,070 | -0,260 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,807 | 0,319 | 0,683 | -0,420 | 1,027 | 0,246 | -0,252 |
| Évora | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 1,019 | 2,157 | -1,769 | 0,664 | -1,353 | -0,752 | 0,126 |
| Beja (Hospital) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 4,157 | 3,913 | -1,779 | 1,867 | -1,221 | 0,413 | 0,501 |
| Beja (Parque) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,655 | 0,930 | -0,259 | -0,734 | -0,135 | -0,204 | 0,292 |

Tabela B.3 (Cont.) - Scores para as PCs 1-7 da análise dos PAHs individual

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC1 | PC2 | PC3 | PC4 | PC5 | PC6 | PC7 |
|---------------------|---------------|-----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Alcoutim 2 | Remote | <i>P. Pinea</i> | 0,738 | 2,158 | -1,296 | 0,278 | -0,743 | -0,935 | 0,157 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -1,684 | -0,005 | -0,069 | -0,039 | -0,171 | -0,379 | -0,401 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinea</i> | -2,091 | 0,161 | 0,188 | -0,578 | -0,285 | -0,140 | -0,413 |
| Lisboa (INAG) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,584 | 0,478 | 0,218 | -0,449 | 0,563 | -0,129 | -0,023 |
| Lisboa (Bela Vista) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,664 | 0,512 | -0,090 | -1,038 | 0,078 | -0,214 | 0,175 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,812 | -0,480 | 0,132 | -0,294 | 1,034 | -0,023 | 0,032 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinea</i> | 0,039 | 0,008 | -0,340 | -0,176 | 0,636 | 0,389 | -0,364 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinea</i> | 2,405 | -0,180 | 0,900 | -1,173 | 2,798 | -0,086 | 0,934 |

Tabela B.4 - Scores para as PCs 8-14 da análise dos PAHs individual

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC8 | PC9 | PC10 | PC11 | PC12 | PC13 | PC14 |
|------------------|---------------|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Leça da Palmeira | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -0,014 | 0,056 | -0,256 | 0,577 | 0,016 | 0,157 | -0,039 |
| Caminha | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -1,060 | 0,071 | 0,434 | 0,363 | 0,050 | -0,163 | -0,261 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,335 | -0,022 | 0,162 | 0,011 | -0,057 | -0,035 | -0,127 |
| Outeiro | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 1,346 | 0,168 | 0,852 | 0,396 | 0,342 | 0,499 | -0,162 |
| Vila Real | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,250 | -0,011 | 0,219 | 0,096 | -0,446 | 0,156 | 0,255 |
| Rio de Onor | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 1,258 | -0,139 | -0,108 | 0,293 | -0,210 | -0,446 | -0,258 |
| Bragança | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,255 | 0,190 | -0,184 | 0,223 | -0,231 | 0,111 | 0,213 |
| Benlhevai | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,145 | 0,854 | -0,307 | -0,012 | 0,099 | 0,429 | -0,024 |
| Guarda | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,246 | -0,020 | -0,128 | 0,422 | -0,288 | 0,041 | 0,006 |
| Serra da Estrela | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,137 | -0,115 | 0,172 | 0,186 | 0,394 | -0,123 | 0,670 |
| Castelo Branco | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,028 | 0,032 | -0,220 | 0,142 | -0,129 | -0,123 | 0,139 |
| Portalegre | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,238 | 0,212 | -0,076 | 0,129 | 0,070 | -0,282 | -0,169 |
| Portel | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -0,262 | -1,245 | 0,277 | -0,038 | 0,011 | -0,130 | -0,179 |
| Alcoutim 1 | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,099 | -0,494 | -1,106 | 0,002 | -0,313 | 0,046 | -0,067 |
| Alcoutim 2 | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 0,046 | 0,150 | -0,210 | 0,207 | 0,009 | 0,075 | -0,017 |

Tabela B.4 (Cont.) - Scores para as PCs 8-14 da análise dos PAHs individual

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC8 | PC9 | PC10 | PC11 | PC12 | PC13 | PC14 |
|---------------------------------|---------------|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Vila Real de Santo António | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 0,125 | -0,097 | -0,289 | -0,023 | 0,121 | -0,033 | -0,029 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,801 | -0,431 | 0,393 | 0,589 | 0,358 | 0,106 | 0,044 |
| Faro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,016 | 0,313 | -0,048 | 0,063 | -0,184 | 0,025 | 0,054 |
| Foia | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 0,041 | 0,050 | -0,049 | 0,068 | -0,038 | -0,022 | -0,013 |
| Foia (Sul) | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,213 | 0,017 | -0,303 | -0,024 | -0,021 | -0,018 | 0,025 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 0,268 | 0,121 | 0,060 | 0,317 | 0,035 | 0,040 | 0,014 |
| Arrábida (Outão) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -0,337 | 0,025 | 0,148 | 0,356 | -0,001 | -0,035 | -0,240 |
| Arrábida (Topo sul) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 0,032 | 0,746 | -0,267 | 0,309 | 0,145 | -0,019 | 0,060 |
| Arrábida (Vale da Rasca) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -0,386 | 0,188 | -0,097 | 0,205 | -0,261 | -0,017 | 0,122 |
| Santarém | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,010 | -0,149 | -0,091 | 0,063 | -0,115 | 0,019 | -0,005 |
| Vale das Mós | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -0,009 | 0,002 | -0,119 | 0,062 | -0,061 | 0,016 | 0,048 |
| Leiria | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,300 | -1,469 | 0,200 | 0,071 | -0,216 | 0,033 | -0,259 |
| Coimbra | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,020 | 0,181 | -0,160 | -0,319 | -0,358 | 0,038 | 0,011 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,387 | 0,478 | -0,015 | -0,239 | 0,025 | -0,075 | -0,190 |
| Porto (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,255 | 0,780 | 0,604 | -0,744 | -0,407 | 0,169 | -0,120 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 0,478 | -0,876 | 0,554 | -0,139 | -0,151 | -0,020 | -0,073 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 0,170 | -0,252 | -0,770 | 0,165 | 0,223 | -0,310 | 0,191 |
| Aveiro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,108 | 0,136 | 0,358 | -0,113 | -0,226 | 0,192 | -0,063 |
| Aveiro (Estação, Rotunda Norte) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,099 | 0,016 | -0,146 | -0,259 | 0,129 | -0,123 | -0,057 |
| Estarreja | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 0,101 | 0,172 | -0,184 | 0,051 | -0,128 | -0,117 | 0,004 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,418 | -1,079 | -0,126 | -0,599 | 0,519 | 0,497 | 0,252 |
| Évora | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,018 | 0,021 | 0,066 | -0,174 | -0,053 | 0,104 | 0,127 |
| Beja (Hospital) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 1,170 | -0,154 | -0,311 | -0,634 | -0,286 | -0,247 | 0,110 |
| Beja (Parque) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,241 | 0,383 | -0,104 | -0,234 | 0,364 | 0,066 | -0,197 |
| Alcoutim 2 | Remote | <i>P. Pinea</i> | -1,024 | -0,169 | -0,117 | -0,490 | -0,105 | 0,435 | 0,296 |
| Faro (Aeroporto) | Urban | <i>P. Pinea</i> | 0,475 | -0,020 | 0,387 | 0,236 | 0,145 | 0,160 | 0,080 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinea</i> | 0,112 | 0,075 | -0,387 | 0,017 | 0,251 | -0,099 | 0,015 |

Tabela B.4 (Cont.) - Scores para as PCs 8-14 da análise dos PAHs individual

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC8 | PC9 | PC10 | PC11 | PC12 | PC13 | PC14 |
|---------------------|---------------|-----------------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Sines | Industrial | <i>P. Pinea</i> | 0,112 | 0,075 | -0,387 | 0,017 | 0,251 | -0,099 | 0,015 |
| Lisboa (INAG) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,018 | 0,412 | 0,369 | -0,108 | 0,518 | -0,055 | 0,046 |
| Lisboa (Bela Vista) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,120 | 0,454 | -0,080 | -0,083 | 0,500 | -0,083 | -0,154 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,257 | 0,031 | 0,300 | -0,695 | 0,743 | -0,615 | 0,011 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinea</i> | -0,525 | 0,130 | -0,278 | -0,568 | -0,132 | 0,240 | -0,449 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinea</i> | -0,481 | 0,278 | 0,983 | -0,127 | -0,652 | -0,463 | 0,357 |

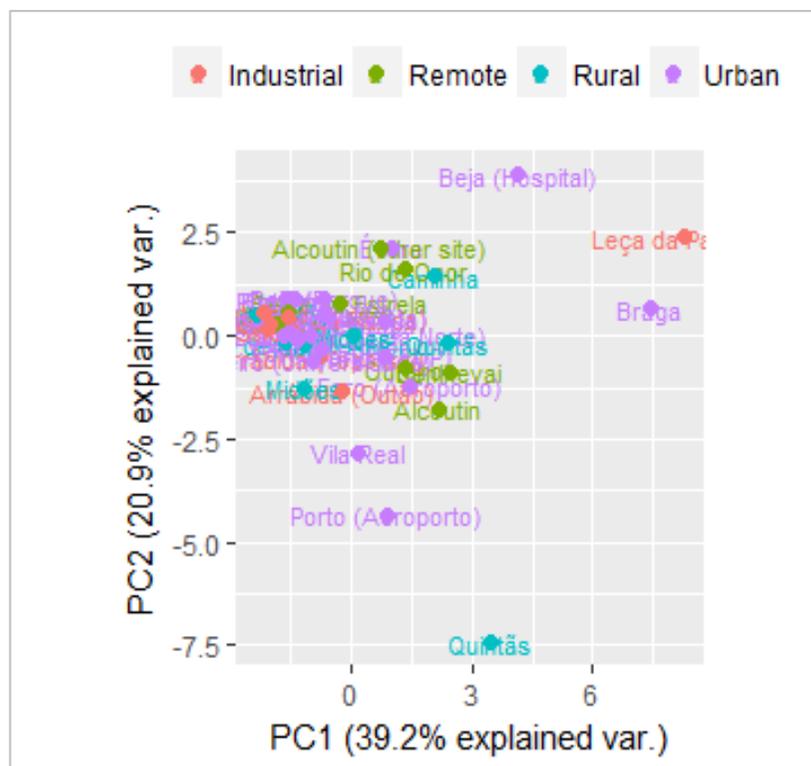


Figura B.1 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise individual de PAHs do tipo de local com etiquetas

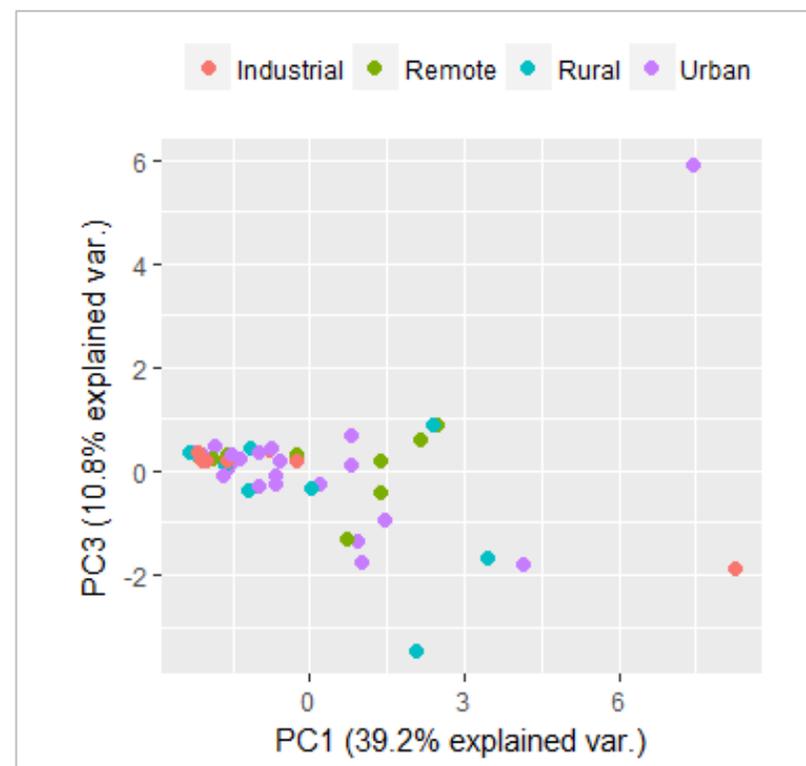


Figura B.2 - Scores da PC 1 vs PC 3 para a análise individual de PAHs do tipo de local

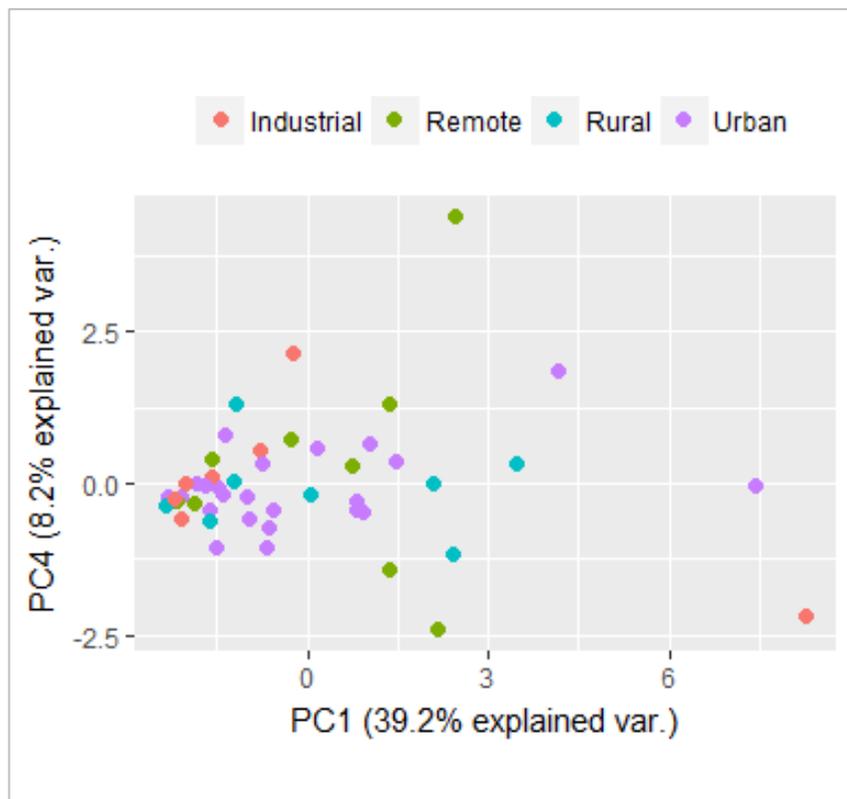


Figura B.3 - Scores da PC 1 vs PC 4 para a análise individual de PAHs do tipo de local

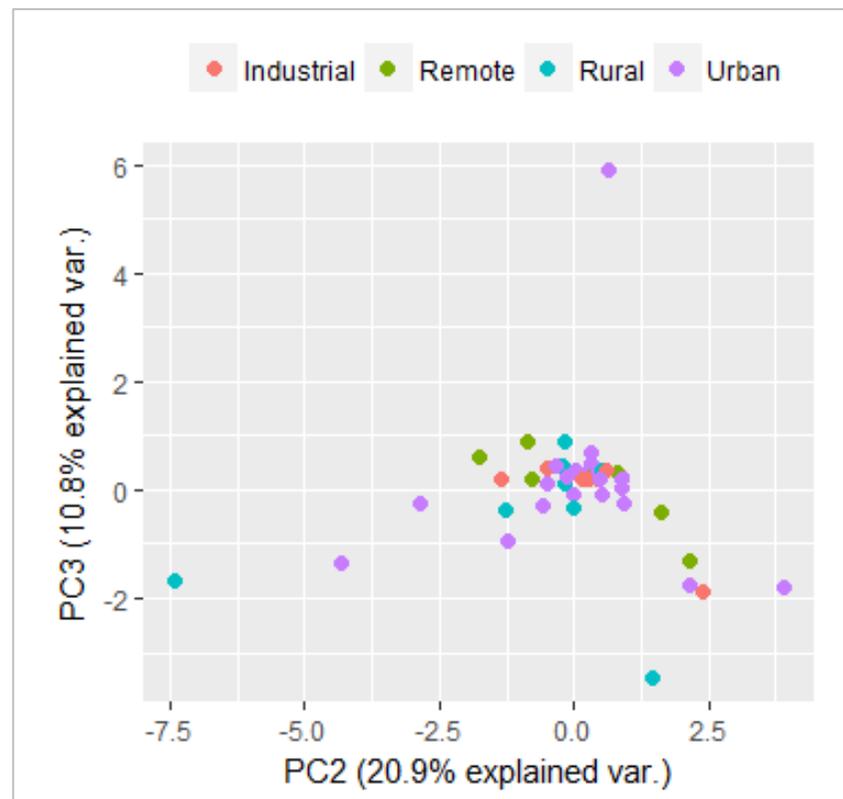


Figura B.4 - Scores da PC 2 vs PC 3 para a análise individual de PAHs do tipo de local

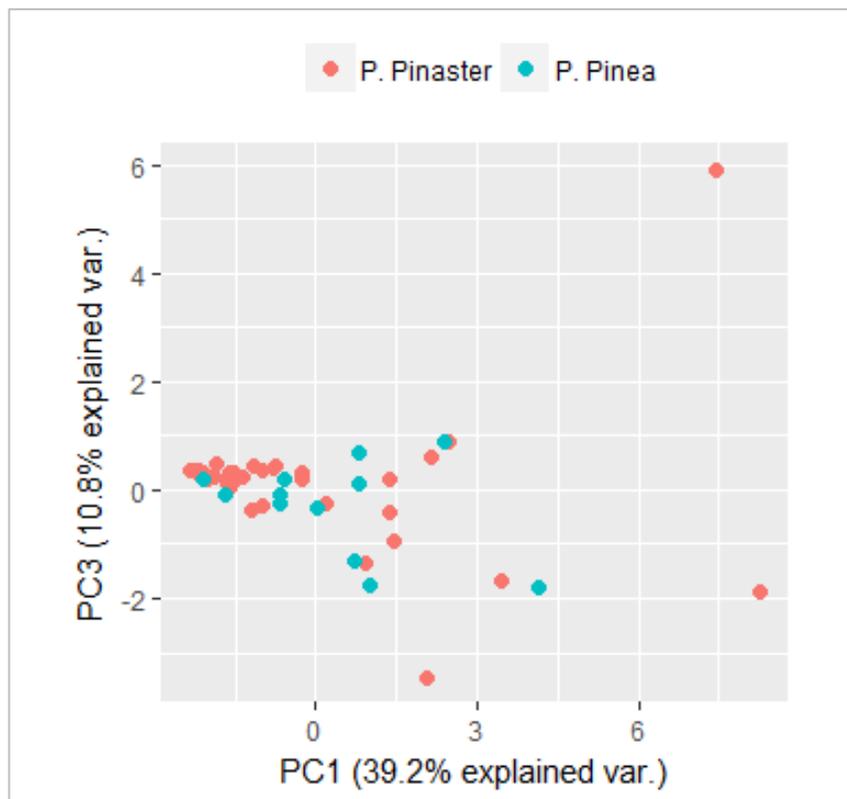


Figura B. 5 - Scores da PC 1 vs PC 3 para a análise individual de PAHs do tipo de amostra

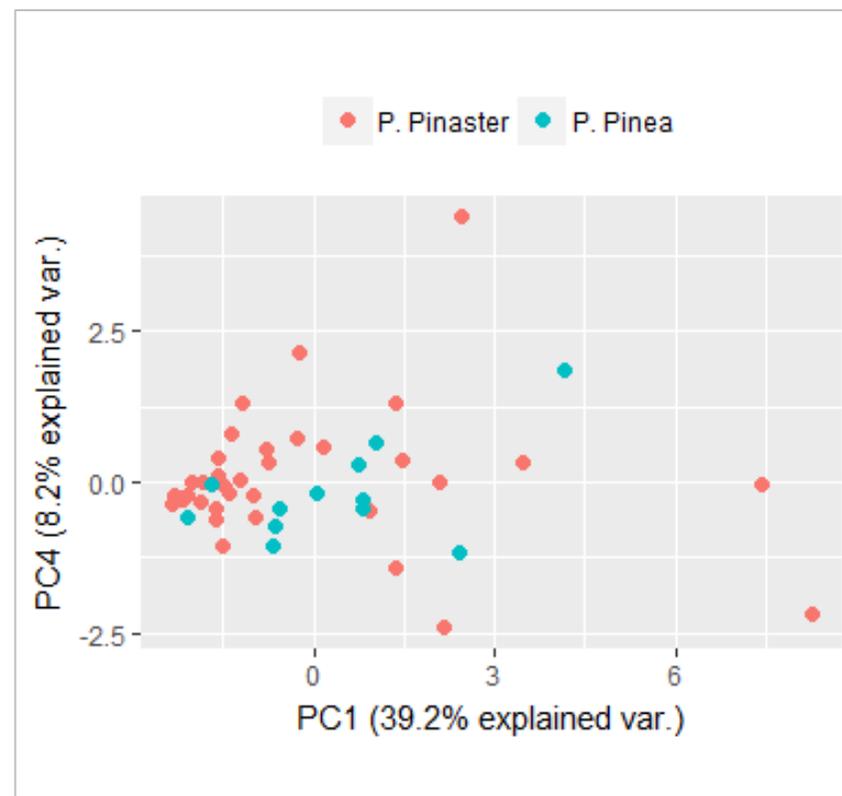


Figura B.6 - Scores da PC 1 vs PC 4 para a análise individual de PAHs do tipo de amostra

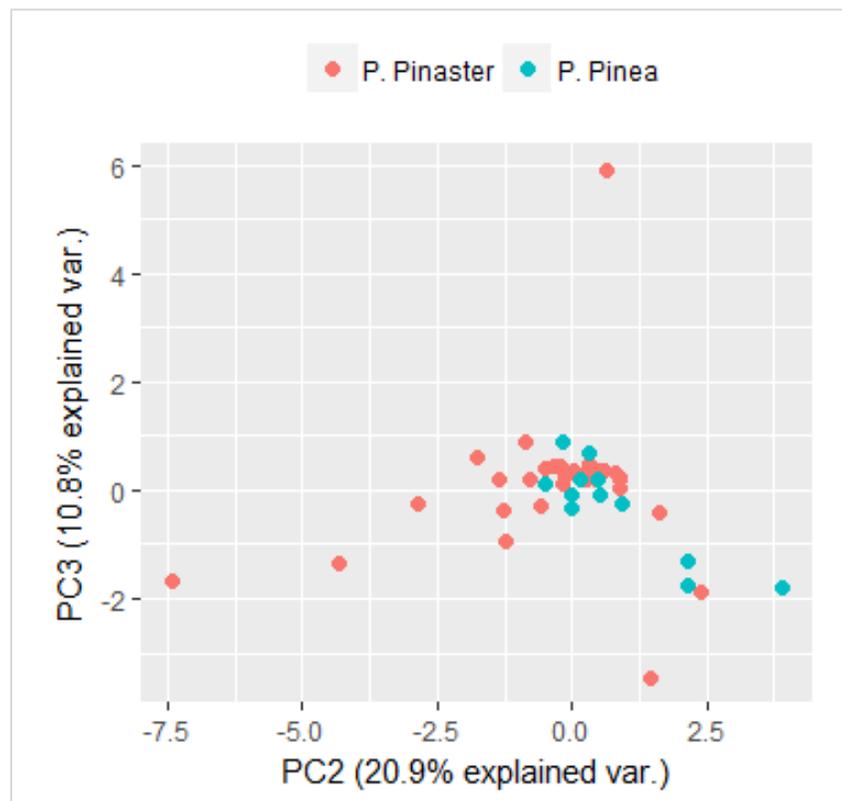


Figura B.7 - Scores da PC 2 vs PC 3 para a análise individual de PAHs do tipo de amostra

7.1.2 Análise por anéis

Tabela B.5 - Valores próprios e proporção de variância explicada por cada componente principal para a análise por anéis dos PAHs

| Componente principal | Desvio padrão | Valores próprios | Proporção de variância explicada | Proporção de variância explicada acumulada |
|----------------------|---------------|------------------|----------------------------------|--|
| 1 | 1,50 | 2,25 | 56,3 | 56,3 |
| 2 | 0,98 | 0,96 | 24,1 | 80,4 |
| 3 | 0,81 | 0,66 | 16,4 | 96,8 |
| 4 | 0,36 | 0,13 | 3,2 | 100,0 |

Tabela B.6 - Loadings das PCs para o número de anéis dos PAHs

| Nº de anéis | PC 1 | PC 2 |
|-------------|-------|-------|
| 3 | -0,60 | 0,37 |
| 4 | -0,59 | 0,38 |
| 5 | -0,35 | -0,71 |
| 6 | -0,42 | -0,47 |

Tabela B.7 - Scores para as PCs da análise dos PAHs por anéis

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC1 | PC2 | PC3 | PC4 |
|----------------------------|---------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|
| Leça da Palmeira | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -4,50 | 1,64 | -1,63 | -0,68 |
| Caminha | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -1,93 | 0,60 | -0,74 | 0,99 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -5,96 | -2,41 | 3,89 | -0,05 |
| Outeiro | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,65 | -1,09 | -0,64 | -0,19 |
| Vila Real | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,26 | -1,21 | -0,55 | 0,36 |
| Rio de Onor | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -1,28 | 1,29 | -0,17 | -0,02 |
| Bragança | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,75 | 0,28 | 0,31 | 0,10 |
| Benlhevai | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,68 | 0,99 | -0,05 | -0,39 |
| Guarda | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,90 | 0,25 | 0,37 | 0,05 |
| Serra da Estrela | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 0,04 | 0,64 | 0,14 | 0,05 |
| Castelo Branco | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 1,06 | 0,07 | 0,32 | 0,12 |
| Portalegre | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,64 | 0,44 | 0,31 | -0,14 |
| Portel | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 0,94 | 0,25 | 0,38 | 0,10 |
| Alcoutim 1 | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,85 | -1,44 | -1,22 | -0,29 |
| Alcoutim 2 | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 0,90 | 0,30 | 0,35 | -0,17 |
| Vila Real de Santo António | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 0,96 | -0,38 | 0,01 | 0,02 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -1,08 | 0,25 | -0,58 | -1,43 |
| Faro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 1,18 | -0,01 | 0,40 | 0,01 |
| Foia | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 1,20 | 0,01 | 0,40 | 0,02 |
| Foia (Sul) | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 1,08 | -0,08 | 0,29 | 0,10 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 1,09 | -0,01 | 0,30 | -0,03 |
| Arrábida (Outão) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 0,49 | 0,01 | 0,06 | -0,18 |
| Arrábida (Topo sul) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 0,63 | -0,17 | -0,02 | -0,10 |
| Arrábida (Vale da Rasca) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 0,93 | 0,22 | 0,39 | 0,11 |
| Santarém | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 1,32 | 0,02 | 0,45 | 0,06 |
| Vale das Mós | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 1,32 | 0,01 | 0,43 | 0,05 |
| Leiria | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 1,07 | 0,14 | 0,37 | 0,11 |

Tabela B.7 (Cont.) - Scores para as PCs da análise dos PAHs por anéis

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC1 | PC2 | PC3 | PC4 |
|---------------------------------|---------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|
| Leiria | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 1,07 | 0,14 | 0,37 | 0,11 |
| Coimbra | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,90 | -0,15 | 0,18 | -0,07 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,70 | 0,10 | 0,21 | -0,21 |
| Porto (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,32 | -1,70 | -0,94 | -0,20 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 0,72 | -0,60 | -0,06 | 0,21 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -1,55 | -3,66 | -2,38 | 0,59 |
| Aveiro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,58 | -0,37 | -0,03 | -0,05 |
| Aveiro (Estação, Rotunda Norte) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,67 | 0,04 | 0,13 | -0,12 |
| Estarreja | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 1,15 | 0,10 | 0,44 | 0,08 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,03 | 0,08 | -0,19 | -0,26 |
| Évora | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -1,17 | 1,16 | -0,17 | 0,63 |
| Beja (Hospital) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -3,36 | 2,67 | -0,41 | 0,59 |
| Beja (Parque) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,32 | 0,23 | 0,03 | -0,10 |
| Alcoutim 2 | Remote | <i>P. Pinea</i> | -0,63 | 1,08 | 0,10 | 0,62 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,97 | -0,16 | 0,13 | 0,07 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinea</i> | 1,15 | -0,28 | 0,15 | 0,05 |
| Lisboa (INAG) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,46 | 0,21 | 0,04 | -0,14 |
| Lisboa (Bela Vista) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | 0,37 | -0,05 | -0,16 | -0,14 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,27 | 0,02 | -0,33 | 0,05 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinea</i> | 0,25 | 0,19 | 0,01 | -0,23 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinea</i> | -0,75 | 0,44 | -0,28 | 0,08 |

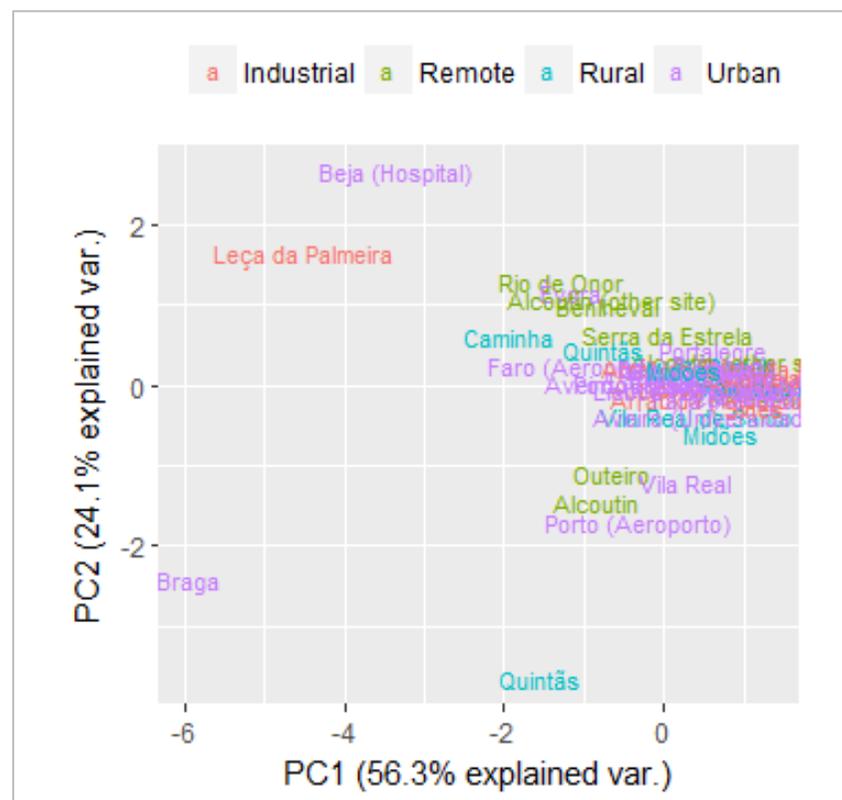


Figura B.8 - Scores da PC 1 vs PC 2 para a análise por anéis de PAHs do tipo de local com etiquetas

7.2 Almíscares sintéticos

Tabela B.8 - Valores próprios e proporção de variância explicada por cada componente principal para a análise dos almíscares sintéticos

| Componente principal | Desvio padrão | Valores próprios | Proporção de variância explicada | Proporção de variância explicada acumulada |
|----------------------|---------------|------------------|----------------------------------|--|
| 1 | 1,45 | 2,10 | 35,3 | 35,3 |
| 2 | 1,03 | 1,06 | 17,8 | 53,1 |
| 3 | 0,98 | 0,96 | 16,2 | 69,3 |
| 4 | 0,96 | 0,92 | 15,7 | 84,9 |
| 5 | 0,89 | 0,79 | 13,1 | 98,0 |
| 6 | 0,34 | 0,12 | 1,97 | 100 |

Tabela B.9 - Loadings das PCs para os almíscares sintéticos

| Almíscar sintético | PC 1 | PC 2 | PC 3 |
|--------------------|-------|-------|-------|
| CASH | 0,26 | -0,47 | -0,26 |
| CEL | -0,05 | 0,52 | -0,85 |
| PHAN | 0,65 | -0,03 | -0,07 |
| TRAS | -0,06 | -0,64 | -0,41 |
| GAL | 0,34 | 0,31 | 0,19 |
| TON | 0,62 | 0,04 | -0,03 |

Tabela B.10 - Scores para as PCs dos almíscares sintéticos

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC1 | PC2 | PC3 | PC4 | PC5 | PC6 |
|----------------------------|---------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Leça da Palmeira | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -0,20 | 0,07 | 0,22 | -0,05 | 0,33 | 0,34 |
| Caminha | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -0,46 | 0,10 | 0,27 | -0,05 | 0,14 | 0,03 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,25 | -0,37 | -0,01 | -0,69 | -0,54 | 0,52 |
| Outeiro | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,15 | 0,40 | 0,41 | 0,34 | 0,06 | -0,32 |
| Vila Real | Urban | <i>P. Pinaster</i> | -0,62 | 0,28 | 0,36 | 0,20 | 0,43 | -0,04 |
| Rio de Onor | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,31 | -0,20 | 0,09 | -0,46 | -0,01 | 0,17 |
| Bragança | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,58 | 0,20 | 0,32 | 0,09 | 0,35 | -0,01 |
| Benlhevai | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 0,51 | -1,73 | -0,75 | -2,59 | -1,49 | 0,65 |
| Guarda | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,35 | 0,09 | 0,25 | -0,06 | 0,09 | 0,12 |
| Serra da Estrela | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,68 | -4,20 | -2,53 | 3,79 | -0,38 | -0,03 |
| Castelo Branco | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,59 | 0,22 | 0,33 | 0,13 | 0,37 | -0,02 |
| Portalegre | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,59 | 0,22 | 0,33 | 0,12 | 0,37 | -0,02 |
| Portel | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -0,28 | -0,34 | 0,02 | -0,65 | -0,16 | 0,17 |
| Alcoutim 1 | Remote | <i>P. Pinaster</i> | 1,86 | 2,16 | 1,49 | 2,46 | -4,56 | 0,20 |
| Alcoutim 2 | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,59 | 0,22 | 0,33 | 0,13 | 0,38 | -0,02 |
| Vila Real de Santo António | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -0,62 | 0,28 | 0,36 | 0,20 | 0,43 | -0,04 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,43 | -0,06 | 0,18 | -0,26 | 0,11 | 0,08 |
| Faro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,62 | 0,28 | 0,36 | 0,20 | 0,43 | -0,04 |
| Foia | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,57 | 0,21 | 0,32 | 0,11 | 0,37 | -0,01 |
| Foia (Sul) | Remote | <i>P. Pinaster</i> | -0,61 | 0,25 | 0,35 | 0,17 | 0,40 | -0,03 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -0,34 | 0,03 | 0,22 | -0,15 | 0,02 | 0,01 |
| Arrábida (Outão) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 1,45 | -0,68 | -0,54 | -1,26 | -0,14 | -1,03 |
| Arrábida (Topo sul) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 0,92 | -0,53 | -0,18 | -0,87 | 0,14 | -0,69 |
| Arrábida (Vale da Rasca) | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | 2,15 | -1,68 | -0,80 | -2,57 | -2,09 | -0,56 |
| Santarém | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,62 | 0,28 | 0,36 | 0,20 | 0,43 | -0,04 |
| Vale das Mós | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -0,62 | 0,28 | 0,36 | 0,20 | 0,43 | -0,04 |

Tabela B.10 (Cont.) - Scores para as PCs dos almíscares sintéticos

| Local | Tipo de local | Tipo de amostra | PC1 | PC2 | PC3 | PC4 | PC5 | PC6 |
|---------------------------------|---------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Leiria | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,95 | 0,49 | 0,41 | 0,45 | -0,30 | -1,16 |
| Coimbra | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,62 | 0,28 | 0,36 | 0,20 | 0,43 | -0,04 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | 0,05 | -0,59 | -0,13 | -0,98 | -0,32 | 0,45 |
| Porto (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,15 | -0,13 | 0,12 | -0,34 | 0,00 | 0,31 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinaster</i> | -0,16 | 0,56 | 0,54 | 0,52 | -0,59 | -0,01 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinaster</i> | 8,73 | 0,39 | -0,25 | 1,01 | 2,08 | 0,39 |
| Aveiro (Universidade) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,36 | 0,00 | 0,20 | -0,18 | 0,21 | -0,07 |
| Aveiro (Estação, Rotunda Norte) | Urbano | <i>P. Pinaster</i> | -0,34 | -0,15 | 0,12 | -0,38 | 0,04 | 0,16 |
| Estarreja | Industrial | <i>P. Pinaster</i> | -0,59 | 0,28 | 0,36 | 0,20 | 0,44 | -0,07 |
| Braga | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,09 | -0,42 | -0,03 | -0,75 | -0,17 | 0,34 |
| Évora | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,80 | 3,79 | -5,50 | -0,19 | -0,18 | 0,04 |
| Beja (Hospital) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,26 | 0,15 | 0,28 | 0,01 | 0,11 | -0,15 |
| Beja (Parque) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,47 | 0,24 | 0,33 | 0,15 | 0,45 | -0,18 |
| Alcoutim 2 | Remote | <i>P. Pinea</i> | -0,43 | 0,42 | 0,45 | 0,36 | 0,01 | -0,03 |
| Faro (Aeroporto) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,53 | 0,11 | 0,27 | -0,03 | 0,27 | 0,02 |
| Sines | Industrial | <i>P. Pinea</i> | -0,54 | 0,27 | 0,35 | 0,20 | 0,46 | -0,13 |
| Lisboa (INAG) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,54 | 0,13 | 0,28 | -0,01 | 0,28 | 0,01 |
| Lisboa (Bela Vista) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,47 | 0,22 | 0,32 | 0,13 | 0,43 | -0,17 |
| Porto (FEUP) | Urbano | <i>P. Pinea</i> | -0,57 | -1,71 | -0,90 | 1,34 | -0,11 | -0,01 |
| Midões | Rural | <i>P. Pinea</i> | -0,04 | 0,07 | 0,21 | -0,01 | 0,46 | 0,53 |
| Quintãs | Rural | <i>P. Pinea</i> | -0,08 | -0,17 | 0,09 | -0,37 | 0,14 | 0,43 |

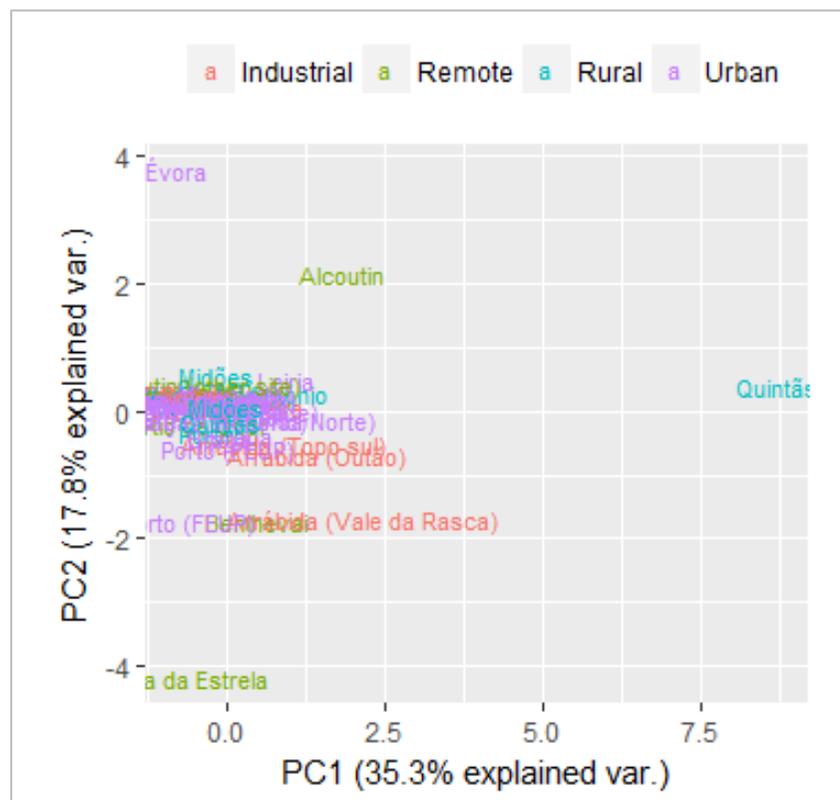


Figura B.9 - Scores da PC 1 vs PC 2 para o tipo de local com etiquetas para os almíscares sintéticos

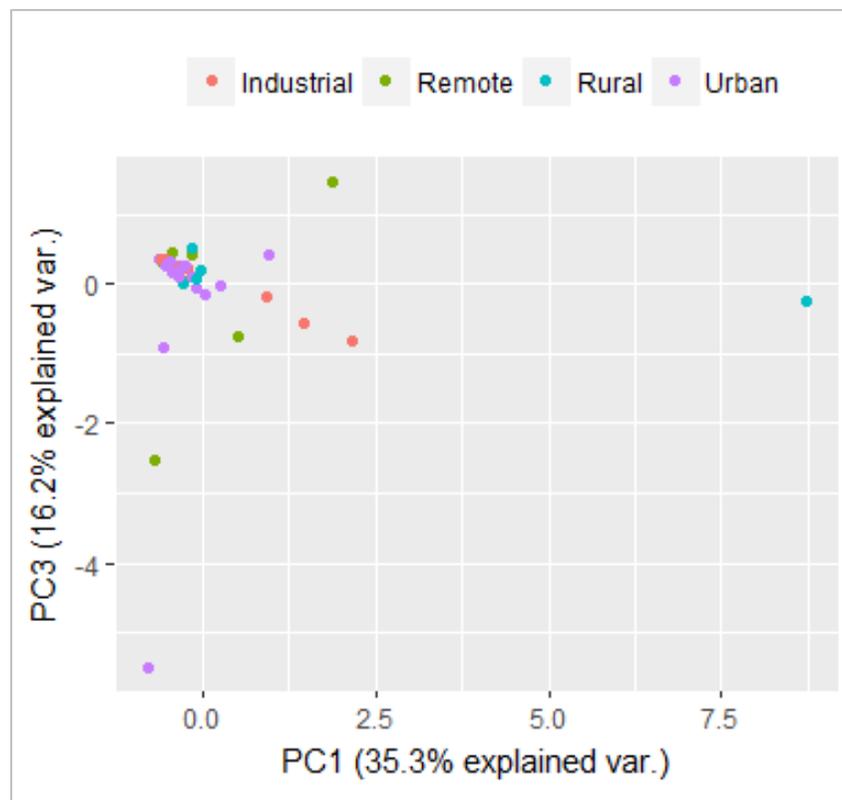


Figura B.10 - Scores da PC 1 vs PC 3 para o tipo de local para os almíscares sintéticos

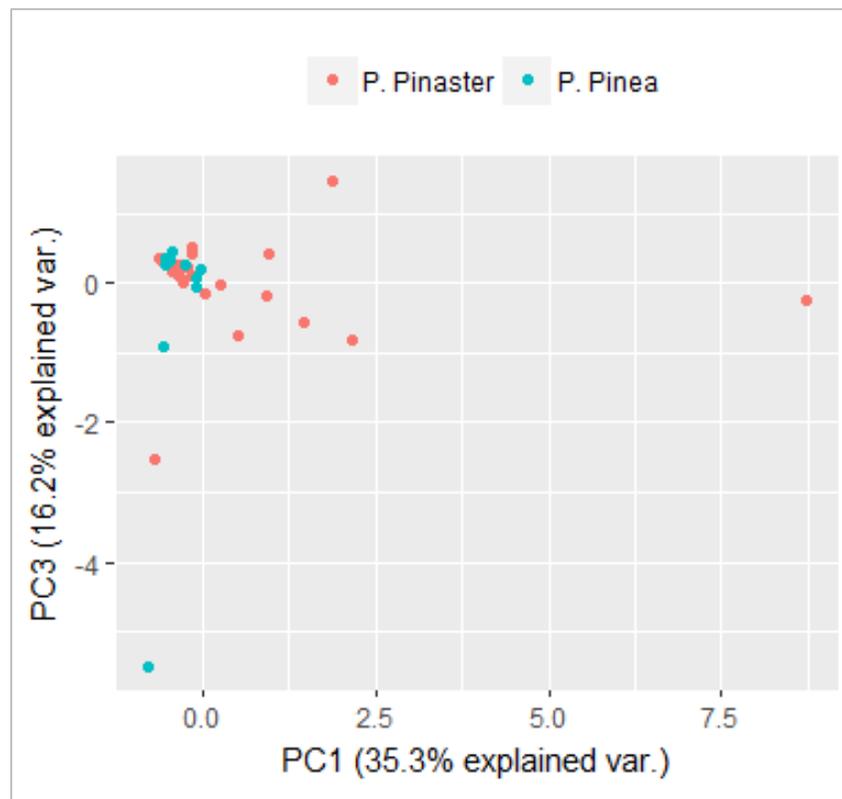


Figura B.11 - Scores da PC 1 vs PC 3 para o tipo de amostra para os almíscares sintéticos