PAULO AFONSO DE ANDRÉ

**Câmara de Topo Aberto, CTA : construção e uso
para observação de potencial tóxico da poluição
atmosférica urbana com bioensaios em plantas**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para a obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Fisiopatologia Experimental

Orientador: Prof. Dr. Alfésio Luís Ferreira Braga

SÃO PAULO

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

André, Paulo Afonso de

Câmara de Topo Aberto, CTA : construção e uso para observação de potencial tóxico da poluição atmosférica urbana com bioensaios em plantas / Paulo Afonso de André. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental.

Orientador: Alfésio Luís Ferreira Braga.

Descritores: 1.Câmaras de exposição atmosférica 2.Toxicologia 3.Poluição do ar 4.Bioensaios 5.*Tradescantia*/toxicidade

USP/FM/SBD-176/07

“Numa noite o Universo perdeu
seu ponto central;
na manhã seguinte tinha
uma infinidade deles, de modo que hoje,
qualquer um
e portanto nenhum,
pode ser visto como sempre.”

(Trecho da peça *Galileu Galilei*
de Bertold Brecht)

**Dedico este trabalho à minha esposa e meus
filhos, lastros essenciais de minha alma,
cúmplices do meu dia a dia e razão maior de
minha existência.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, no reconhecimento de minha ignorância, ter colocado ao meu redor tantas pessoas para me auxiliar e amparar em todos os momentos difíceis que passei, quanto me apoiar nesta jornada.

Agradeço especialmente à Carmen, esposa, companheira e cúmplice em mais este projeto de vida, de quem não faltou estímulos, incentivos ou apoio, essenciais ao se enfrentar o desafio desta tese, colocando ainda ao meu alcance não só os conhecimentos científicos que acumulou em sua própria vida acadêmica, mas também o conforto do lar e da família. Soube não dividir, mas multiplicar as oportunidades em que mesmo no convívio da família pudemos discutir cada detalhe do trabalho, dos dados iniciais às conclusões finais.

Aos meus filhos, Marina e Luiz Guilherme, meus verdadeiros tesouros, fonte de aprendizado e luz de alegria, mostrando com seus próprios exemplos de vida que não existem limites estabelecidos às nossas potencialidades, cabendo a cada um de nós expandir horizontes e encontrar caminhos para as nossas realizações. Testemunho em vocês o desabrochar do espírito, a formação de suas individualidades, a fome de aprender e o quanto importante é a família para esse florescimento enquanto, em contrapartida, vocês nos nutrem com sua vitalidade e ampliam nossos horizontes com seus questionamentos e seu desabrochar.

Ao Prof. Dr. Alfésio Luís Ferreira Braga, orientador nesta tese e parceiro em tantos projetos desde 1998 quando iniciamos nosso convívio acadêmico e pessoal, que aceitou assumir a árdua tarefa de me orientar em um tema contendo alguns tópicos de engenharia e biologia. A sua postura franca, aberta e sempre disponível, mesmo durante seus plantões e viagens, meus agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Paulo Hilário Nascimento Saldiva, capaz de reconhecer e semear os potenciais acadêmicos em uma pessoa, contagiando a todos com seu entusiasmo pela pesquisa, o gosto pelo questionamento, sempre tornando a convivência rica, mas principalmente emocionante, qual montanha russa, ao não se dignar a “sossegar a periquita” até encontrar o caminho do conhecimento. Sua visão, capacidade transformadora, espírito solidário e inesgotável capacidade mobilizadora fizeram com que esta tese se materializasse em todas as suas etapas. Sua colaboração específica se estendeu ainda à leitura de lâminas, o que foi feito durante vários dias, provavelmente, entre as 23 h e 6h da manhã, além de ceder seu próprio sítio para a cultura dos espécimes vegetais utilizados no experimento.

Ao Prof. Dr. György Miklós Böhm, aposentado na FMUSP há alguns meses, mas cujo exemplo de dedicação, seriedade e postura deixa em todos que com ele conviveram nesta escola, uma marca profunda e perpétua.

Aos professores Dra. Marisa Dolhnikoff, Dra. Maria de Fátima Andrade e Dr. Marcos Abdo Arbex, membros de minha banca de qualificação, pelos importantes comentários e considerações feitos.

À Dra. Débora-Jã de Araújo Lobo pelo auxílio em todas as etapas experimentais e laboratoriais, dos cuidados com as plantas, coletas de materiais, até a preparação e leitura de lâminas. Agregou a qualidade indispensável aos procedimentos envolvidos neste trabalho, além das sugerir comentários ao texto final da tese.

Às pesquisadoras Profa. Dra. Regiani Carvalho de Oliveira e Profa. Angélica Barganha Ferreira, pela realização da análise elementar por fluorescência de raio-X, agregando seu *expertise*, esforço e tempo neste projeto. Tampouco pode ser esquecida a colaboração com artigos dessa técnica laboratorial e comentários apropriados ao texto final da tese.

A Profa. Dra. Ana Júlia de Faria Coimbra Lichtenfels, pelo incansável trabalho de amostragem de material particulado, expandindo suas atribuições para suprir, dia a dia, as trocas de filtros e pesagens necessárias.

Ao Sr. Hélio Ramos de Jesus, jardineiro em Caucaia do Alto, pela preparação e cuidados com as plantas utilizadas neste experimento.

Aos colegas do LPAE, pesquisadores, técnicos, colaboradores, secretárias, enfim, todos que direta ou indiretamente incentivaram e apoiaram este trabalho.

Aos meus padrinhos, pela dedicação e exemplo de luta e perseverança na vida, imagens vivas em minha memória.

Ao meu pai (*in memoriam*) e minha mãe, pela preocupação e zelo na condução de minha educação e apoio na vida, criando as bases para me lançar muito além do que lhes foi possível ir em vida. Sua presença em todas essas etapas, o orgulho estampado em suas feições cada vez que alcancei um novo degrau deixa em mim uma felicidade que não pode ser descrita, mas apenas ser objeto do mais profundo agradecimento não só como filho, mas como ser humano. Minha alegria e minhas saudades.

Sumário

Resumo

Summary

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	A origem do homem.....	1
1.2	O homem e seu ecossistema.....	2
1.3	A sociedade urbana em expansão.....	4
1.4	O homem e a poluição.....	5
1.5	A busca do desenvolvimento sustentável.....	9
1.5.1	Os estudos epidemiológicos.....	10
1.5.2	Os estudos toxicológicos.....	12
1.6	Bioensaios.....	17
1.7	Bioensaios em câmaras de topo aberto.....	20
2	OBJETIVOS.....	23
2.1	Objetivo geral.....	23
2.2	Objetivos específicos.....	23
3	MÉTODOS.....	25
3.1	Câmara de topo aberto – CTA.....	25
3.1.1	Princípio de funcionamento.....	26
3.1.2	Câmara de exposição.....	27
3.1.3	Sistema de filtragem.....	29
3.1.4	Unidade de insuflamento.....	33
3.1.5	Sistema de Iluminação.....	34
3.1.6	Sistema de umidificação.....	34
3.2	Espécimes vegetais.....	35
3.2.1	Tradescantia pallida cv. purpurea.....	36
3.2.2	Tradescantia clone 4430.....	36
3.2.3	Tradescantia clone KU20.....	37
3.2.4	Preparação do substrato.....	38
3.3	Caracterização ambiental.....	39
3.3.1	Concentração do material particulado.....	39
3.3.2	Monitoramento ambiental.....	44

3.4	Análise do material acumulado em folhas	46
3.4.1	Coleta e preparação da amostra	46
3.4.2	Análise por Fluorescência de Raio-X	47
3.5	Análise de mutação em inflorescência	51
3.6	Análise de aborto em grão de pólen.....	52
3.7	Análise de toxicidade em pêlos estaminais	54
3.8	Protocolo de exposição	55
3.9	Análise estatística	56
4	RESULTADOS	57
4.1	Preparação do sistema	57
4.2	Início da campanha de exposição	61
4.3	Monitoramento ambiental.....	62
4.4	Material acumulado em folhas	67
4.5	Mutação em inflorescência.....	71
4.6	Mutação em grão de pólen.....	73
4.7	Toxicidade em pêlo estaminal	75
4.8	Vitalidade dos espécimes vegetais	77
5	DISCUSSÃO	79
6	CONCLUSÕES.....	87
7	ANEXOS.....	89
	ANEXO A: Dados da coleta de Material Particulado 2,5 µm	90
	ANEXO B: Dados diários da concentração de Material Particulado 10 µm, Temperatura (máxima e mínima), Umidade Relativa do ar (máxima e mínima), Pressão Atmosférica média e Índice pluviométrico acumulado	92
	ANEXO C: Dados obtidos na análise por FRX	94
8	REFERÊNCIAS	95

Lista de Figuras

Figura 1 -	Esquema da câmara de topo aberto – CTA, identificando cada um dos sistemas que o compõe e o fluxo do ar.	27
Figura 2 -	Vista em corte do sistema de filtragem com a identificação de cada seção de filtragem do ar.	30
Figura 3 -	Imagem da direita apresenta os componentes do coletor de material particulado, composto por (1) coletor, (2) válvula agulha, (3) bomba de vácuo, (4) totalizador de vazão e (5) medidor de vazão, enquanto na imagem da direita é apresentado o coletor desmontado.	40
Figura 4 -	Imagem da planilha para registro das pesagens dos filtros utilizados na amostragem de MP2,5 desenvolvidas no aplicativo MS-Excel.	42
Figura 5 -	Imagem da planilha de campo para registro da exposição de filtros coletores de MP2,5.	43
Figura 6 -	Imagem da planilha para registro das amostragens e cálculo da concentração de MP2,5 desenvolvidas no aplicativo MS-Excel	44
Figura 7 -	Detalhe da instalação dos suportes de madeira, com cordas, dentro da Câmara de Topo Aberto, com a colocação das floreiras com plantas.	58
Figura 8 -	Vista dos suportes de madeira, com cordas, dentro da Câmara de Topo Aberto, com a colocação das floreiras de plantas.	58
Figura 9 -	Vista da colocação dos filtros de ar no sistema de filtragem de ar da Câmara de Topo Aberto.	58
Figura 10 -	Detalhe dos estrados com proteção de sombrite 50%, com a colocação das floreiras com os espécimes vegetais.	60
Figura 11 -	Sistema de coleta de material particulado instalado para o monitoramento da concentração de MP2,5 no ambiente externo à Câmara de Topo Aberto.	60
Figura 12 -	Concentrações médias diárias de MP2,5 do ar Filtrado (PM2,5_F), Não filtrado (PM2,5_NF) e de MP10 (PM10), no período de 07.dez.06 a 05.fev.07, em $\mu\text{g}/\text{m}^3$	64

Figura 13 - Gráficos de caixas da concentração média diária na fração MP2,5 nas condições Filtrado e Não filtrado, no período de 07.dez.06 a 05.fev.07, em $\mu\text{g}/\text{m}^3$	64
Figura 14 - Série das Temperaturas máxima e mínima ($^{\circ}\text{C}$), e das Umidades Relativas máxima e mínima (%), diárias no período de 07.dez.06 a 05.fev.07, obtidas a partir dos dados da estação meteorológica do IAG/USP	65
Figura 15 - Série do Índice pluviométrico (mmCA) e Pressão Atmosférica (hPa), diários no período de 07.dez.06 a 05.fev.07, obtidas a partir dos dados da estação meteorológica do IAG/USP	65
Figura 16 - Gráficos de caixas do total da % de micronúcleos (MN) nas condições Filtrado e Não filtrado.....	72
Figura 17 - Gráficos de caixas do total da % de abortos em grão de pólen nas condições Filtrado e Não filtrado.	75
Figura 18 - Gráficos de caixas do total da contagem de mutações em 1.000 pêlos estaminais nas condições Filtrado e Não filtrado. ..	77

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Identificação do filtro e características operacionais de cada elemento filtrante do sistema de filtragem	32
Tabela 2 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos das concentrações (em $\mu\text{g}/\text{m}^3$) de MP2,5 do ar nas condições Filtrado e Não filtrado, MP10 e relações entre concentração de MP2,5 filtrado e não filtrado, e MP2,5 não filtrado e MP10.....	63
Tabela 3 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos das temperaturas mínima e máxima, da umidade relativa do ar mínima e máxima, do índice pluviométrico e da pressão atmosférica, diárias, no período de exposição	66
Tabela 4 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos da % em peso dos elementos químicos identificados por FRX das folhas colhidas nas condições Filtrado e Não filtrado.....	68
Tabela 5 - Cargas fatoriais, comunalidades e % de variância explicada obtidas na análise fatorial das variáveis Silício, Enxofre, Ferro, Titânio e Vanádio	69
Tabela 6 - Estatísticas descritivas dos escores fatoriais nas duas condições de exposição.....	70
Tabela 7 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos da % de MCN observados nas condições Filtrado e Não filtrado.....	71
Tabela 8 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos da % de aborto de grão de pólen, nas condições Filtrado e Não filtrado.....	74
Tabela 9 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos da contagem de mutações em 1.000 pêlos estaminais, nas condições Filtrado e Não filtrado, no total das plantas.....	76

RESUMO

André PA. *Câmara de Topo Aberto, CTA : construção e uso para observação de potencial tóxico da poluição atmosférica urbana com bioensaios em plantas* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2007. 104p.

A Câmara de Topo Aberto, CTA, foi adaptada para gerar um gradiente da concentração da poluição atmosférica ambiente por material particulado fino, capaz de ser utilizado em experimentos toxicológicos. Uma vez que os aerossóis urbanos são composições quimicamente complexas, com comprovada toxicidade na saúde e mecanismos de ação sobre o homem ainda pouco conhecidos, a utilização conjunta da CTA com sistemas sentinela simples e de baixo custo, capazes de detectar efeitos tóxicos agudos, constituem alternativa para avaliação desse ambiente. A Câmara de Topo Aberto, CTA, foi documentada em termos de dimensões, especificações e características operacionais, e avaliada durante 60 dias. A concentração ambiental média diária de material particulado fino no período foi de $28,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ e a redução média dessa concentração obtida no interior da CTA foi de 75%. *Tradescantia* clone 4430, KU20 e *pallida* cv. *Purpurea* foram colocadas dentro e fora da CTA para avaliar a resposta de bioensaios nesse gradiente de exposição. O protocolo de mutação em inflorescência (Trad-MCN) foi aplicado nos três espécimes vegetais, e detectou uma menor quantidade de micronúcleos no interior da CTA ($p=0,002$). Nos clones foram aplicados os protocolos de mutação em pêlo estaminal (Trad-SHM) e aborto em grão de pólen, tendo sido detectada menor resposta para as plantas colocadas no interior da CTA ($p=0,007$ para pêlo estaminal e $p=0,041$ para grão de pólen). Folhas dos três espécimes foram coletadas e submetidas à análise por fluorescência de raio-X. Foi detectada redução na concentração de titânio nas folhas coletadas dentro da CTA ($p=0,049$). A análise fatorial identificou a presença de fontes de solo e automotiva, com menor concentração observada nas folhas colhidas dentro da CTA. A utilização da CTA com bioensaios no ambiente urbano mostrou ser capaz de detectar efeitos agudos em plantas frente ao gradiente de exposição obtido.

Descritores: 1. Câmaras de exposição atmosférica 2.Toxicologia 3.Poluição do ar 4.Bioensaios 5.*Tradescantia*/toxicidade

SUMMARY

André PA. *Open Top Chamber : erection and use for toxicological evaluation of urban air pollution using plants bioassay* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”, 2007. 104p.

Open Top Chamber was modified to obtain a differential concentration on environmental pollution capable to be used on toxicological studies. Since urban aerosol constitutes a very complex chemical composition, with well known toxic action on health but requesting clarification about their biological mechanisms, the use of Open Top Chamber with low cost sentinel systems seems to be an alternative to detect acute toxic effects on such environment. Open Top Chamber was described on its dimensional and operational characteristics, and operated on a 60 days campaign. During this campaign the daily average concentration of fine particles was $28,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ and inside the Open Top Chamber it was obtained a reduction about 75% on such concentration. *Tradescantia* clone 4430, KU20 and *pallida* cv. *Purpurea* were placed inside and outside the chamber to evaluate bioassay response on each pollution concentration. The Trad-MCN bioassay detected a lower micronuclei count on plants inside the chamber ($p=0,002$). Clones were submitted to stamen hair mutation (Trad-SHM) and pollen mother cell abortion protocols, detecting also a lower effect on plants inside the chamber ($p=0,007$ for stamen hair mutation and $p=0,041$ for pollen mother cells abortion). Leaves of all species were collected and submitted to X-ray fluorescence analysis. The titanium concentration was lower on samplers collected inside the chamber ($p=0,049$). The factorial analysis identified the presence of elements from soil and automotive sources with a lower concentration on samples collected inside the chamber. The combined use of Open Top Chamber with bioassay on urban environment is capable to detect acute effects on plants when submitted to the obtained particulate concentration reduction.

Descriptors: 1.Atmosphere exposure chambers 2.Toxicology 3.Air pollution 4.Biological assay 5.*Tradescantia*/toxicity

1 INTRODUÇÃO

1.1 A origem do homem

O homem, desde os primórdios da sua origem animal, sempre manteve forte ligação de dependência com o meio ambiente.

Na evolução do gênero humano é possível distinguir três etapas principais. Na primeira, certas espécies de antropóides (nome genérico dos macacos da superfamília dos hominoídeos que inclui o chimpanzé, o gorila e o orangotango) conseguiram, com sucesso, se adaptar ao meio ambiente, na segunda, o *Homo erectus*, que viveu há cerca de 500.000 anos atrás, se destacou ao fabricar utensílios e ferramentas, na mesma época em que se estima ter sido descoberto o fogo, demonstrações claras de sua capacidade de utilizar os recursos naturais disponíveis para garantir sua sobrevivência, e passo decisivo para o aparecimento, na terceira etapa, do *Homo sapiens*, já entre 200.000 e 350.000 anos atrás nas savanas da África, que se destaca por sua maior capacidade intelectual. Essa evolução do gênero humano fica mais evidente ao considerarmos o tamanho do crânio: para o chimpanzé,

esse volume é de 400 cc, já no *Homo erectus* o volume médio era de 900 cc, enquanto que no *Homo sapiens* mais arcaico esse volume médio superava os 1.200 cc (o crânio simiesco descoberto em 1856, perto da aldeia de Neandertal, tem volume cerebral de 1.600 cm³, avantajado até mesmo em relação ao *Homo sapiens sapiens*, com média de 1.400 cc) (Barsa, 1999, Galhardo, 2007a,b,c).

Haja vista a própria origem etimológica do nome, *Homo sapiens*, significando homem racional, essa descendência se diferenciou dos demais espécimes do planeta por sua capacidade de aprender e habilidade em incorporar conhecimento ao seu desenvolvimento. Com isso foi capaz de se adaptar às inúmeras modificações ocorridas no planeta e suplantou aos demais espécimes animais, impondo-se como dominante (Barsa, 1999).

1.2 O homem e seu ecossistema

Entretanto, nesse processo evolutivo, também a forma de explorar as riquezas da natureza se transformou passando da simples atividade extrativista, da coleta de frutos e plantas, da caça a outros animais, para o uso extensivo dos recursos naturais quer seja para a construção de moradia e proteção, para a produção de bens materiais de valor mercantil, incluindo a exploração de minérios e sua transformação em materiais metálicos.

Em que pese a exploração crescente e continuada do meio ambiente pelo ser humano, o próprio crescimento populacional foi muito pequeno até antes da Revolução Industrial. Dados históricos estimam uma população mundial abaixo dos 200 milhões de habitantes até antes do século 2 AC, tendo atingido o primeiro bilhão de habitantes somente no início do século XVIII. Nos últimos 200 anos de nossa história se deu um crescimento mais acelerado, atingindo hoje a marca de 6,5 bilhões (UN, 1999, USCB, 2006).

Chama-se de Ecossistema a associação estável existente entre uma comunidade biológica e o ambiente físico onde ela vive. Implica em trocas contínuas entre solo, plantas e animais, estabelecendo uma cadeia alimentar. Quando uma população atinge os limites impostos pelo ecossistema, seus números precisam estabilizar-se ou declinar em consequência de doença, fome, competição, baixa reprodução e outras reações comportamentais e psicológicas. Caso isso não ocorra, haverá um desequilíbrio entre as comunidades biológicas e o ambiente físico, instabilizando as relações estabelecidas na cadeia alimentar, o que traz sérias consequências àquele ecossistema. Mudanças e flutuações no meio ambiente representam uma pressão seletiva sobre a população, que deve se ajustar. O ecossistema tem aspectos históricos: o presente está relacionado com o passado, e o futuro com o presente. Assim, o ecossistema é o conceito que unifica a ecologia vegetal e animal, a dinâmica, o comportamento e a evolução das populações (Barsa, 1999).

1.3 A sociedade urbana em expansão

Com o desenvolvimento progressivo da organização social do homem, as atividades de exploração do ambiente, antes restrita ao suprimento das necessidades para o próprio consumo (Barsa, 1999), foram se expandindo, estabelecendo vínculos de troca entre os grupos, iniciando uma atividade comercial com crescimento progressivo, exigindo a expansão da atividade extrativista. Desse modo, os pequenos grupos nômades deram lugar a agrupamentos populacionais mais densos e estáveis, localizados em regiões onde as atividades agrícolas, extrativistas ou industriais podiam ser realizadas em conjunto com o comércio dos produtos (Barsa, 1999). Essa transformação culminou no século XVIII com a Revolução Industrial (Crutzen, Carmichael, 1993), com a utilização de processos produtivos intensos e a concomitante geração de resíduos dessa atividade como, por exemplo, produtos da queima de carvão para a geração de energia e do coque para a metalurgia (Barsa, 1999).

O Fundo das Nações Unidas para Populações, UNFPA (2007), estima que até o início do século XIX a população urbana não ultrapassava 3% da população mundial mas, principalmente após a Revolução Industrial, uma enorme migração do campo para as cidades fez crescer brutalmente a população urbana, chegando hoje a aproximadamente 47% da população mundial, em menos de 200 anos.

Os contingentes populacionais cada vez maiores que convergiram para as cidades, sede da estrutura política e administrativa da sociedade, abrigo de

toda a mão de obra necessária ao desenvolvimento das atividades industriais e comerciais em expansão, precisaram ser acomodados e mantidos através de uma estrutura urbana com moradias, sistema de transporte, rede de distribuição de alimentação e apoio, gerando e agravando um progressivo desequilíbrio do ecossistema (Blimbescombe, 1999, Barsa, 1999, André, 2002). Desse modo, tanto nos processos industriais e extrativistas quanto na ocupação urbana, a emissão e lançamento de grande quantidade de gases e particulados na atmosfera promoveram uma ação combinada, severa e nociva sobre o meio ambiente e o próprio homem (Wark et al, 1998).

Assim, desde o início do século XIX, a dinâmica dessa expansão das populações e a capacidade da Terra em prover alimentos, têm recebido especial atenção dos estudiosos em ecologia, apesar desse termo ter sido criado apenas no século XX, uma vez que a reposição natural dos recursos planetários não mais restabelecia sua disponibilidade original no ambiente, o que levou ao desenvolvimento de diversos estudos sobre a interação entre predadores e presas, as relações competitivas entre espécies e, principalmente, o controle populacional (Barsa, 1999).

1.4 O homem e a poluição

Poluição é o termo empregado para designar a deterioração das condições físicas, químicas e biológicas de um ecossistema, que pode afetar negativamente e de forma mensurável a vida humana e de espécies animais

e vegetais. A poluição modifica o meio ambiente, ou seja, o sistema de relações no qual a existência de uma espécie depende dos mecanismos de equilíbrio entre processos naturais destruidores e regeneradores (Seinfeld, Pandis, 1997, Barsa, 1999).

Mesmo antes da existência do homem, a própria natureza já produzia materiais nocivos ao meio ambiente, como a erupção de vulcões com grandes emissões de gases e sólidos, as tempestades de poeira originadas nas áreas com baixa cobertura vegetal, névoa salina próximo ao mar, ou mesmo alta cargas de pólen e esporos carregados no ar (Seinfeld, Pandis, 1997). Na verdade, uma certa quantidade de materiais sólidos no ar, como poeira ou partículas de sal, é essencial como núcleos para a formação de chuvas. Quando, porém, essas emanações aumentam muito, as gotas que se formam são muito pequenas para cair na forma de chuva, podendo assim, interferir seriamente no próprio regime pluvial (Barsa, 1999). A essas emissões naturais se somam os gases e particulados gerados diretamente em decorrência das atividades do homem, estas chamadas de emissões não naturais ou antropogênicas, ou resultante da combinação química dos elementos presentes na atmosfera (Hinds, 1998).

Já no século XIX se podia detectar a existência de graves problemas ambientais, como mostram os relatos sobre poluição e insalubridade nas fábricas e bairros operários (Barsa, 1999).

Assim, o ambiente atmosférico, particularmente o urbano, resultante das emissões promovidas pelas atividades econômicas ou decorrentes da própria ocupação e sustentação das populações instaladas, se transformou

em um novo ambiente, tanto em termos de elementos químicos presentes nos estados gasosos ou particulados, quanto nas concentrações encontradas, comparados com os ecossistemas originais (Word Resources, 1996), cujos efeitos na saúde são pouco conhecidos, enquanto os contingentes populacionais a ele expostos são cada vez maiores em face do adensamento urbano (WHO, 1996, UNFPA, 2007).

Em decorrência do aumento das emissões de poluentes originados tanto pelo crescimento das atividades industriais como pela ocupação urbana, durante o século XX ocorreram vários episódios de poluição com grande impacto, que merecem destaque quer seja pela magnitude do efeito, quer seja pelo impacto social promovido na sociedade moderna, mais humanista e democrática:

Vale de Meuse, 1930

No início de dezembro de 1930, uma espessa névoa cobriu uma grande parte da Bélgica. A região do vale de Meuse, densamente povoada, estava entre elas. Nesse período a atmosférica fria e quase sem vento, não permitiu a dispersão da fumaça emitida pelas inúmeras fábricas ali instaladas, aumentando progressivamente a concentração dos poluentes na atmosfera, que atingiu a máxima concentração em dois dias.

Algumas horas após atingir esse pico de poluição, e durante os 3 dias em que essa concentração se manteve antes de dispersar, alguns milhares de casos de doenças pulmonares agudas foram notificadas além do registro de 60 mortes. Os estudos realizados sobre esse evento apontaram como

causa majoritária dos efeitos em saúde registrados, a alta concentração de dióxido de enxofre e seus compostos oxidativos, além de compostos de flúor (Roholm, 1937).

Donora, 1948

A pequena cidade industrial de Donora experimentou um episódio de severa inversão térmica no final de outubro de 1948. No período de quase 5 dias que se seguiram, pela impossibilidade de dispersão dos poluentes emitidos pelas indústrias ali instaladas, houve a saturação da atmosfera com uma carga de material particulado e outros contaminantes, comprometendo até mesmo a visibilidade local.

Nesse período, dos 14.000 habitantes locais, cerca de 7.000 adoeceram, dos quais 400 necessitaram de internação hospitalar e 20 morreram (Helfand et al., 2001).

Londres, 1952

Mas talvez o mais severo e marcante evento de poluição atmosférica, em termos de efeitos à saúde, tenha ocorrido em Londres. Conhecida por seu típico fog, Londres era uma cidade com alto consumo de carvão, quer seja para o uso doméstico, na geração de eletricidade em termelétricas, ou mesmo para o consumo industrial.

Entretanto, um atípico e denso fog se instalou entre os dias 5 e 9 de dezembro de 1952, tornando a composição desse fog com a alta carga de

dióxido de enxofre emitido, uma atmosfera altamente agressiva e letal, como comprovado pelo excedente de mais de 3.000 mortes registradas apenas nas primeiras três semanas de dezembro. Apesar dos estudos iniciais atribuírem parte dessas mortes a uma epidemia de gripe, a poluição atmosférica foi relacionada como uma das principais explicações para o ocorrido (Bell, Davis, 2001).

1.5 A busca do desenvolvimento sustentável

Esses eventos mostraram, sem sombra de dúvidas, que a poluição atmosférica era capaz de afetar a saúde das populações expostas, mas não se sabia exatamente a extensão dessa ação e tampouco os mecanismos de sua atuação no organismo humano (André et al., 2000).

Essa constatação gerou uma forte pressão das sociedades organizadas sobre os governos, para estabelecer uma legislação ambiental capaz de permitir que o crescimento econômico, necessário para o desenvolvimento das sociedades, pudesse ser feito com base na manutenção e proteção ao meio ambiente e garantindo a própria saúde e integridade do ser humano (WHO, 1996).

Porém, antes de estabelecer qualquer legislação havia a necessidade de se compreender os mecanismos e formas de ação dos poluentes sobre os seres vivos, (WHO, 1996).

Para tanto foi necessário contar com o auxílio da comunidade científica para analisar esses eventos e desenvolver outros estudos que permitissem compreender os mecanismos biológicos e toxicológicos envolvidos, lançando mão de experimentos epidemiológicos e toxicológicos para identificar e caracterizar a ação dos diversos agentes poluidores, estabelecendo com clareza a relação entre causas e efeitos, principalmente sobre a saúde humana (WHO, 1996, André et al, 2000).

1.5.1 Os estudos epidemiológicos

Os estudos epidemiológicos vêm desempenhando um importante papel para a compreensão dessa relação (André et al., 2000). Neste tipo de estudo uma amostra da população é analisada em conjunto com a exposição ambiental e outros fatores que influenciem a relação entre ambos, de modo a permitir inferir uma relação causal entre ambos (Rothman, Greenland, 1998, André et al., 2000).

Considerando que fatores de ordem ética limitam a utilização de seres humanos em estudos com exposições controladas, uma vez que essa exposição pode causar uma doença, a maior parte dos estudos epidemiológicos realizados é do tipo observacional, isto é, quando voluntária ou involuntariamente pessoas são expostas a algum agente atmosférico potencialmente perigoso, sem interferência intencional sobre a intensidade dessa exposição (Rothman, Greenland, 1998).

Quando se pretende estudar os efeitos agudos de uma exposição ambiental, ou seja, quando os efeitos sobre a saúde ocorrem logo após a exposição, os estudos epidemiológicos do tipo ecológico e caso-controle são os mais empregados. Já efeitos crônicos, quando a exposição precisa ser realizada para permitir o acúmulo das substâncias antes de disparar um processo de resposta biológica no organismo, são mais bem avaliados em estudos epidemiológicos de coorte (André et al., 2000).

Nos estudos caso-controle, a exposição é avaliada em termos individuais, em dois grupos, enquanto nos estudos do tipo ecológico a exposição é considerada em termos de uma população. Em ambos os estudos, o resultado da avaliação é obtido em um espaço de tempo reduzido e a um custo reduzido (Rothman, Greenland, 1998, André et al., 2000).

Por essas razões, a Organização Mundial de Saúde, (WHO, 1996) vem recomendando a utilização desses estudos em países pobres ou em desenvolvimento, onde o crescimento econômico é habitualmente priorizado sem que haja o necessário cuidado para se evitar impacto ambiental, quer seja pela urgência no crescimento econômico, pela não disponibilidade de conhecimento para conduzir as avaliações, ou mesmo pela indisponibilidade de recursos financeiros para realizá-las.

Assim, ao fornecer a esses países o estado da arte em estudos epidemiológicos, de baixo custo e rápida realização, é possível reverter a tendência atual de crescente prejuízo ambiental, ao mesmo tempo em que habilita pesquisadores locais a realizar tais estudos, suprindo os tomadores de decisão com melhores informações para legislar e planejar suas estratégias de desenvolvimento (WHO, 1996).

Já os estudos do tipo coorte partem de grupos da população que não têm a doença em estudo mas apresentam diferentes graus de exposição à sua possível causa, acompanhando-os ao longo do tempo para medir e comparar a taxa de incidência da doença em cada um dos grupos da coorte. Este tipo de estudo pode considerar tanto efeitos crônicos quanto agudos, e seus resultados normalmente são obtidos após longo período de tempo, envolvendo custos mais altos para sua realização (Rothman, Greenland, 1998, André et al., 2000).

De uma maneira geral, os estudos epidemiológicos tem demonstrado que o material particulado da poluição atmosférica apresenta uma relação mais consistente com os desfechos de saúde analisados (Pope et al., 1995, Schwartz, 1994, Schwartz, Dockery, 1992, Pope, Schwartz, Ramsom, 1992) mas, claramente indicam a necessidade de estudos específicos para esclarecer os mecanismos biológicos envolvidos e demonstrar a plausibilidade da associação através de estudos toxicológicos (Saldiva et al., 2002, Clark et al., 1999).

1.5.2 Os estudos toxicológicos

Desse modo, os estudos toxicológicos, mais do que competir com os estudos epidemiológicos, vem complementar a cadeia de conhecimentos necessário para entender os fenômenos da relação poluição atmosférica e saúde humana (André et al., 2000).

Uma das maiores preocupações na atualidade para os grandes centros urbanos, as emissões por fontes automotivas, tem demandado a realização de inúmeros estudos toxicológicos utilizando animais ou plantas colocados em câmaras de exposição conectadas a motores diesel ou ciclo Otto, ou pela instilação em animais ou tecidos do material coletado na exaustão desses motores. Vários efeitos foram identificados como inflamação do pulmão, danos fisiológicos e mutações, além da obtenção das toxicidades relativas de diferentes combustíveis e tecnologias de motores (Massad et al., 1986, Reed et al., 2006, Turrio-Baldassarri et al., 2006, Oliveira et al., 2005, Seagrave et al., 2002, Saldiva et al., 1992).

Também o estudo toxicológico de gases como o monóxido de carbono tem sido realizado em laboratórios para investigar efeitos agudos e crônicos, utilizando para isso animais, bactérias, cérebro ou outros tipos de tecidos, em ambientes enriquecidos com esses gases. Estresse oxidativo, desordem cardíaca e falhas do coração, dano ao tecido cerebral, alterações nas características do sangue ou dos parâmetros respiratórios foram observados (Dadidova et al., 2005, Tofighi et al., 2006, Melin et al., 2005, Mirza et al., 2005, Lee et al., 2005, Gu et al., 2005, Gosh et al., 2005).

Para os estudos toxicológicos com ozônio, as mesmas abordagens acima tem sido empregadas, incluindo também estudos com plantas, espécimes mais sensíveis que animais ou humanos, para isso. Exposições “in vitro” e câmaras de exposição com enriquecimento de ozônio são utilizadas para essa exposição, criando diferentes ambientes (Foucaud et al., 2006, Huffman et al., 2001/2006, Moraes et al., 2006, Novak et al., 2003, Vanderheyden et al., 2001, Zhang et al., 2001, Nali et al., 2006).

Devido à alta reatividade do ozônio sua absorção se processa quase exclusivamente por inalação, apesar de ser plausível imaginar que ele também afete as camadas mais externas da pele ao exaurir as vitaminas C e E (Rojas et al., 2000; Valacchi et al., 2004).

Apesar de muito úteis no estudo da toxicidade dos poluentes, esses estudos esbarram na limitação de não representar adequadamente a atmosfera real, quer seja pela impossibilidade de reproduzir sua composição e dosagem, ou tampouco os efeitos sinérgicos da interação entre os poluentes presentes. No caso específico de componentes muito reativos ou voláteis essa limitação torna-se uma restrição, impedindo considera-los na exposição. Desse modo a transferência direta dos resultados obtidos nesses estudos não pode ser feita para os seres humanos.

Concentrador de partículas atmosféricas

Para permitir que as características reais do ambiente atmosférico de interesse seja plenamente considerado, foi desenvolvido o concentrador de partículas atmosféricas, particularmente o construído pela Escola de Saúde Pública da Harvard, que capta o ar ambiente e consegue concentrar seus componentes de maior massa, o material particulado, até uma taxa de 27 vezes da concentração original do ambiente, disponibilizando-o em uma câmara de exposição até poucos segundos de sua captação, evitando qualquer degradação dos seus componentes (Sioutas et al., 1995, Godleski et al., 2000). Uma das vantagens no uso desse equipamento reside no fato de permitir que em apenas poucas horas de exposição esteja se ministrando

uma carga de poluentes que só seria realizada em vários dias no ambiente real. Essa vantagem é particularmente interessante ao reduzir ou eliminar muitas condições de viés experimental, ou seja, aqueles com potencial para interferir nos resultados do estudo (Sioutas et al., 1995,1997), como por exemplo, evitar que os animais fiquem longos períodos em condições ambientais não controladas, quando estão sujeitos a contaminação, permitir melhor caracterização da exposição, uma vez que não se está sujeitando a exposição às variações que ocorrem ao longo do dia e da semana, mas apenas com poucas horas de duração (Sioutas et al., 1995,1997).

Desse modo, todos os componentes presentes na atmosfera em estudo, gasosos ou particulados, mesmo que não medidos durante o experimento, permanecem durante a exposição, mantendo as características da poluição fresca real (Sioutas et al., 1997).

Estudos utilizando esse equipamento verificaram a existência de efeitos da poluição atmosférica nos sistemas respiratório e cardiovascular, em animais (Saldiva et al., 2002, Sioutas et al., 1995,1997, Godleski et al., 2000, Clark et al., 2000) e humanos (Gong et al., 2004).

Apesar da grande contribuição desse tipo de equipamento aos estudos toxicológicos, sua utilização ainda é bastante restrita devido à existência de apenas poucos exemplares no mundo, aos altos custos envolvidos na aquisição, operação e manutenção, sem mencionar a necessidade de habilitar pessoal técnico para operá-lo. Também não deve ser esquecido que menos de 50% desses concentradores são móveis. Assim, mesmo que disponíveis para um estudo, sua locomoção e

operacionalização no local onde a poluição atmosférica de interesse está, é uma tarefa de certa complexidade logística.

Exposições em múltiplos locais

Uma alternativa utilizada para analisar o potencial tóxico da poluição de um local, é o de manter grupos de animais ou plantas em diferentes locais onde em um deles o poluente de interesse está presente enquanto no outro local não. Os problemas dessa abordagem passam pela impossibilidade de se encontrar dois locais que se diferenciem apenas pela presença/ausência do poluente, normalmente outros fatores também variam entre os locais como temperatura, umidade relativa do ar, nível de insolação, entre outros. Também esse desenho experimental exige a disponibilização de duas estruturas de apoio para sua operação e manutenção, criando barreiras adicionais para eliminar fatores de confundimento, ou seja, fatores que podem interferir com a exposição ou o desfecho em estudo no experimento.

Câmara de topo aberto

Um dispositivo alternativo ao concentrador de partículas atmosféricas e à realização de exposição simultânea de espécimes em dois diferentes locais, é a câmara de topo aberto.

Derivadas de câmara desenvolvidas para fumigação de plantas (Rodrigues, 1997), são normalmente instaladas duas dessas câmaras, lado

a lado, onde uma recebe ar pré-condicionado em filtros, e outra o ar ambiente fresco, criando desse modo dois ambientes que diferem apenas pela ausência dos elementos retidos pelo sistema de pré-condicionamento. Desse modo, ao manter animais ou plantas em exposições de longa duração nas duas câmaras, obtêm-se um gradiente na exposição de interesse sem que outros fatores ambientais, de confundimento, também variem, evitando interferência na análise do experimento.

Comparado ao experimento em múltiplos locais, o uso de câmaras de topo aberto permite que o gradiente de exposição e todo o experimento sejam realizados em um único local físico, sem a necessidade de dispor de duas estruturas de apoio ou dois grupos de pesquisadores para isso, com direta redução de custos e eliminação de viés experimental.

1.6 Bioensaios

Segundo Ma (1994) a poluição ambiental gerada pelo homem, e genericamente chamada de antropogênica, assume muitas vezes aspectos perceptíveis, ou simplesmente visíveis, de maneira que pode-se rapidamente identificar sua presença e perseguir ações mitigadoras, mas a mais perigosa é aquela invisível, que passa despercebida, na forma de combinações ou misturas, capaz de se difundir no meio ambiente sem nenhuma percepção de sua presença até que suas consequências mais danosas se fazem perceber.

Nesse contexto, Ma (1994) lembra da importância de adotar um sistema de alerta primário, a exemplo dos mineiros que carregavam canários em seus capacetes ao entrar nas minas para que, em caso da presença de gases tóxicos, mesmo em dosagens imperceptíveis para os seres humanos, os efeitos no animal já dessem um aviso do risco no ambiente, antes que consequências irreversíveis ocorram.

Apesar de já terem sido desenvolvidos protocolos de bioensaios sensíveis para detectar poluentes atmosféricos desde a década de 30 do século XX, muito pouco desses protocolos foi utilizado na análise ambiental até há poucas décadas. Alguns desses protocolos demonstraram ser adequados apenas em exposições laboratoriais “in vitro”, como os que utilizam tecidos, células ou animais, enquanto outros são pouco sensíveis ou demandam muito tempo até produzir seus resultados (Ma, 1994).

Dentre os protocolos existentes mais sensíveis, rápidos e simples de realizar, bioensaios com plantas são os mais frequentes, utilizando células germinativas como células alvo do sistema biológico. Normalmente os espécimes vegetais superiores (vasculares) dispõem em seu botão de flor camadas muito porosas onde a difusão dos poluentes atmosféricos ocorre sem dificuldade, de maneira bastante rápida. Assim, as células germinativas são facilmente expostas ao agente tóxico contido na atmosfera (Ma, 1994, Krupa, Legge, 2000, Constantin, 1978, Manning, 2002, Rodrigues, 1997).

A utilização dos bioensaios com plantas na avaliação da contaminação do ar, tem sido extensivamente utilizada para realizar

avaliação qualitativa e quantitativa da ação dessa contaminação, com o intuito de estabelecer os riscos impostos aos sistemas biológicos. Apesar de não haver ainda um consenso entre os diversos autores, vamos aqui denominar genericamente de biomonitoramento a utilização de plantas para esse propósito.

Os protocolos de bioensaio já padronizados, desenvolvidos para a planta *Tradescantia* são o de mutação em pelo estaminal, denotado por Trad-SHM, e o teste de mutagenese em célula-mãe de pólen, denotado por Trad-MCN.

No protocolo Trad-SHM, a cor dos filamentos do estame é resultado de um gene dominante. A ação do agente tóxico presente na atmosfera provoca a mutação desse gene, e a conseqüente mudança da cor do filamento para rosa. A frequência dessa mutação é uma função proporcional da toxicidade da exposição, permitindo uma quantificação do efeito (Ma et al., 1994, Rodrigues, 1997).

No protocolo Trad-MCN, a ação tóxica do poluente ocorre durante o processo de acelerada atividade de duplicação do material genético que ocorre no botão jovem da flor, processo esse mais corretamente descrito como replicação meiótica do cromossomo das células-mãe do pólen, promovendo mutação ou quebra do cromossomo. No processo natural de reparação desses danos, a anomalia ocorrida se transforma em um material que é segregado, formando o chamado micronúcleo. Assim, o micronúcleo é o rejeito da reparação do dano provocado pelo ataque do agente tóxico (Ma, 1981, Klumpp et al., 2004).

Vale destacar que as células germinativas em animais são bastante protegidas e blindadas do ataque direto de substâncias tóxicas. Assim, qualquer substância precisa primeiramente entrar no organismo através do sistema circulatório, atravessando vários órgãos desse sistema e sobrevivendo aos diversos mecanismos naturais de defesa, antes de atingir os testículos ou ovários do animal. Com isso o potencial tóxico da substância originalmente dispersa no ar fica bastante diluído e atenuado ao chegar a esse destino (Ma, 1994).

Outro método bastante interessante de identificar compostos presentes no ar com a utilização de plantas, é a bioacumulação, isto é, o material particulado presente no ar que se deposita na superfície das folhas e penetra na estrutura das folhas, ficando retido. Esse processo se inicia por simples penetração do material nos canículos da cutícula dos estômagos, até chegar aos espaços intracelulares. Após isso, por processo metabólico, há a passagem desse material para o interior das células (Keane et al., 2001, Malavolta, 1985, Carneiro, 2004).

1.7 Bioensaios em câmaras de topo aberto

Nos países desenvolvidos, particularmente na Europa, redes de biomonitoramento com plantas vem sendo implantadas como uma etapa complementar ao monitoramento instrumental da qualidade do ar, pois permite que os fatores locais específicos, como temperatura e umidade,

sejam incorporados ao modelo a nível de microregiões, o que seria técnica e economicamente inviável de se realizar com monitoramento instrumental. Além disso, sua implantação e operação é simples de ser feita e de baixo custo, e os resultados que oferece são fáceis de ser demonstrados para a população, permitindo que a comunidade compreenda e participe das políticas ambientais (Klumpp et al., 2001).

Por sua vez, também na Europa, câmaras de topo aberto tem sido largamente utilizadas para simular ambientes com a injeção de gases de interesse, particularmente com ozônio (Manning et al., 2004, Manning, Godzik, 2004, Manning, 2002, Bergweiler, Manning, 1999), mas muito poucos experimentos utilizam a exposição ambiente local.

Essa constatação pode ser entendida ao considerarmos que, nessas regiões, mesmo com o forte adensamento nas cidades, concentrando hoje quase 65% da população, a implantação de políticas públicas para controle de emissões de poluentes tem sido eficientemente realizada.

Por outro lado, é nas grandes cidades dos países em desenvolvimento ou não desenvolvidos, mesmo não contando com tão forte adensamento populacional, que encontram-se as regiões urbanas com os maiores níveis de concentração de poluentes, quer seja pela falta de planejamento das instalações urbanas, pela inadequação dos seus sistemas de transporte, pela baixa qualidade de seus combustíveis, pelo envelhecimento das frotas de veículos, pela falta de cumprimento de uma legislação ambiental, ou mesmo pela inexistência de tal legislação, enfim, até mesmo por não haver monitoramento adequado dos parâmetros ambientais (WHO, 1996, World Resources, 1996, Guimarães et al., 2000, Carvalho-Oliveira, 2005, CETESB, 2002).

A cidade de São Paulo é uma das maiores cidades do mundo, concentrando aproximadamente 17 milhões de habitantes em sua região metropolitana (UN, 1999). Estudos realizados em câmaras de topo aberto na cidade com animais e plantas tem sido capazes de estabelecer um gradiente de exposição e identificar vários desfechos em organismos vivos (Mohallem et al., 2005, Pires-Neto et al., 2005, Lemos et al., 2006), alguns deles ainda em desenvolvimento.

Desse modo o uso combinado de câmaras de topo aberto e bioensaios com plantas pode ser uma alternativa suficientemente sensível, de baixo custo e fácil de ser transportada para permitir sua utilização como sistema para avaliar o potencial tóxico de diferentes regiões urbanas, tão necessário para um país com tantas cidades e regiões metropolitanas com altas concentrações de poluição atmosférica.

Entretanto, o único equipamento disponível para realizar esses experimentos no Brasil, está instalado nos jardins da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e foi seguidamente reformado em função de problemas históricos e danos a alguns de seus componentes, não existindo qualquer estudo que descreva sua construção e parâmetros de operação, capaz de permitir a construção de sistemas similares para a expansão de seu uso em situações similares de interesse. Tampouco foram feitos ensaios simultâneos com diversos espécimes vegetais, testando os desfechos e utilizando os protocolos de bioensaios já citados anteriormente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Demonstrar as características operacionais da Câmara de Topo Aberto e sua capacidade para estabelecer um gradiente de exposição em cenário urbano, sensível a protocolos toxicológicos com plantas.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever a construção, os parâmetros e as características de projeto dos componentes mecânicos da câmara de topo aberto, CTA, incluindo os sistemas seletivos de filtração de ar, no uso em ambiente urbano;
- Utilizar bioensaio com protocolos de micronúcleos (Trad-MCN), com Tradescantia clones 4430 e KU20, e Tradescantia roxa, para

demonstrar a capacidade de identificação do gradiente de exposição gerado na CTA;

- Utilizar bioensaio com protocolos de mutação em pelo estaminal (Trad-SHM), com Tradescantia clones 4430 e KU20, para demonstrar a capacidade de identificação do gradiente de exposição gerado na CTA;
- Utilizar bioensaio com protocolo de mutação em grão de pólen, com Tradescantia clones 4430 e KU20, para demonstrar a capacidade de identificação do gradiente de exposição gerado na CTA;
- Utilizar bioacumulação, com o uso de Tradescantia clones 4430 e KU20, e a espécie localmente disponível, Tradescantia roxa, para comparar a acumulação dessas plantas quando utilizada em CTA em ambiente urbano.

3 MÉTODOS

3.1 Câmara de topo aberto – CTA

A Câmara de Topo Aberto, daqui em diante denominada como CTA, utilizada neste experimento, estava armazenada no Instituto de Botânica, como contrapartida de sua participação em experimentos conduzidos em conjunto com organizações de pesquisas estrangeiras em Cubatão, SP, na década de 1980. Sem operar há anos, estava danificada pelas condições de armazenamento precárias e inadequadas.

Entre 1998 e 2002 foi feita a reforma estrutural do equipamento e a substituição dos ventiladores, para restabelecer sua funcionalidade original. Entre 2002 e 2004 foi incorporado ao sistema de filtragem de ar mais um estágio de filtragem mecânica, com filtro de alta eficiência, High Efficiency Particulate Air filter, HEPA (US-DOE, 1997).

A CTA é basicamente composta por três partes: câmara de exposição, sistema de filtragem do ar e unidade de insuflamento.

Além disso, conta hoje com um sistema de iluminação para permitir melhor controle de luminosidade, particularmente crítico em experimentos com plantas, e muito útil em experimentos com animais.

Um sistema de umidificação está instalado para experimentos com plantas, para permitir simultaneamente manter a hidratação do espécime e evitar que flores e folhas sejam lavadas pela rega normal, que provoca remoção de material depositado nas folhas e embaralha filetes dos estames.

3.1.1 Princípio de funcionamento

A estrutura principal da CTA, chamada câmara de exposição, é um volume parcialmente segregado do ambiente externo. Um ventilador, conectado à parte inferior dessa câmara, insufla ar captado no ambiente externo, promovendo a contínua renovação de ar na câmara. Por uma abertura na parte superior da estrutura sai o ar deslocado. Assim, o volume interno da câmara é continuamente trocado a uma taxa entre 2,6 a 3,0 vezes por minuto, o que impede o retorno de ar pela abertura superior.

Pode-se conectar uma unidade de filtragem à sucção do ventilador de modo a, seletivamente, restringir a passagem de algum elemento ou componente presente no aerossol do ambiente externo para a câmara de exposição. A essa restrição denomina-se pré-condicionamento do ar.

O arranjo acima, representado na Figura 1, composto por câmara, ventilador e unidade de filtragem, cria um ambiente interno idêntico ao externo, exceto pela menor concentração dos elementos selecionados feita pelo pré-condicionamento.

Assim, pode-se intencionalmente obter um gradiente de concentração de um elemento entre os ambientes externo e interno à câmara, adequado ao estudo toxicológico, enquanto as demais características ambientais permanecem idênticas, reduzindo o viés do experimento.

Figura 1 - Esquema da câmara de topo aberto – CTA, identificando cada um dos sistemas que o compõe e o fluxo do ar

3.1.2 Câmara de exposição

A câmara de exposição é formada por uma estrutura metálica em alumínio, de forma cilíndrica vertical, com 2 m de diâmetro interno, recoberta externamente com uma película plástica.

Perfis do tipo U com 2" calandrados formam os anéis que dão a forma cilíndrica da câmara, colocados no piso, no topo e mais um anel intermediário. Perfis tipo U de 1" interligam e travam esses anéis, colocados na vertical e na forma de X. A fixação entre esses perfis metálicos é feita com parafusos e porcas sextavados em aço inoxidável.

Ao primeiro segmento cilíndrico vertical, com 1,60 m de altura, conecta-se um segmento cônico com altura de 0,55 m que reduz a seção circular para o diâmetro de 1,60 m.

Acima do segmento cônico, alinhada ao eixo do cilindro e cone, e separado por uma altura de 0,5 m, está colocada uma cobertura tipo domo, na forma de segmento de esfera. Forma-se, assim, um espaço aberto acima da face superior do cone e abaixo do domo.

O volume interno da CTA, perfaz 6,4 m³.

A cobertura da superfície do domo, do cone e do cilindro é feita com uma película plástica flexível e transparente, com *lining* para filtrar raios ultravioleta. A amarração da película na estrutura metálica é feita com o uso de cordão de algodão passado por dentro de um bolsão nas extremidades do plástico, apertado sobre a superfície externa das vigas circunferenciais nos extremos do cilindro, cone e domo.

A película plástica que cobre a seção cilíndrica da câmara é dupla acima do piso até a altura de 0,80 m, formando um bolsão, com furos com diâmetro de 5 cm na superfície interna. Uma manga de mesmo material plástico liga o bolsão ao exterior, para ser acoplado à saída do ventilador. Desse modo, o ar insuflado pelo ventilador é conduzido para o bolsão formado pelo plástico duplo, que é transferido para a câmara interna de forma homogênea e sem grande turbulência, através dos furos na superfície do plástico interno.

A estrutura é apoiada em uma laje de concreto lisa e nivelada sobre o solo, fixada com chumbadores do tipo rápido, garantindo a estabilidade do

conjunto ao vento. A vedação entre estrutura e laje é feita com espuma de poliuretano expansível.

A instalação elétrica local foi dimensionada para alimentar, proteger e comandar o ventilador, iluminação e tomadas elétricas adicionais para equipamentos de monitoramento e manutenção. Nessa instalação elétrica também estão instalados 2 programadores de tempo (timer), capazes de diariamente, na hora programada, ligar e desligar os circuitos que acionam a válvula solenóide, responsável pela alimentação de água potável do sistema de gotejamento para plantas, e a iluminação interna da CTA.

Na viga circunferencial do domo da câmara foram instalados dois perfis metálicos próprios para fixação das luminárias do sistema de iluminação e das tomadas elétricas.

Os espécimes que serão expostos podem ser colocados no interior da câmara de exposição sobre prateleiras apoiadas no piso ou encaixadas em estruturas de madeira penduradas nos mesmos perfis metálicos de fixação das luminárias. Este segundo arranjo permite uma melhor ventilação entre os vasos e floreiras pois apresenta uma menor obstrução ao fluxo de ar interno ascendente dentro da câmara.

3.1.3 Sistema de filtragem

O sistema de filtragem de ar, responsável pelo condicionamento do ar a ser injetado na CTA, é uma estrutura construída em perfis de aço tipo cantoneira L, com canaletas internas onde os diversos componentes do

sistema de filtragem são encaixados. Essa estrutura é fechada lateralmente por painéis de chapa aço pintado rebitados ou fixados por parafusos, de modo a permitir o acesso para troca dos filtros removíveis.

O ar captado em uma das extremidades da estrutura, é conduzido através dos diversos estágios de filtragem de ar até a extremidade oposta, onde um tubo flexível conecta o sistema à entrada do ventilador de insuflamento da CTA. Assim, ao longo de todo o percurso do ar na caixa do sistema de filtragem, temos uma pressão inferior à do ambiente. Para evitar contaminação do ar externo, em todas as chapas de fechamento removíveis estão instaladas guarnições de espuma de borracha.

A seção interna padrão dessa caixa é quadrada com 0,61 m de lado, onde são instalados suportes adequados à fixação de cada elemento filtrante. Na Figura 2 é apresentada uma vista em corte da caixa onde são identificados cada um desses estágios de filtragem: captação, filtro inicial em dois estágios, filtro químico em dois estágios, filtro fino e filtro extrafino.

Figura 2 - Vista em corte do sistema de filtragem com a identificação de cada seção de filtragem do ar

No caso do presente experimento não foram instalados os estágios do filtro químico, mantendo apenas a retenção de material particulado que, historicamente, é o poluente mais significativamente relacionado a saúde humana (Dockery, 2001, Pope, Dockery, 1999, Samet et al 2000, Schwartz et al 1996) e mais fácil de monitorar em experimentos toxicológicos. Apesar de já terem sido realizados na CTA vários protocolos com o uso de filtragem química, muitas dificuldades envolvem sua utilização: redução obtida na concentração dos poluentes de interesse não foi alta, o monitor Trigás disponível para monitoramento de gases, requer significativo apoio laboratorial e sua adoção em protocolos para relacionar suas medidas às da rede da CETESB, NO₂ adotado é valor máximo de 1 h e SO₂ adotado é média de 24 h (CETESB, 2002), não viabilizam sua utilização nesses experimentos, principalmente considerando os longos períodos de exposição, além da grande variação na concentração de gases durante as 24 h; os filtros químicos utilizados na década de 1980 não são atualmente as melhores opções disponíveis no mercado, carecendo do desenvolvimento de testes para sua seleção e validação (Mohallem et al, 2005).

A seguir são descritos os estágios de filtração utilizados:

- Captação: composta por defletores e telas que evitam a entrada de água de chuva ou insetos e folhas durante a captação de ar. São peças não substituíveis fixadas diretamente à estrutura.
- Filtro inicial 1o estágio: composto por um filtro tipo plissado de média eficiência de filtragem (30 a 35% ASHRAE). O filtro instalado é o modelo PP-30 tamanho 12"x24"x1" fornecido pela Purafil.

- Filtro inicial 2o estágio: composto por filtro tipo bolsa de média eficiência de filtragem (60 a 65% ASHRAE). O filtro instalado é o modelo TB-60 tamanho 12"x24"x15" fornecido pela Purafil.
- Filtro fino: composto por filtro tipo plisado de alta eficiência de filtragem (87% ASHRAE). O filtro instalado é o modelo JFL-90 tamanho 24"x24"x5" fabricado pela Purafil.
- Filtro HEPA: composto por filtro tipo plissado com eficiência de filtragem de 99,97% (ASHRAE) para material particulado com diâmetro de 0,3 μm . O filtro instalado é o modelo PH-97 tamanho 24"x24"x11.1/3" fabricado pela Purafil.

A Tabela 1 apresenta para cada seção de filtragem a identificação do filtro, nome comercial, vazão nominal, eficiência de filtragem e as perdas de carga com filtro limpo (inicial) e filtro sujo (final).

Tabela 1 - Identificação do filtro e características operacionais de cada elemento filtrante do sistema de filtragem

Seção	Filtro (Purafil)	Eficiência (ASHRAE)	Vazão nominal (m ³ /h)	Perda de Carga (mmCA)	
				inicial	final
Inicial 1º Estágio	PP-30 12"x24"x2"	30-35%	1700	3,8	17,8
Inicial 2º Estágio	TB-60 12"x24"x15"	60-65%	1700	4,6	20,4
Fino	JFL-90 24"x24"x5"	87%	3400	7,6	30,5
Extrafino	PH-97 24"x24"x11.1/3"	99,97% DOP	1700	25,4	50,8

3.1.4 Unidade de insuflamento

O sistema de insuflamento é constituído pelo ventilador de ar, tipo centrífugo, com motor elétrico, base metálica, bocal de sucção, bocal de recalque e válvula tipo borboleta para regulação do volume de ar.

O ventilador original, fora de condições de operação, foi substituído pelo modelo SLL-224 com motor elétrico de 1 CV, para operar nas condições originais de vazão ($1.020 \text{ m}^3/\text{h}$) e pressão (89 mmCA), capaz de fornecer a vazão de ar necessária para manter a taxa de renovação original de projeto.

O controle da vazão de ar é feito por uma válvula de borboleta instalada no recalque no ventilador: válvula parcialmente aberta quando os filtros estão novos e limpos, e totalmente aberta quando os filtros estão sujos. A abertura da válvula é ajustada a partir de um indicador de pressão diferencial de ar, manômetro, com escala superior a 115 mmCA, instalado entre a sucção e recalque do ventilador. O ponto de operação ideal é o obtido na pressão de 89 mmCA, aquela pressão estática do ventilador que corresponde à vazão nominal de projeto, de $1020 \text{ m}^3/\text{h}$.

Em 2003, com a adição do filtro extrafino, HEPA, para obter melhor qualidade de filtragem, o sistema passou a requerer uma maior capacidade do ventilador, aumentando a perda de carga inicial do sistema de 16 mmCA para 41 mmCA. Como consequência, a manutenção da taxa de renovação de ar obriga a realizar a troca dos filtros com maior frequência, antes de sua saturação. A estratégia de troca é a substituição dos filtros iniciais, mais baratos, assim que a pressão do sistema chegue a 89 mmCA, preservando os filtros finais e permitindo que cheguem à saturação.

3.1.5 Sistema de Iluminação

Estão instaladas 8 lâmpadas fluorescentes, tipo luz branca, com 20 W de potência cada, além de 4 lâmpadas, do tipo incandescente, com 60 W cada. Temos assim 8.480 lumens de luz fluorescente e 2.000 lumens de luz incandescente. A instalação desse sistema ocupa todo o espaço físico disponível no domo da CTA e supera a intensidade de luz recomendada por Ma e colaboradores (1994) para garantir o crescimento das plantas.

O sistema é alimentado diretamente do painel elétrico e o comando para ligar e desligar é feito por um programador (timer) regulado para que as lâmpadas estejam funcionando das 8:00 h até as 18:00 h.

3.1.6 Sistema de umidificação

Para preservar a umidade das plantas, está instalado um sistema de rega automático por gotejamento. A vantagem do sistema de gotejamento frente ao de aspersão, é o de evitar a lavagem das folhas que, principalmente ao se utilizar protocolo para bioacumulação, pode causar perda do material depositado na superfície foliar.

A água disponibilizada para essa umidificação é a mesma fornecida pela rede de abastecimento da cidade de São Paulo, tratada pela SABESP. Todas as plantas receberam a mesma quantidade de água.

As plantas expostas, entretanto, estão sujeitas a receber água de chuva, pois as jardineiras estão colocadas em bancada de madeira, protegidas do excesso de luz e da incidência direta da chuva apenas por

uma cobertura de sombrite 50% colocada e fixada sobre a estrutura de madeira da bancada.

O sistema de gotejamento é formado por um conjunto de dutos flexíveis que recobrem todas as jardineiras. Em cada duto são instalados bicos de gotejamento, próprios para uma vazão de 2 lpm cada, modelo Micro Drip código 1322-29 de 3/16", um para cada jardineira. Tanto o duto flexível quanto os bicos são comercializados pela Gardena. Cada trecho de duto flexível foi conectado à mangueira de distribuição, alimentada diretamente da rede pública de abastecimento de água.

Entre essa rede e a mangueira de distribuição está instalada uma válvula manual para isolamento da linha e uma válvula solenóide de 2 vias (uma entrada e uma saída), com bobina normalmente fechada, isto é, na falta de energia elétrica a posição da válvula é de fechamento, ambas de diâmetro 1/2". A válvula solenóide é protegida, alimentada e comandada do painel elétrico por um programador (timer) regulado para abrir toda manhã, das 9:00 h às 9:05 h, tempo esse ajustado durante a exposição.

3.2 Espécimes vegetais

As espécies vegetais aqui descritas tem sido utilizadas em estudos no Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental – LPAE, do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP, seja por constituir espécime já adaptado ao clima tropical, ou por ter sido amplamente utilizado em estudos internacionais tornando-os referência na área.

3.2.1 *Tradescantia pallida* cv. *purpurea*

Este espécime, cuja denominação completa é *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt. Cv. *Purpurea*, popularmente conhecida como Coração Roxo, Trapoerabão ou Trapoeraba roxa, é nativa da região norte e central do continente americano, do tipo herbáceo, prostada e succulenta, com folhas e flores roxas e pubescentes (USDA, 1997, Lorenzi, Souza, 2001).

Atinge 25 cm de altura e é muito utilizada no Brasil como planta ornamental, de fácil cultivo e rápido crescimento, estando bem adaptada ao clima tropical, dado suportar bem a alta incidência de raios solares.

Na região metropolitana de São Paulo é comum encontrar essa planta em canteiros de avenidas e jardins, sempre encorpadas e viçosas, confirmando sua boa adaptação e fácil manutenção.

Como a flor deste espécime é tetraploide, ele não é recomendado para o protocolo de mutação em pêlo estaminal.

3.2.2 *Tradescantia* clone 4430

O clone 4430 é um híbrido entre a *Tradescantia subacaulis* e a *Tradescantia hirsutiflora*. É habitualmente cultivada em casas de vegetação, dado os cuidados que exige para seu desenvolvimento em clima tropical, com inspeções diárias para prevenir o ataque de pragas, como pulgões e cochonilhas, e regas freqüentes.

Esse clone apresenta hastes longas e híidas, folhas lisas e longas em tom de verde claro, com flor na cor azul (predominante) do tipo heterozigoto.

Este espécime demonstra ser muito sensível a exposições radiológicas e a agentes químicos, razão pela qual tem sido extensivamente utilizado em estudos ambientais para detectar mutações via pêlo estaminal ou micronúcleo (Schairer et al., 1978, Ichikawa, 1992, Carvalho, 2005).

Inflorescência é o termo que descreve o agrupamento de botões que diminuem de tamanho conforme se aproxima da haste. De acordo com a literatura, a coleta ocorre entre o 3º ao 5º botão da inflorescência, contando de cima para baixo, onde a fase de tétrade, adequada ao estudo, melhor se apresenta. Entretanto Ma, em sua visita ao Brasil, recomendou a coleta entre o 5º e 8º botão, conforme sua própria experiência, prática essa adotada, desde então, pelo LPAE.

3.2.3 Tradescantia clone KU20

O clone KU20 foi desenvolvido no Japão e sua constituição é muito parecida com o clone 4430, apresentando hastes mais longas e não apresenta a penugem na base, como a 4430, sendo porém de mais fácil manejo e maior resistência. Seu emprego também está bem documentado na literatura, sendo empregada para os mesmos fins que o clone 4430 (Ishikawa, 1984, Ferreira et al., 2007).

3.2.4 Preparação do substrato

Todos os espécimes vegetais foram cultivados em uma região de atmosfera considerada limpa, na área rural de Caucaia do Alto, SP, de modo a evitar contaminação do ambiente.

A quantidade de plantas foi obtida a partir de divisão de espécimes, feito ao longo de 2 meses, por separação manual de raízes para os clones, e por inserção de parte do caule (separados acima do nó na planta matriz) diretamente no substrato, para a *Tradescantia pallida*, de modo a mante-los geneticamente iguais. Durante esse período as plantas foram cuidadas diariamente, com regas, inspeção e limpeza das plantas, no mínimo, uma vez por semana, para retirar ervas daninhas e insetos (pulgão).

As plantas selecionadas para o experimento foram cultivadas em jardineiras plásticas, com largura de 17 cm, comprimento de 44 cm e altura de 14 cm, com uma ocupação de 03 a 04 plantas por floreira. A mesma composição de solo, foi adotada para todas as floreiras:

- Terra vegetal: 11,3 kg para 4 jardineiras;
- Vermiculita: 1,3 kg para 4 jardineiras;
- Humus 1,4 kg para 4 jardineiras;
- Substrato vegetal: 3,2 kg para 4 jardineiras.

Imediatamente antes do envio das plantas para a realização do experimento, foi feito um reforço de adubo em todas as floreiras.

3.3 Caracterização ambiental

3.3.1 Concentração do material particulado

A concentração de material particulado no experimento é obtida por método gravimétrico, selecionado para coletar material particulado na fração fina, com diâmetro aerodinâmico equivalente de até 2,5 μm . Dessa maneira, será utilizada a concentração média diária de material particulado fino como indicador da concentração de material particulado no experimento denotado, daqui em diante, simplesmente como MP2,5.

No método gravimétrico um coletor de material particulado, alimentado por um sistema de vácuo, captura o ar do ambiente. Ao atravessar o coletor se dá a separação do material particulado em suspensão no ar, em duas partes, considerando o diâmetro aerodinâmico equivalente selecionado para o experimento: a fração maior e a fração de interesse. O valor do diâmetro aerodinâmico equivalente selecionado é denominado ponto de corte.

A fração maior é coletada em um disco metálico poroso, previamente impregnado com óleo mineral, enquanto a fração mais fina, de interesse para o experimento, desvia do disco metálico poroso e é posteriormente coletada em um filtro próprio para sua preservação.

A concentração do MP2,5 é obtida como a razão entre o peso da massa coletada no filtro pelo volume total de ar amostrado, expressa em microgramas por metro cúbico de ar ($\mu\text{g}/\text{m}^3$).

A Figura 3 apresenta os componentes do sistema, descrito, a seguir.

Figura 3 - Imagem da direita apresenta os componentes do coletor de material particulado, composto por (1) coletor, (2) válvula agulha, (3) bomba de vácuo, (4) totalizador de vazão e (5) medidor de vazão, enquanto na imagem da direita é apresentado o coletor desmontado

O coletor de material particulado, indicado com 1 na Figura 3, desenvolvido pela Escola de Saúde Pública da Harvard, é fabricado pela Air Diagnostic, e utiliza um impactador para MP_{2,5} dimensionado para trabalhar a uma vazão de 10 lpm (Air Diagnostics, 2007). O ar é capturado na porção superior do equipamento passando pelas aberturas laterais ali existentes. O impactador equivale a uma barreira ao fluxo de ar capturado que, após acelerado, é direcionado a um disco poroso, chamado disco de impactação. Devido à maior inércia, as partículas com diâmetro aerodinâmico equivalente maior que o ponto de corte, não conseguem desviar do disco e se chocam contra sua superfície, aderindo ao óleo mineral ali depositado.

O material particulado remanescente em suspensão no fluxo de ar, após desviar do disco de impactação, é coletado, por um filtro de polycarbonato com

diâmetro de 37 mm, modelo Isopore™ da Millipore, USA, capaz de reter as partículas maiores que 0,8 µm, instalado na parte inferior do coletor.

Uma válvula de agulha (item 2 na Figura 3) com diâmetro de 1/4", fabricada pela Swagerlok, é colocada entre o coletor de material particulado e a bomba de vácuo, para permitir o ajuste da vazão do ar nos 10 lpm necessários para manter o correto ponto de corte no impactador.

A bomba de vácuo utilizada no equipamento é do tipo diafragma, isento de óleo, fabricada pela GAST modelo DOA101-P101-AA.

Após a bomba de vácuo (item 3 na Figura 3) está instalado um totalizador de vazão de ar (item 4 na Figura 3), modelo G-1 fabricado pelo Liceu de Artes e Ofícios, que registra o volume de ar que está sendo amostrado.

O ajuste na abertura da válvula de agulha é feito pela leitura do indicador de vazão (item 5 na Figura 3), também chamado de rotâmetro, modelo Mini-Master MMA-24 fabricado pela Dwyer, instalado após o totalizador de vazão, de modo a manter o vazão instantânea em 10 lpm.

A ligação entre os componentes descritos é feita com mangueira de borracha e abraçadeiras plásticas.

A pesagem dos filtros é feita antes da coleta, ou na condição limpo, e depois da coleta, ou sujo, seguindo o mesmo procedimento de pesagem.

A identificação do filtro é atribuída durante o procedimento de pesagem, sendo essa identificação registrada no anel porta filtro onde o filtro é fixado. O conjunto filtro – anel porta filtro é, então, acondicionado em uma caixa plástica revestida com alumínio para evitar contaminação durante sua movimentação, armazenagem e manipulação. Antes da pesagem final o filtro é retirado do anel porta filtro. Após essa pesagem o filtro é acondicionado

em uma caixa de plástico onde a identificação do filtro é registrada, e mantido em geladeira para futura análise que se faça necessária.

Para a pesagem os filtros são previamente mantidos em uma sala limpa onde a temperatura é mantida entre 24°C e 25°C e a umidade relativa do ar entre 35% e 40%, pelo período de 48 h, para evitar que diferenças de umidade afetem a pesagem. Imediatamente antes da pesagem é feita a eliminação de energia estática porventura acumulada no filtro, utilizando para isso fonte radioativa de polônio. A pesagem é, então, feita em uma balança microanalítica fabricada pela Mettler Toledo, com sensibilidade para 0,000001 g, instalada em mesa anti-vibratória, para evitar interferência no processo de pesagem, pertencente ao Instituto de Física da USP.

Toda a manipulação do filtro é feita com pinça, para evitar que o contato físico do operador contamine o material. As pesagens são realizadas no Instituto de Física da USP. É feito o registro da identificação do filtro e os valores do dia e da pesagem em livro de registro, que é posteriormente digitado na planilha eletrônica desenvolvida no aplicativo computacional MS Excel, conforme mostrado na Figura 4. A concentração média diária de MP_{2,5} obtida nesse processamento será digitada na planilha eletrônica, do mesmo aplicativo, contendo os registros de cada filtro.

Id	pesagem inicial			pesagem final			Depo- sição	Validação	
	data	peso (mg)	notas	data	peso (mg)	notas		S/N	Comentário
cl2 404	5-dez-06	18,12		15-fev-07	18,145		0,025	S	CL
ext 403	5-dez-06	18,152		15-fev-07	18,452		0,300	S	EXT
cl2 408	5-dez-06	17,903		15-fev-07	17,945		0,042	S	CL
ext 407	5-dez-06	18,32		15-fev-07	18,518		0,198	S	EXT
cl2 412	5-dez-06	18,313		15-fev-07	17,878		-0,435	N	CL
ext 411	5-dez-06	17,859		15-fev-07	18,463		0,604	S	EXT
cl2 416	5-dez-06	17,966		15-fev-07	18,263		0,297	S	CL
ext 415	5-dez-06	17,841		15-fev-07	18,455		0,614	S	EXT
cl2 419	5-dez-06	18,363		15-fev-07	18,385		0,022	S	CL
ext 420	5-dez-06	18,213		15-fev-07	18,536		0,323	S	EXT

Figura 4 - Imagem da planilha para registro das pesagens dos filtros utilizados na amostragem de MP_{2,5} desenvolvidas no aplicativo MS-Excel

A substituição do filtro no coletor de MP_{2,5} é feita diariamente, na parte da tarde. Antes da troca registra-se na planilha de campo, mostrada na Figura 5, para o filtro instalado a data, hora, a vazão instantânea de ar no rotâmetro e o volume de ar amostrado indicado no totalizador de vazão. Após a digitação dos dados da planilha de campo na planilha de cálculo, mostrada na Figura 6, são feitos os cálculos da concentração média diária do material particulado na fração 2,5 μm para cada filtro.

FOLHA DE CAMPO MATERIAL PARTICULADO COLETOR 10 lpm
DADOS DO PROJETO										
Projeto:	Exposição para calibração da CTA			LPAE:						
Interessado:	Paulo Afonso de André			Interes.:						
Local Coleta:	Câmaras - FMUSP									
Situação em estudo:										
Responsável LPAE:			Responsável Coleta:							
Responsável Projeto:			Responsável Coleta:							
DADOS DO EQUIPAMENTO										
☐ PM _{2,5}	☐ PM ₁₀	BOMBA DE VÁCUO:		0						
MEDIDOR DE VAZÃO (FI):		0		CORPO DO COLETOR:						
TOTALIZADOR VAZÃO (FIT):		0		CORPO DO IMPACTADOR:						
DADOS DO EXPERIMENTO										
#	FILTRO ID#	INICIO				FIM				NOTAS (número)
		DIA dd/mm/aa	HORA hh:mm	FI lpm	FIT m3	DIA dd/mm/aa	HORA hh:mm	FI lpm	FIT m3	
01										
02										
03										
04										
05										
06										
NOTAS (ocorrências)										

Figura 5 - Imagem da planilha de campo para registro da exposição de filtros coletores de MP_{2,5}

Então a bomba de vácuo é desligada. Abre-se o corpo do coletor de material particulado, retira-se o conjunto filtro-anel porta filtro exposto e coloca-se o novo conjunto a ser exposto. O conjunto filtro-anel porta filtro retirado do coletor de material particulado, é colocado na caixa plástica revestida de alumínio e conduzida para o laboratório.

TIPO	FILTRO ID	CAM PA NHA	INICIO				FIM				VOLUME AR (m ³)			PESO (μg)			CONCEN TRAÇÃO (μg/m ³)
			DIA dd/mm/aa	HORA hh:mm	FI lpm	FIT m3	DIA dd/mm/aa	HORA hh:mm	FI lpm	FIT m3	FIT	FI	VÁLIDO	LIMPO	SUJO	DIF	
PM2,5	cl2 398	1	7-dez-06	15:00	10,0	132,029	8-dez-06	15:25	10,0	146,835	14,81	14,65	14,81	18.246	18.440	194	13
PM2,5	ext 400	2	7-dez-06	15:00	10,0	3309,822	8-dez-06	15:25	10,0	3324,458	14,64	14,65	14,64	18.136	18.332	196	13
PM2,5	cl2 67a	1	8-dez-06	15:50	10,0	146,836	11-dez-06	14:42	10,0	187,673	40,84	42,52	40,84	18.297	18.425	128	3
PM2,5	ext 66a	2	8-dez-06	15:50	10,0	3324,463	11-dez-06	14:42	10,0	3363,426	38,96	42,52	38,96	18.346	18.991	645	17
PM2,5	cl2 71a	1	11-dez-06	16:01	10,0	187,68	12-dez-06	16:07	10,0	202,93	15,25	14,46	15,25	18.045	18.124	79	5
PM2,5	ext 70a	2	11-dez-06	16:01	10,0	3363,43	12-dez-06	16:07	10,0	3379,283	15,85	14,46	15,85	18.050	18.213	163	10
PM2,5	cl2 75a	1	12-dez-06	14:23	10,0	202,933	14-dez-06	14:48	10,0	230,862	27,93	29,05	27,93	18.490	18.621	131	4,7
PM2,5	ext 74a	2	12-dez-06	14:23	10,0	3379,287	14-dez-06	14:48	10,0	3406,902	27,62	29,05	27,62	18.241	18.638	397	14
PM2,5	cl2 79a	1	14-dez-06	15:00	10,0	230,862	15-dez-06	16:04	10,0	245,671	14,81	15,04	14,81	18.397	18.496	99	7

Figura 6 - Imagem da planilha para registro das amostragens e cálculo da concentração de MP2,5 desenvolvidas no aplicativo MS-Excel

A bomba de vácuo é novamente ligada e o rotâmetro é ajustado na vazão de 10 lpm, operando-se a válvula de agulha. Na planilha de exposição é registrada a identificação do novo filtro, data e hora de sua colocação, confirmada a vazão do rotâmetro e anotada qualquer anomalia observada (excesso de chuva, queda no fornecimento de energia elétrica, danos ao equipamento, etc...).

3.3.2 Monitoramento ambiental

As variáveis ambientais de interesse são: temperatura máxima e mínima, umidade relativa do ar máxima e mínima, índice pluviométrico, pressão atmosférica média e a concentração média de material particulado na fração inalável, MP10, todos em bases diárias.

A concentração média de MP10 é obtida na CETESB, companhia estadual responsável pelo monitoramento ambiental de São Paulo, considerando o monitoramento realizado na estação instalada na Faculdade de Saúde Pública da USP, que está a uma distância de aproximadamente 200 m da CTA. Quando da falta de algum dado diário, adotou-se o valor obtido na estação instalada do Parque Dom Pedro, cujo comportamento é aproximadamente equivalente em termos de média anual (CETESB, 2006), não muito distante e também instalada próxima a vias de tráfego intenso.

As variáveis atmosféricas são obtidas na estação meteorológica do Instituto de Astronomia Geofísica e Ciências Atmosféricas – IAG, da Universidade de São Paulo, instalada no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, antigo Parque do Estado, localizado no bairro da Água Funda, na cidade de São Paulo. Como esses dados são registrados a cada 30 min, é feita sua transformação para bases diárias da seguinte forma:

- temperatura máxima: o máximo valor registrado no dia;
- temperatura mínima: o mínimo valor registrado no dia;
- umidade relativa máxima: o máximo valor registrado no dia;
- umidade relativa mínima: o mínima valor registrado no dia;
- pressão atmosférica média: a média dos valores registrados no dia;
- índice pluviométrico: a soma dos valores registrados no dia.

As informações assim obtidas são registradas na planilha que será submetida a análise estatística dos dados. Essa planilha eletrônica também é elaborada no aplicativo computacional MS Excel.

3.4 Análise do material acumulado em folhas

Plantas colocadas em cada um dos ambientes de interesse, isto é, dentro da CTA com sistema de condicionamento de ar, e no ambiente exterior, são analisadas considerando sua capacidade de bioacumulação dos poluentes presentes em cada um desses ambientes, seguindo o protocolo abaixo detalhado.

3.4.1 Coleta e preparação da amostra

A coleta e preparação das amostras vegetais de bioacumulação que serão submetidas a análise por fluorescência de raio-X, constitui etapa crítica quanto aos cuidados para evitar qualquer contaminação da amostra, importante viés no processo analítico (Wagner, 1995).

Desse modo, as folhas são coletadas sem auxílio de qualquer ferramenta, e guardadas em sacos de polietileno, com fecho hermético tipo “zip-lock”, permitindo que, a curto prazo, o material seja conservado em geladeira.

Uma vez no laboratório, procede-se à limpeza para a retirada de qualquer material que esteja depositado sobre a superfície da folha. Apesar da literatura (Markert, 1995) sugerir que a limpeza possa ser feita por diversas técnicas (enérgica agitação da folha, aplicação de ar comprimido, escovação, lavagem com água deionizada ou solventes, com posterior enxugamento), a prática da lavagem com água deionizada, seguida de um delicado enxugamento com papel absorvente, sem esfregação, será aqui

adotada. Após essa limpeza, as folhas são colocadas em bandejas de aço inoxidável e levadas para uma estufa, mantida a uma temperatura de 50°C pelo período necessário para sua completa desidratação. Esse processo garante a preservação do material ao evitar a decomposição por microorganismos (Markert, 1975)

Uma vez desidratado, o material é transformado em um pó fino e homogêneo, obtido por trituração da amostra seca em um almofariz de ágata, previamente limpo, reduzindo assim a possibilidade de contaminação provocada pelo uso de triturador ou moinho de aço, ou a perda de elementos voláteis nos processos por aquecimento (Sumita, 2002, Zeisler et al., 1993, Thompson et al., 1970).

Cerca de 0,5 a 0,6 g do pó obtido é colocado em um cilindro com 20 mm de diâmetro, ao qual se adiciona 1 g de ácido bórico (H_3BO_3 pa). O cilindro é então, prensado por 60 s com carga equivalente a 1 t (20 mPa), para formar uma pastilha de camada dupla (ácido bórico e pó seco da amostra), que será analisada no equipamento de Fluorescência de raio-X.

3.4.2 Análise por Fluorescência de Raio-X

A técnica analítica instrumental de fluorescência de raios-X, FRX, tem sido utilizada na avaliação quali-quantitativa da composição química em vários tipos de amostras, de interesse agropecuário, agroindustrial, geológico e ambiental.

Esta técnica é de grande importância na análise multi-elementar em amostras oriundas de sistemas biológicos, pois pode determinar tanto macro elementos como Cálcio-Ca e Potássio-K, como elementos traços, como Cobre-Cu e Chumbo-Pb, ou também de elementos não-metals como Enxofre-S (Richardson et al.,1995).

Outra característica de relevante importância é que esta é uma técnica não-destrutiva, assim, a amostra depois de analisada pode ser arquivada para futuras análises, tornando este método ideal para análises periódicas de estudos de monitoramento de atividades industriais (Richardson,1992).

Entre as vantagens da utilização da técnica de FRX para análise química de elementos pode-se citar: a sua adaptabilidade para automação, limite de detectabilidade dentro do exigido por muitas amostras biológicas, preparação rápida e simplificada da amostra e análise multi-elementar, muito importante devido a interdependência entre micronutrientes nos sistemas biológicos. Assim é uma técnica utilizada onde há necessidade de se correlacionar os elementos essenciais e tóxicos de uma amostra.

Até 1966 a técnica de FRX era realizada unicamente por espectrômetros por dispersão por comprimento de onda (WD-XRF, wavelength dispersive X-ray fluorescence) entre o cristal difrator e o detector. Com o desenvolvimento do detector semicondutor Si(Li), capaz de discriminar raios-X de energias próximas, foi possível o surgimento da fluorescência de raios-X por dispersão de energia (ED-XRF, energy dispersive X-ray fluorescence), também conhecida como fluorescência de

raios-X não dispersiva, com instrumentação menos dispendiosa e emprego mais prático (Bertin, 2001).

Em princípio, quando um elemento de uma amostra é excitado com raios-X emitidos por tubos de raios-X, ou raios-X ou gama emitido por uma fonte radioativa, esse elemento tende a ejetar os elétrons do interior dos níveis dos átomos, e como consequência disto, elétrons dos níveis mais afastados realizam um salto quântico para preencher a vacância. Cada transição eletrônica constitui uma perda de energia para o elétron, e esta energia é emitida na forma de um fóton de raios-X, de energia característica e bem definida para cada elemento.

Assim, na análise de FRX tem-se três fases:

- excitação dos elementos que constituem a amostra,
- dispersão dos raios-X característicos emitidos pela amostra,
- detecção desses raios.

Desse modo ao se considerar as intensidades (número de raios-X detectados por unidade de tempo) dos raios-X característicos emitidos pela amostra (IAEA, 1970), obtemos linhas espectrais com energias características de cada elemento, onde a intensidade está relacionada à concentração do elemento na amostra. A concentração de cada elemento é, normalmente, expressa em termos de massa desse elemento dividido pela massa total da amostra, sendo habitualmente expressa em % ou em mg/g.

A análise por FRX é feita em cada uma das pastilhas com o material coletado, cuja preparação está detalhada no item anterior.

O aparelho modelo EDX-700HS fabricado pela Shimadzu, utiliza um tubo gerador de raios-X de ródio (Rh- target tube), trabalhando com voltagem de 5 a 50 KV e corrente de 1 a 1000 A, utilizando um detector de raios-X de Si(Li). Para aumentar a sensibilidade de detecção da energia dispersada, as análises são feitas sob vácuo, com colimador para área de 10 mm do diâmetro das amostras.

As amostras vegetais são submetidas a dois tipos de análise nesse equipamento: em uma primeira etapa realiza-se uma análise qualitativa semi-quantitativa, também denominada quali-quantitativa, para os elementos de sódio (Na) a Urânio (U), na forma de metais. O espectro resultante é analisado em uma segunda etapa, para obter-se o resultado quantitativo dos elementos K, Ca, Cl, Mg, Si, S, Al, Fe, P, Sr, Br, Ti, Cu, Zn, Ni, Cr, V e Co.

Assim, obtém-se a média percentual do peso de cada elemento químico na área submetida a análise daquele filtro.

Os resultados obtidos para cada pastilha são registrados em uma planilha eletrônica do aplicativo computacional MS Excel, que será analisada segundo detalhado no capítulo de análise estatística.

O equipamento de Fluorescência de raio-X pertencente ao LPAE, Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP, está instalado no Instituto de Astronomia Geofísica e Ciências Atmosféricas da USP – IAG, no laboratório de análises conjunto dessas instituições.

3.5 Análise de mutação em inflorescência

O teste de micronúcleos em plantas tem sido cada vez mais utilizado devido à sua alta sensibilidade (Rodrigues et al., 1997). A partir de 1950 disseminou-se como protocolo para bioindicador de agentes mutagênicos, sendo posteriormente padronizado como bioensaio de micronúcleo (Ma, 1994), Trad-MCN. A presença de micronúcleos é visualizada na tétrade jovem, que corresponde à telófase da célula-mãe do grão de pólen.

Micronúcleos são pequenas porções do DNA nuclear, expulsas para o citoplasma, devido à ação de um agente mutagênico sobre as células reprodutivas da planta durante a meiose.

A absorção do agente poluente se dá pelo sistema vascular que chega até às anteras das diversas flores existentes, provocando quebra cromossômica e conseqüente tentativa de reparo enzimático do DNA. Hastes com inflorescências das espécies selecionadas são assim expostas às substâncias existentes e em suspensão na atmosfera em análise.

Após a exposição, entre 15 e 20 inflorescências devem ser colhidas e mantidas em uma solução de etanol e ácido acético na proporção de 3:1, para sua conservação, pelo período mínimo de 48 h.

Cada inflorescência deve ser colocada sobre uma lâmina de vidro para permitir a retirada das anteras, onde a tétrade jovem se desenvolve. O material deve ser macerado com um estilete histológico de ponta fina aplicando-se uma gota de corante Carmin.

Limpam-se os “debris”, e coloca-se sobre o material uma lamínula. Aplica-se calor pelo uso de uma chama de espiriteira, não deixando a temperatura exceder um leve aquecimento do material, permitindo assim obter uma fácil visualização das tétrades com o citoplasma rosado e os núcleos avermelhados. Um leve aperto do material é suficiente para retirar as bolhas e o excesso de corante, além de deixar as tétrades, que são globosas, todas num mesmo plano ótico.

De cada inflorescência se prepara uma lâmina com 300 tétrades. Recomenda-se, no mínimo, 10 inflorescências por ponto de amostragem.

As lâminas assim preparadas serão lidas em microscópio ótico, contando-se as tétrades normais e os micronúcleos. Essas contagens serão transformadas em percentagem de micronúcleos pela quantidade das 300 tétrades lidas, unidade aceita internacionalmente para esse tipo de estudo.

3.6 Análise de aborto em grão de pólen

Bioensaios com plantas além de representar uma opção de rápida resposta para a avaliação da qualidade do ar atmosférico, em exposições in situ ou in vitro, são ainda uma alternativa de baixo custo, não necessitando de equipamentos específicos e tampouco uma grande quantidade de amostras. Agrega ainda baixa complexidade para seus executores por não requerer muita manipulação ou um grande número de amostras (Guimarães et al., 2000, Carvalho-Oliveira et al, 2005).

O teste do índice de abortos em grãos de pólen em plantas possui alta sensibilidade para a determinação da genotoxicidade das partículas atmosféricas uma vez que este teste utiliza células haploides (microesporos) sendo capaz de detectar mutações letais as quais afetam o desenvolvimento dos grãos de pólen (Mičieta, Murin, 1997, Malallah et al., 1997, Mičieta, Kunová, 2000).

As flores são coletadas e armazenadas em frasco contendo uma solução de etanol e ácido acético na proporção de 3:1, garantindo sua adequada conservação até análise em laboratório.

Para a preparação das lâminas, as anteras são removidas e os pólenes retirados com auxílio da ponta do estilete histológico. Uma gota de carmin a 45% é colocada em cima das anteras, extraindo-se os grãos de pólenes que são, então, esmagados com baixa pressão. Após a retirada dos “debris”, o material macerado é recoberto com uma lamínula e os pólenes passam a ser avaliados quanto à forma, tamanho e quantidade em microscópio ótico, com aumento de 400 X.

Para um bom processamento estatístico recomenda-se avaliar, em cada ponto cerca de 3.000 grãos de pólenes, a partir da utilização de, pelo menos, 10 flores diferentes, coletadas na área de estudo, no mesmo ponto de amostragem.

São registradas as contagens do total de grãos de pólenes, dos grãos abortados e dos grãos anormais de pólen, transformados em percentagem em relação ao número total de grãos contados.

3.7 Análise de toxicidade em pêlos estaminais

O protocolo para o teste de mutação de pêlo estaminal de *Tradescantia* (*Tradescantia* Stamen Hair Maturation), denotado Trad-SHM, vem sendo desenvolvido desde o início da década de 60 do século XX, até sua padronização como publicado por Ma e colaboradores em 1994.

Neste protocolo, em resumo, as flores dos clones KU20 e 4430, têm a cor azul devido ao seu gene dominante. A exposição a algum agente tóxico, induz uma mutação somática na expressão da cor, passando as células nos filamentos a apresentar a cor rosa (pink) recessiva.

Utilizando um microscópio, pode ser feita a leitura do número de células rosa e células azuis, o que permite calcular a taxa de ocorrência de mutação (razão entre contagem da ocorrência do rosa pela contagem total de pêlos lidos), expressa em mutações por 1.000 pêlos estaminais.

Por facilidade é feita a média de pêlos nos 2 primeiros estames das 2 primeiras flores lidas, extrapolando o valor para os 6 estames da cada flor.

Recomenda-se coletar as flores pela manhã pois, a partir do meio dia, elas começam a se fechar emaranhando os pêlos estaminais, o que dificulta a leitura. Caso não se realize a imediata leitura após a coleta, pode-se deixar a flor em uma placa de petri com filtro umedecido no fundo, capaz de manter vapor saturado, garantindo a conservação da flor em geladeira por até 1 dia.

Apesar de Ma e colaboradores (1994) recomendar a coleta de 5 a 12 flores para cada grupo por dia, a prática do LPAE é a de coletar, pelo menos 10 flores por ponto de amostragem.

3.8 Protocolo de exposição

Antes do início da exposição dos espécimes vegetais, é feita a troca dos filtros da unidade de filtração, a limpeza e preparação da câmara e da estrutura expositora.

O transporte das jardineiras com as plantas é feito na caçamba de uma perua, diretamente do local de cultivo para o local de exposição, procedendo-se a uma coleta de folhas, flores e inflorescências.

A exposição está prevista para durar até 8 semanas, considerando que os protocolos de acumulação foliar tem utilizado durações de 4 a 8 semanas (Klumpp et.al., 2001), sendo programada coletas semanais de flores e inflorescências, enquanto as coletas de folhas ocorrerão nas semanas 3, 5 e 7. A não realização de coleta de flores e inflorescências na semana 1 atende ao especificado no protocolo de Ma e colaboradores (1994) quanto a defasagem para início de coleta. A adoção de periodicidade semanal também atende ao protocolo, quanto ao tempo de recuperação.

A coleta gravimétrica diária de MP2,5 está programada para ocorrer desde a colocação das plantas, no período da tarde. Em fins de semana ou feriados, por motivos operacionais, as coletas serão feitas por um só filtro, adotando-se a concentração média obtida para todos os dias do período.

3.9 Análise estatística

Os resultados observados de todas as variáveis do estudo foram resumidos por meio da construção de tabelas contendo os valores das estatísticas descritivas: média, desvio padrão, mínimo, mediana e máximo.

Gráficos de caixa (box-plots) e de séries de tempo foram também construídos para auxiliar a visualização dos resultados.

As médias das variáveis biológicas de mutação (em inflorescência, em grão de pólen e em pêlo estaminal) foram comparadas nas duas condições de exposição por meio da técnica de Análise de Variância – ANOVA, equivalente neste caso ao teste t-Student para amostras independentes, sendo as suposições de normalidade e igualdade de variâncias, necessárias à sua aplicação, verificadas através da análise dos resíduos. A variável resposta foi transformada nos casos em que foram detectadas fugas dessas suposições (Neter et al., 1996).

O mesmo procedimento foi adotado para comparar as médias dos elementos presentes nas folhas coletadas nas duas condições de exposição.

Foi efetuada uma análise fatorial (Johnson, Wichern, 1992) considerando alguns elementos de interesse, com o objetivo de construir índices que reflitam a contribuição de diferentes fontes de emissão.

Foi fixado nível de significância de 5% em todos os testes de hipótese.

4 RESULTADOS

4.1 Preparação do sistema

Antes da colocação dos espécimes vegetais, a câmara de topo aberto foi lavada e o piso de concreto limpo. As estruturas de madeira para suportar as jardineiras foram penduradas com cordas nas vigas metálicas de sustentação da iluminação, em dois níveis de altura, de modo a permitir espaço suficiente entre elas para acomodar as plantas, como mostrado na Figura 7 e Figura 8.

O sistema de filtragem de ar recebeu um jogo completo de filtros novos, sendo feito o fechamento e vedação das tampas, ajuste das mangueiras de conexão e aperto das abraçadeiras das mangueiras, como mostrado na Figura 9.

Figura 7 - Detalhe da instalação dos suportes de madeira, com cordas, dentro da Câmara de Topo Aberto, com a colocação das floreiras com plantas

Figura 8 - Vista dos suportes de madeira, com cordas, dentro da Câmara de Topo Aberto, com a colocação das floreiras de plantas

Figura 9 - Vista da colocação dos filtros de ar no sistema de filtragem de ar da Câmara de Topo Aberto

Para os espécimes a serem mantidos no ambiente local sem qualquer pré-condicionamento do ar, estrados de madeira foram colocados 1 m acima do solo, com proteção de sombrite 50% acima e nas laterais do estrado, provendo proteção e restrição ao acesso físico, como indicado na Figura 10.

Nas duas primeiras semanas de exposição, a manutenção da umidade foi feita com o uso de regador, face a problemas na instalação do sistema de gotejamento. Após esse prazo, a operação do sistema de gotejamento foi normal, não sendo necessária qualquer rega manual.

O sistema de iluminação e a fixação da cobertura de plástico da estrutura da câmara de topo aberto foram verificados e testados.

O ventilador foi ligado para verificação de funcionamento do equipamento, da existência de qualquer vazamento de ar nas conexões entre equipamentos e mangueiras, e na operação da válvula de borboleta.

Os dois sistemas de coleta de material particulado foram instalados, um dentro da câmara de topo aberto e outro fora, e testados quanto ao fornecimento de energia elétrica, totalizador e fixação das mangueiras de interligação, como mostrado na Figura 11 para a coleta fora da câmara.

Filtros para a coleta de material particulado foram pesados, seguindo o procedimento estabelecido, com prévia permanência por 48 h em sala com temperatura mantida entre 24 °C e 25 °C, e com umidade relativa do ar entre 35% e 40%, pela verificação diária de termo-higrômetro digital. Após a pesagem cada filtro foi colocado em um anel porta-filtro, onde foi anotado uma identificação padronizada única. Na planilha de cálculo de concentração foi colocada a mesma identificação do filtro, data de pesagem e valor obtido

na média de 3 pesagens consecutivas. O porta-filtro foi colocado dentro de um saco de plástico tipo zip-lock, para evitar qualquer contaminação, e dentro de uma caixa com divisórias com tampa, deixando todo o material pronto para utilização em campo.

Figura 10 - Detalhe dos estrados com proteção de sombrite 50%, com a colocação das floreiras com os espécimes vegetais

Figura 11 - Sistema de coleta de material particulado instalado para o monitoramento da concentração de MP_{2,5} no ambiente externo à Câmara de Topo Aberto

4.2 Início da campanha de exposição

Após a preparação dos equipamentos, uma pick-up foi até o local de cultivo das plantas para carregar e transportar todas as floreiras com os espécimes vegetais preparados para o experimento. As floreiras foram identificadas com estacas plásticas, conforme a sua utilização no experimento:

- 7 floreiras com *Tradescantia pallida*, registradas como suja;
- 7 floreiras com *Tradescantia pallida*, registradas como limpa;
- 7 floreiras com *Tradescantia* clone 4430, registradas como suja;
- 7 floreiras com *Tradescantia* clone 4430, registradas como limpa;
- 7 floreiras com *Tradescantia* clone KU20, registradas como suja;
- 7 floreiras com *Tradescantia* clone KU20, registradas como limpa.

As floreiras chegaram ao local de exposição, nos jardins da Faculdade de Medicina da USP, próximo a rua Teodoro Sampaio com Avenida Dr. Arnaldo, no dia 07 de dezembro de 2006. As floreiras identificadas com “limpa” foram instaladas nos suportes da câmara de topo aberta, enquanto as identificadas com “suja” no estrado de madeira com a proteção de sombrite, permanecendo nesses locais até o dia 05 de fevereiro de 2007.

4.3 Monitoramento ambiental

Foram feitas coletas diárias de material particulado dentro da Câmara de Topo Aberto, local das plantas expostas ao ar filtrado, e no ambiente externo onde foram colocadas as plantas expostas ao ar não filtrado.

No Anexo A são apresentados os dados obtidos no monitoramento ambiental do material particulado na fração com diâmetro aerodinâmico até 2,5 μm - MP2,5, considerando pesagem e exposição dos filtros, e o cálculo da concentração obtido pelo método.

No Anexo B são apresentados os dados da concentração média diária do material particulado na fração com diâmetro aerodinâmico até 10 μm , MP10, fornecidos pela CETESB (2007a), e os dados diários de temperatura máxima e mínima, e umidade relativa do ar média, originados dos dados obtidos no IAG.

A Tabela 2 apresenta as estatísticas descritivas do monitoramento de material particulado realizado na fração MP2,5, dentro da Câmara de Topo Aberto (Filtrado) e fora dela (Não filtrado), e da fração MP10 obtida da CETESB, além das relações entre a concentração de MP2,5 do ar filtrado e não filtrado, e entre a concentração de MP2,5 não filtrado e MP10.

Tabela 2 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos das concentrações (em $\mu\text{g}/\text{m}^3$) de MP2,5 do ar nas condições Filtrado e Não filtrado, MP10 e relações entre concentração de MP2,5 filtrado e não filtrado, e MP2,5 não filtrado e MP10

Variável	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
MP2,5 - Filtrado	57	3,81	3,59	0,40	2,90	19,40
MP2,5 – Não filtrado	47	15,99	5,41	6,20	15,10	31,80
MP10	58	28,62	11,43	10,00	28,00	66,00
razão Filtrado/Não filtrado	47	0,25	0,22	0,05	0,19	1,06
razão Não filtrado/MP10	47	0,53	0,16	0,22	0,55	0,99

Na Figura 12 é apresentada a série histórica das concentrações médias diárias de MP2,5 nas condições Filtrado e Não filtrado, e MP10 no período do experimento.

Na Figura 13 o gráfico de caixas da concentração média diária na fração MP2,5 nas condições Filtrado e Não filtrado,

Como pode ser observado na Tabela 2, a redução média obtida no sistema de filtragem da câmara de topo aberto foi de 75% na concentração de MP2,5 com mediana de 81%. A relação média entre a concentração de MP2,5 e MP10 foi de 53%. Já na Figura 12 observa-se que os picos de concentração de MP2,5 na condição Filtrado não correspondem a picos das concentrações de MP2,5 na condição Não filtrado ou de MP10.

A Tabela 3 apresenta as estatísticas descritivas dos valores diários de temperatura, umidade relativa do ar, índice pluviométrico e pressão atmosférica durante o período do experimento. Nas Figura 14 e Figura 15 estão representadas as medidas diárias dessas variáveis no período do experimento.

Figura 12 - Concentrações médias diárias de MP2,5 do ar Filtrado (PM2,5_F), Não filtrado (PM2,5_NF) e de MP10 (PM10), no período de 07.dez.06 a 05.fev.07, em $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Figura 13 - Gráficos de caixas da concentração média diária na fração MP2,5 nas condições Filtrado e Não filtrado, no período de 07.dez.06 a 05.fev.07, em $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Figura 14 - Série das Temperaturas máxima e mínima ($^{\circ}\text{C}$), e das Umidades Relativas máxima e mínima (%), diárias no período de 07.dez.06 a 05.fev.07, obtidas a partir dos dados da estação meteorológica do IAG/USP

Figura 15 - Série do Índice pluviométrico (mmCA) e Pressão Atmosférica (hPa), diários no período de 07.dez.06 a 05.fev.07, obtidas a partir dos dados da estação meteorológica do IAG/USP

Tabela 3 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos das temperaturas mínima e máxima, da umidade relativa do ar mínima e máxima, do índice pluviométrico e da pressão atmosférica, diárias, no período de exposição

Variável	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
Temperatura máxima (°C)	61	28,3	2,7	22,2	28,6	34,4
Temperatura mínima (°C)	61	20,4	1,2	17,3	20,6	22,7
Umidade Relativa máxima (%)	61	86	3,5	76	87	91
Umidade Relativa mínima (%)	61	58	10,7	28	57	85
Pressão Atmosférica (hPa)	61	932,6	2,0	926,8	932,7	937,1
Índice Pluviométrico (mmCA)	61	3,6	5,5	0	0,6	18,6

Na Figura 15 observa-se que o índice pluviométrico está distribuído ao longo do período do experimento com vários dias sem chuvas. Em 26 dias não houve qualquer precipitação. Como a mediana do índice pluviométrico é de 0,6 mm, podemos dizer que em mais de 50% dos dias do experimento, esse índice não superou 1 mm por dia.

As séries de precipitação feitas pelo INMET - Instituto Nacional de Meteorologia (entre 1961 e 1990) no Mirante de Santana e pelo IAG no Parque do Estado (entre 1933 e 2000) e na Plataforma Micrometeorológica (entre 2000 e 2006) (IAG, 2007), permitem estimar uma precipitação média diária de 6,7 mmCA para o período de dezembro e janeiro. O valor da média diária de 3,6 mmCA indicado na Tabela 3, está 46% abaixo dessa média histórica.

Para a umidade relativa do ar mínima diária observa-se na Tabela 3 mediana de 58% e 11 registros de mínimas diárias abaixo dos 50% indicando um período de ar seco.

Entretanto, mesmo com chuvas abaixo do esperado pelos registros históricos, e a baixa umidade, as concentrações de material particulado registradas para a fração inalável, MP10, ultrapassaram o valor de $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ apenas 2 vezes no período, com mediana de $28 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

A CETESB (2007b) classifica o padrão de qualidade do ar a partir da concentração média diária de MP10:

- boa qualidade do ar: concentrações médias até $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$
- qualidade do ar regular: concentrações médias de 51 a $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$

Por esse critério o padrão de qualidade do ar durante o experimento pode ser classificado como bom em 58 dias e regular em apenas 2 dias, com o máximo valor de $66 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Desse modo podemos considerar que a qualidade do ar no período do experimento foi boa.

4.4 Material acumulado em folhas

Foram feitas coletas de folhas dos espécimes vegetais, após 20 dias, 36 dias e 60 dias do início da exposição, colocados na câmara de topo aberto e no estrado ao ambiente, seguindo o protocolo de coleta e análise laboratorial, cujos resultados são apresentados no Anexo C.

Para a análise estatística foram selecionados apenas elementos cuja presença está ligada a uma fonte mais específica, segundo classificação em Seinfeld e Pandis (1997):

- solo: Silício e Titânio;
- combustão/queima: Enxofre, Vanádio
- solo e combustão: Ferro.

Na Tabela 4 são apresentadas as estatísticas descritivas do percentual da quantidade dos elementos químicos acima relacionados quantificadas na análise por fluorescência de raio x.

Tabela 4 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos da % em peso dos elementos químicos identificados por FRX das folhas colhidas nas condições Filtrado e Não filtrado

Elemento	Condição	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
Silício	Filtrado	9	0,462	0,206	0,199	0,363	0,741
	Não filtrado	9	0,462	0,250	0,158	0,485	0,775
Enxofre	Filtrado	9	0,365	0,148	0,203	0,395	0,571
	Não filtrado	9	0,280	0,085	0,194	0,246	0,429
Ferro	Filtrado	9	0,020	0,010	0,004	0,020	0,039
	Não filtrado	9	0,034	0,019	0,010	0,034	0,063
Titânio	Filtrado	9	0,003	0,002	0,000	0,004	0,005
	Não filtrado	9	0,005	0,002	0,001	0,004	0,008
Vanádio	Filtrado	9	0,001	0,001	0,000	0,001	0,003
	Não filtrado	9	0,002	0,001	0,000	0,001	0,004

O teste t de Student foi aplicado a cada um desses elementos para verificar a significância da diferença entre as condições consideradas. Obteve-se que a média do elemento Titânio é diferente ($p=0,049$) entre as condições Filtrado e Não Filtrado. Para a média do elemento Ferro também se detectou uma diferença entre as condições de exposição, porém, com uma significância marginal ($p=0,073$). Para a média dos demais elementos não se encontrou diferença entre as condições de exposição ($p > 0,10$).

Foi realizada uma análise fatorial considerando os mesmos elementos, com o objetivo de compreender a operação da CTA em relação às diferentes fontes de emissão. As cargas fatoriais rotacionadas e comunalidades obtidas com a fixação de 2 fatores são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Cargas fatoriais, comunalidades e % de variância explicada obtidas na análise fatorial das variáveis Silício, Enxofre, Ferro, Titânio e Vanádio

Variável	Carga		Comunalidade
	Fator1	Fator2	
Silício	0,85	0,04	0,72
Enxofre	-0,72	0,18	0,55
Ferro	0,76	0,52	0,85
Titânio	0,26	0,87	0,83
Vanádio	-0,35	0,80	0,76
%Variância explicada	0,40	0,34	0,74

O fator 1 compara as concentrações de Silício e Titânio (solo) com as de Vanádio e Enxofre (combustível) e Ferro (misto). O fator 2 pode ser interpretado como uma média ponderada dos 5 elementos, na qual o Silício e Enxofre têm peso inferior aos outros três elementos, ou seja, o fator 2 é dominado por Ferro, Titânio e Vanádio.

Na Tabela 6 são apresentadas estatísticas descritivas dos escores fatoriais nas duas condições de exposição.

Tabela 6 - Estatísticas descritivas dos escores fatoriais nas duas condições de exposição

Fator	Condição	N	Média	SD	Mínimo	Mediana	Máximo
F1	Filtrado	9	-0,29	0,89	-1,53	-0,67	1,33
	Não filtrado	9	0,29	1,07	-0,99	-0,01	1,90
F2	Filtrado	9	-0,34	1,00	-1,54	-0,52	1,19
	Não filtrado	9	0,34	0,95	-1,01	0,22	1,69

Notamos que a média dos escores correspondentes ao primeiro fator na condição não filtrado é superior à obtida na condição filtrado. Assim, temos que as concentrações dos elementos de solo são superiores às de queima de combustível na exposição Não filtrado. Também a média observada dos escores do fator 2 na condição não filtrado é superior à da condição filtrado, indicando concentrações inferiores de Ferro, Titânio e Vanádio nesta última condição.

4.5 Mutação em inflorescência

Foram feitas coletas de flores jovens, chamadas de inflorescências, em todas as espécimes vegetais do experimento, nas seguintes semanas após início da exposição ambiental: 2^a, 3^a, 5^a e 6^a semanas.

Com base nas leituras das lâminas produzidas dessas coletas foram elaboradas as estatísticas descritivas das porcentagens de micronúcleos (MCN), apresentadas na Tabela 7, por local de coleta, isto é, dentro da Câmara de Topo Aberto (Filtrado) ou externo (Não filtrado).

Tabela 7 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos da % de MCN observados nas condições Filtrado e Não filtrado

Condição	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
Filtrado	16	1,87	1,09	0,0	1,9	4,3
Não filtrado	13	4,64	3,35	1,0	3,2	13,6

Observa-se na Tabela 7 que na condição Não filtrado foram obtidos valores médios, mínimos e máximos superiores aos da condição Filtrado. O mesmo ocorreu com a variabilidade em cada condição.

Com a colocação simultânea de três espécimes vegetais na Câmara de Topo Aberto, apesar da quantidade total de lâminas de inflorescências preparadas superar a quantidade mínima de 5 lâminas recomendadas por Ma (1981) para cada exposição, a quantidade de lâminas obtidas para cada espécime-situação de exposição-período de coleta ficou abaixo dessa recomendação.

Desse modo optou-se por aglutinar todas as lâminas preparadas apenas considerando a situação de exposição, eliminando a categorização por espécimes e período de coleta. Essa aglutinação se justifica pelo fato de ambos clones terem comportamento biológico equivalente (Ishikawa, 1984, 1992, Ferreira et al., 2007) conforme literatura e também equivalente entre a *Tradescantia pallida* para o clone 4430 (Suyama et al., 2002).

Assim, a Figura 16, apresenta os gráficos de caixas (*box-plots*) das porcentagens de micronúcleos nas condições Filtrado e Não filtrado.

Figura 16 - Gráficos de caixas do total da % de micronúcleos (MN) nas condições Filtrado e Não filtrado

Fica mais visível na Figura 16 do que na Tabela 7 a posição relativa das porcentagens de micronúcleos, sendo a ocorrência da variável

resposta visivelmente mais alto na condição Não filtrado do que na condição Filtrado. Também confirma-se uma variabilidade maior na situação Não filtrado.

Considerando a transformação raiz quadrada da % de micronúcleos em inflorescências, foi detectada diferença entre as médias ($p=0,002$), sendo a média na condição Não Filtrado maior do que na condição Filtrado.

Foi também realizada uma análise de sensibilidade, procurando verificar a consistência dos resultados da análise inferencial, sendo efetuadas análises de variância incluindo a semana de coleta, com e sem os valores apontados como aberrantes na análise dos resíduos. A significancia estatística da condição Filtrado e Não filtrado foi confirmada em todas as análises.

4.6 Mutação em grão de pólen

Foram feitas coletas de flores para a análise de mutação em grão de pólen, para as *Tradescantia* clone 4430 e KU20, nas seguintes semanas após início da exposição ambiental: 2^a, 3^a, 5^a, 6^a e 7^a semanas.

Também aqui o número de flores coletadas de cada espécime em cada semana produziu um número reduzido de lâminas. Assim, pelo mesmo critério adotado no item anterior, foi considerada apenas a classificação das lâminas conforme a situação de exposição: Filtrado e Não filtrado.

Na Tabela 8 são apresentadas as estatísticas descritivas das porcentagens de aborto em grão de pólen classificadas por condição de exposição, isto é, Filtrado ou Não filtrado.

Tabela 8 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos da % de aborto de grão de pólen, nas condições Filtrado e Não filtrado

Condição	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
Filtrado	12	1,88	0,67	0,7	2,0	2,6
Não filtrado	16	2,94	1,58	0,8	2,5	6,6

Como pode ser observado na Tabela 8 os valores médios, mínimos e máximos são maiores na condição Não filtrado. O mesmo comportamento ocorre com o valor da variabilidade.

Na Figura 17 são apresentados os gráficos de caixas das porcentagens de aborto em grão de pólen em cada condição experimental.

Fica visível nessa figura que a ocorrência de abortos é maior na condição Não filtrado que na Filtrado. O comportamento da variabilidade, observado a partir da Tabela 8 fica mais evidente na Figura 17.

Feita a transformação raiz quadrada da % de abortos em grão de pólen, foi detectada diferença entre as médias ($p=0,041$), sendo a média na condição Não Filtrado maior do que na condição Filtrado.

A análise de sensibilidade realizada, eliminando os valores discrepantes, confirmou a diferença das médias da variável resposta nas duas condições de exposição.

Figura 17 - Gráficos de caixas do total da % de abortos em grão de pólen nas condições Filtrado e Não filtrado

4.7 Toxicidade em pêlo estaminal

Foram feitas coletas de flores para a análise da toxicidade através da contagem de mutações em pêlo estaminal, para as *Tradescantia* clone 4430 e KU20, da 1ª até a 7ª semanas de exposição ambiental.

Nas coletas semanais não foi possível obter o mínimo de 10 flores, como recomendado por Ma (1994), o que nos levou, como nos casos anteriores, a classificar as flores de ambas as espécies coletadas em cada semana, apenas pela exposição: Filtrado e Não filtrado.

Na Tabela 9 são apresentadas as estatísticas descritivas das contagens de mutações em 1.000 pêlos estaminais classificadas por condição de exposição, Filtrado e Não filtrado.

Tabela 9 - Médias, desvios-padrão (DP), mínimos, medianas e máximos da contagem de mutações em 1.000 pêlos estaminais, nas condições Filtrado e Não filtrado, no total das plantas

Condição	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
Filtrado	13	3,95	3,00	0,0	2,7	9,6
Não filtrado	9	8,50	4,05	3,9	8,0	16,8

Os valores apresentados na Tabela 9 indicam que a média, mínimo e máximo da contagem de mutações em 1.000 pêlos estaminais é maior na condição Não filtrado do que na condição Filtrado.

Na Figura 18 são apresentados os gráficos de caixas da contagem de mutações em 1.000 pêlos estaminais, em cada condição experimental.

Na observação dos resultados expressos na tabela e figura acima, chama a atenção a diferença entre média e mediana na condição Filtrado, com a média 47% maior que a mediana, enquanto na condição Não filtrado, 50% dos valores centrais tem uma distribuição mais equilibrada.

Foi detectada diferença entre as médias da contagem de mutações em 1.000 pêlos estaminais ($p=0,007$), sendo a média na condição Não Filtrado maior do que na condição Filtrado.

Figura 18 - Gráficos de caixas do total da contagem de mutações em 1.000 pêlos estaminais nas condições Filtrado e Não filtrado

4.8 Vitalidade dos espécimes vegetais

Ao término do experimento procedeu-se a uma avaliação do estado geral de cada espécime vegetal, com o intuito de verificar qualquer impacto que possa ter sofrido durante o experimento.

A avaliação considerou apenas o aspecto visual qualitativo de cada planta, não tendo sido feita qualquer coleta ou análise de material.

A *Tradescantia pallida* manteve, durante todo o experimento, o mesmo viço, não tendo sido detectado a perda de nenhum espécime nas floreiras instaladas, tanto na CTA quanto no estrado de madeira. As

plantas continuavam a produzir flores e ocupavam toda a área das floreiras.

A *Tradescantia* clone 4430, praticamente desapareceu da maioria das floreiras, restando menos de 30% dos exemplares que iniciaram o experimento. Também foi o espécime que menos produziu amostras durante as coletas de flores e inflorescências.

A *Tradescantia* clone KU20 também apresentou perda de plantas mas menor que a do clone 4430. Também apresentou prejuízo em sua aparência. Algumas das floreiras mais distantes da fonte de luz tiveram uma visível perda da vitalidade, maior que aquelas mais próximas das lâmpadas instaladas na CTA.

5 DISCUSSÃO

Antes de fazer as considerações específicas ao tema abordado neste trabalho, é importante fazer um questionamento inicial: o quê um engenheiro tem a ver com experimentos toxicológicos da área ambiental?

Apesar de bastante natural e até esperado, a resposta a esse questionamento remonta às origens do próprio LPAE – Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental, idealizado e inicialmente capitaneado pelo Prof.Dr.György Böhm. No final da década de 70, sob o impacto da crise do petróleo, o Brasil iniciou o primeiro grande programa de combustível alternativo e renovável, o Pró-Álcool.

Àquela época muito pouca importância era dada no país aos impactos ambientais e em saúde que uma intervenção como essa pudesse causar. O LPAE foi o primeiro grupo de pesquisas na área acadêmica a considerar mais seriamente esse desafio, ao estabelecer protocolos de testes toxicológicos, submetendo animais em câmaras de exposição, aos poluentes emitidos durante o funcionamento de motores a gasolina e álcool. Posteriormente, para elucidar os efeitos de longo prazo da exposição no

mundo real, estendeu seus estudos a animais idênticos colocados simultaneamente no centro da cidade de São Paulo e no interior do estado, em área limpa.

Mesmo com os importantes estudos e publicações gerados, a questão do mundo real e os impactos em saúde levaram, naturalmente, ao envolvimento do LPAE em estudos epidemiológicos, que vêm gerando uma grande massa de conhecimento específico para a Região Metropolitana de São Paulo e também em outras áreas no Brasil, tão necessária para permitir entender os fenômenos envolvidos, quanto para estimar a magnitude dos efeitos em termos populacionais.

Não obstante a todo o conhecimento gerado, o LPAE vem investindo nos últimos 8 anos no desenvolvimento de novas linhas de pesquisa, introduzindo estudos de indicadores de risco biológico de efeitos agudos e crônicos. Nesse sentido, animais e plantas têm sido utilizados quer seja mediante colocação em áreas sob diferentes exposições, em Câmaras de Topo Aberto geradoras de gradiente de exposição e, mais atualmente, investindo na montagem de um concentrador de partículas atmosférica que permitirá gerar doses do ambiente real em altas concentrações.

Não pode ser esquecido ainda os protocolos para identificação de fatores de risco individual, também em desenvolvimento no LPAE, com o monitoramento e obtenção de parâmetros fisiológicos em bases individuais.

Todo esse esforço e desenvolvimento de protocolos, além de contar com médicos e biólogos, vem exigindo a agregação de inúmeras outras competências, seja pela colaboração mais intensa com outras entidades de

pesquisa, mas principalmente pela incorporação de profissionais de outras áreas. Assim, um engenheiro tem hoje a possibilidade de desenvolver equipamentos e sistemas cada vez mais sofisticados e interativos com os experimentos toxicológicos, tornando essa agregação da equipe uma condição necessária ao crescimento do próprio laboratório.

Especificamente para os experimentos aqui descritos, as condições climáticas foram de chuvas menos intensas que o esperado para o período, com temperaturas altas e umidade relativa do ar baixa. Apesar disso, as concentrações de MP_{2,5} medidas pela CETESB podem ser consideradas baixas, com média diária de 28,6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, enquanto a média aritmética anual na estação de Cerqueira César em 2005 ficou próxima aos 37 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (CETESB, 2006).

Pode-se explicar essa concentração abaixo do esperado em função do período do experimento englobar as comemorações de Natal e Fim de Ano, além das férias escolares, quando o trânsito fica bem menos intenso, sabendo que, de acordo com a CETESB (2006), a frota veicular é a maior fonte de material particulado na cidade de São Paulo.

Mesmo com essa menor concentração ambiental, a eficiência do sistema de filtração ficou acima de 75% em termos da concentração de material fino, MP_{2,5}. Já a relação entre as concentrações de material particulado na fração fina e inalável, MP_{2,5} e MP₁₀, ficou em torno de 50%, compatível com experimentos já realizados no LPAE, mas um pouco abaixo de dados estimados pela Organização Mundial de Saúde em sua atualização do *Air Quality Guidelines* para 2005, em preparação para publicação, que

considerou 119 estações de monitoramento de MP_{2,5} operando em 2001 na Europa, e estimou essa relação em regiões urbanas em 65%.

Quanto à exploração da bioacumulação em câmara de topo aberto, não foi possível trabalhar com os resultados separados por tempo de coleta, mas apenas com a soma de todos os resultados obtidos ao longo do tempo.

No enfoque a elementos individuais, apenas a concentração obtida para o Titânio foi significativamente menor para a condição de filtragem do ar. Fica evidente a necessidade de coletar um número maior de amostras para uma análise por elemento.

Foi possível identificar duas fontes emissoras típicas, solo e automotiva. Os cálculos de escores indicam que na condição de ar filtrado são menores a concentração de partículas de solo e a concentração geral dos elementos selecionados.

O bioensaio de mutação em inflorescência foi realizado conforme protocolo, também aglutinando os resultados dos três espécimes vegetais na análise estatística, dado que a quantidade recomendada de lâminas por espécie era menor que a recomendada pela literatura.

Foi encontrada uma diferença significativa entre a % de micronúcleos em inflorescências na condição de Ar Filtrado e Ar Não Filtrado, demonstrando que o gradiente de exposição obtido na CTA, permite identificar potencial tóxico no ambiente urbano com esse desfecho.

Também para o protocolo da mutação em grão de pólen o gradiente na concentração de MP_{2,5} obtido no uso da CTA permitiu identificar uma diferença significativa entre as condições de exposição.

No protocolo de mutação em pêlo estaminal, da mesma forma que nos testes de toxicidade anteriores, foi possível identificar uma diferença significativa entre as condições de exposição.

Lembrando que a concentração do material particulado inalável durante o experimento esteve abaixo dos valores médios registrados em São Paulo na estação Cerqueira César, mais próxima ao local da exposição, a obtenção de efeito tóxico diferenciado com três diferentes protocolos de bioensaio, além do uso de bioacumulação demonstra que a geração de gradiente na concentração de poluentes atmosféricos em ambiente urbano gerado na CTA é uma solução adequada para identificar efeitos em plantas.

A operação conjunta da Câmara de Topo Aberto, para os espécimes expostos na condição filtrado, com a estrutura expositora em madeira, para os espécimes expostos na condição não filtrado, apesar da menor quantidade de chuvas que o esperado para o mês, pode promover uma lavagem das folhas das plantas prejudicando a deposição foliar nas plantas ao ar ambiente, diferentemente dos espécimes na CTA, sugerindo que a utilização simultânea de uma CTA sem o condicionamento do ar seja adotado nesse tipo de estudo, não só para evitar a lavagem das folhas, mas para diminuir qualquer possível viés que a não instalação de iluminação na estrutura de madeira possa ocasionar.

Não foi incorporado ao experimento o sistema de filtragem química e também de monitoramento para gases, para permitir testar seletivamente os possíveis efeitos tóxicos de gases e partículas. Esse desafio deverá ser objeto de posterior desenvolvimento.

A não utilização do sistema de filtragem de gases permite considerar que a concentração dos diversos poluentes no estado gasoso se manteve igual tanto na CTA quanto no ambiente externo. Desse modo, a identificação de efeito atribuível apenas à fração do particulado demonstra a importante toxicidade específica dessa fração.

Ao considerarmos ainda que tanto temperatura quanto umidade desempenham importante papel na adsorção dos semi-voláteis no material particulado (Park et al., 2002), e que durante o experimento identificou-se uma temperatura mais alta e menor umidade relativa do ar, é esperado que a carga de gases adsorvidos no particulado também tenha sido menor, enfatizando a importância da toxicidade obtida no particulado.

Também ao observar a redução de 75% na concentração de MP_{2,5}, mesmo com o uso de filtro tipo HEPA, fica patente a necessidade de investigar as possíveis causas de não ter sido obtida redução maior com o atual sistema de filtragem de ar. Uma investigação do fluxo de ar internamente à CTA e o possível retorno de material particulado pela saída de ar precisa ser realizada.

Sobre os filtros, a maior parte deles chegou ao final do experimento próximo da saturação. O exame interno da caixa do filtro identificou a deposição de poeira e mesmo de pequena quantidade de água, indicando a possibilidade de entradas falsas de ar. Uma melhoria do sistema de vedação de tampas e conexões precisará ser implementada. Também deve ser avaliada a entrada de ar do sistema de filtração, muito próxima ao solo, como possível fonte de entrada de

poeira de resuspensão, como fator adicional para a saturação antecipada dos estágios iniciais de filtração.

Vale ainda observar que o equipamento existente foi construído há mais de 20 anos e submetido a contínuas reformas. O desenvolvimento de um novo projeto e a adoção de uma nova forma construtiva deve ser considerada para incorporar melhorias operacionais ao dispositivo.

No bojo da construção de um novo sistema e nova configuração, a troca do ventilador para outro de maior vazão e capacidade deve ser considerada pois a introdução do filtro HEPA, com um acréscimo na perda de carga, obriga ao descarte antecipado dos filtros para não permitir a redução da taxa de renovação do ar na CTA.

Quanto aos espécimes e exposições para verificação do potencial de mutação em espécimes vegetais, em grãos de pólen, em inflorescências ou em pêlos estaminais, face ao uso simultâneo de 3 diferentes espécimes vegetais, não se conseguiu, para cada espécime individual, a quantidade de coletas ou lâminas preconizado na literatura mas, na soma dos 3 espécimes, essas quantidades foram atendidas, indicando que no uso de apenas um espécime esse enquadramento se dará sem maiores dificuldades. O sistema de apoio das floreiras permite ainda uma expansão com a instalação de, pelo menos, mais uma estrutura em cada lado, capaz de receber mais 6 floreiras cada. Entretanto precisará ser verificado um ajuste dessa última estrutura de modo a permitir ao sistema de iluminação, cobrir também esse último nível de floreiras.

Ainda sobre os espécimes, os clones confirmaram o já colocado em vários estudos, de que não estão adequadamente adaptados às condições ambientais da região tropical, enquanto a *Tradescantia pallida* não demonstrou perda em seu viço ou força. Pelo contrário, sua capacidade de desenvolvimento durante o período do experimento ficou patente em todas as floreiras utilizadas. Em que pese sua não utilização no protocolo de grão de pólen e pêlo estaminal, os demais protocolos demonstram sua aplicabilidade.

Uma melhor compreensão do potencial tóxico da poluição atmosférica por material particulado exige que um maior número de testes de curta duração (utilizando efeitos agudos em plantas) seja realizado, durante diferentes estações do ano, com variações de temperatura e umidade relativa do ar, permitindo incluir essas variáveis na análise do potencial tóxico atribuível ao particulado. Se esses testes forem acompanhados de coletas de material particulado em filtros, passíveis de análise em laboratório, teremos a possibilidade de combinar e explorar a contribuição específica de cada uma dessas variáveis no potencial tóxico da poluição atmosférica.

Essa linha de investigação será uma das conseqüências naturais do presente estudo, quer seja pelo desenvolvimento de novos dispositivos capazes de gerar os gradientes de concentração aqui obtidos para a realização de bioensaios, quer seja reduzindo o tamanho do equipamento, de maneira a privilegiar sua mobilidade, estendendo seu emprego a outras áreas de interesse.

6 CONCLUSÕES

A operação da Câmara de Topo Aberto – CTA – com unidade de filtração de ar para material particulado, instalada nos jardins da Faculdade de Medicina da USP, próximo a vias de tráfego intenso, foi capaz de gerar um ambiente com redução na concentração de material particulado, na fração fina, de 75 %.

As dimensões da câmara, as especificações do ventilador, os componentes da filtração de ar, as características dinâmicas do sistema de exposição e outras características acessórias da Câmara de Topo Aberto estão registradas na presente tese. A estrutura laboratorial, os equipamentos e instrumentos necessários para dar suporte ao monitoramento de material particulado, também estão registrados. Assim, todas as características construtivas e operacionais da CTA, não pertinente à área biológica, estão disponíveis para facilitar a compreensão, construção e operação deste sistema por qualquer pesquisador.

Os espécimes vegetais habitualmente utilizados fora do Brasil, além da *Tradescantia pallida* mais adaptada ao ambiente tropical, foram utilizados

e submetidos simultaneamente ao gradiente na concentração do material particulado fino gerado na CTA, demonstrando a viabilidade de seu uso em experimentos de efeito agudo de exposição ambiental.

O bioensaio de mutação em inflorescência, Trad-MCN, identificou diferente efeito biológico para o gradiente de exposição, sendo o efeito na condição Filtrado menor que na condição Não filtrado.

No bioensaio de mutação em grão de pólen também identificou diferente resposta para o gradiente de exposição estabelecido, com maior efeito na condição Não filtrado que na condição Filtrado.

No protocolo de toxicidade em pêlo estaminal, Trad-SHM, o gradiente de exposição obtido na CTA foi acompanhado de diferença na contagem de mutações, sendo maior na condição Não filtrado que na Filtrado.

A utilização de bioacumulação vegetal mostrou que é possível, além de identificar diferenças na presença de grupos de elementos químicos em função da condição de exposição, também explorar as possíveis fontes de emissão envolvidas no ambiente de estudo.

Com a utilização de protocolos vegetais já referidos na literatura científica e o uso da CTA é possível gerar um gradiente de exposição e detectar efeitos tóxicos agudos atribuíveis a esse gradiente.

7 ANEXOS

ANEXO A: Dados da coleta de Material Particulado 2,5 µm – folha 1 de 2**Ar Filtrado**

FILTRO ID	INICIO			FIM			PESO (µg)			CONCEN TRAÇÃO (µg/m ³)
	DIA dd/mm/aa	HORA hh:mm	FIT m3	DIA dd/mm/aa	HORA hh:mm	FIT m3	LIMPO	SUJO	DIF	
cl2 398	07/12/06	15:00	132,029	08/12/06	15:25	146,835	18.246	18.440	194	13
cl2 67a	08/12/06	15:50	146,836	11/12/06	14:42	187,673	18.297	18.425	128	3
cl2 71a	11/12/06	16:01	187,68	12/12/06	16:07	202,93	18.045	18.124	79	5
cl2 75a	12/12/06	14:23	202,933	14/12/06	14:48	230,862	18.490	18.621	131	4,7
cl2 79a	14/12/06	15:00	230,862	15/12/06	16:04	245,671	18.397	18.496	99	7
cl2 83a	15/12/06	15:20	245,671	18/12/06	15:20	288,53	18.024	18.106	82	2
cl2 404	18/12/06	15:35	288,53	19/12/06	15:26	302,689	18.120	18.145	25	2
cl2 408	19/12/06	15:39	302,689	20/12/06	14:30	316,487	17.903	17.945	42	3
cl2 412	20/12/06	14:44	316,487	21/12/06	15:00	330,082	18.313	17.878		
cl2 416	21/12/06	15:20	330,084	22/12/06	15:37	345,384	17.966	18.263	297	19
cl2 419	22/12/06	15:50	330,084	26/12/06	9:30	385,565	18.363	18.385	22	0
cl2 424	26/12/06	9:46	385,565	27/12/06	10:12	400,579	18.066	18.123	57	4
cl2 428	27/12/06	10:43	400,579	28/12/06	11:17	415,512	17.980	18.028	48	3
cl2 432	28/12/06	11:30	415,518	29/12/06	10:49	429,513	18.356	18.416	60	4
cl2 436	29/12/06	11:02	429,513	02/01/07	15:11	488,745	18.127	18.186	59	1
cl2 440	02/01/07	15:28	488,745	03/01/07	15:50	503,241	18.144	18.190	46	3
cl2 465	03/01/07	16:13	503,241	04/01/07	16:34	517,55	19.179	19.216	37	3
cl2 469	04/01/07	17:06	517,55	05/01/07	16:18	531,171	19.300	19.349	49	4
cl2 472	05/01/07	16:40	531,171	08/01/07	9:45	569,015	19.326	19.387	61	2
cl2 475	08/01/07	10:20	569,015	09/01/07	10:16	583,004	19.169	19.212	43	3
cl2 478	09/01/07	10:30	583,004	10/01/07	10:23	597,031	18.988	19.026	38	3
cl2 481	10/01/07	10:35	597,031	11/01/07	10:35	611,166	19.247	19.314	67	5
cl2 484	11/01/07	10:45	611,166	12/01/07	10:45	625,465	19.023	19.077	54	4
cl2 487	12/01/07	11:15	625,465	15/01/07	9:35	666,965	19.158	19.202	44	1
cl2 490	15/01/07	9:55	666,965	16/01/07	15:45	684,572	19.437	19.478	41	2
cl2 493	16/01/07	16:00	684,572	17/01/07	14:00	697,529	18.793	18.835	42	3
cl2 496	17/01/07	14:20	697,53	18/01/07	13:55	710,292	19.215	19.290	75	6
cl2 499	18/01/07	13:55	710,293	19/01/07	15:50	723,823	18.854	18.966	112	8
cl2 502	19/01/07	16:20	723,823	22/01/07	10:10	762,873	18.818	18.867	49	1
cl2 505	22/01/07	10:50	762,873	23/01/07	12:20	777,691	19.360	19.403	43	3
mp07-04	23/01/07	12:40	777,691	24/01/07	11:20	790,914	19.229	19.247	18	1
mp07-08	24/01/07	11:40	790,914	28/01/07	15:20	849,02	19.144	19.471	327	6
mp07-10	28/01/07	15:45	849,02	29/01/07	16:25	863,321	19.062	19.456	394	28
mp07-15	29/01/07	16:45	863,321	30/01/07	16:00	876,376	19.270	19.401	131	10
mp07-19	30/01/07	16:20	876,376	31/01/07	16:55	891,181	19.082	19.120	38	3
mp07-23	31/01/07	17:05	891,181	01/02/07	17:15	905,73	19.000	19.026	26	2
mp07-27	01/02/07	17:35	905,73	02/02/07	17:00	919,87	18.902	18.932	30	2
mp07-31	02/02/07	17:15	919,87	05/02/07	10:00	955,63	19.081	19.965	884	25

ANEXO A (continuação): Dados da coleta de Material Particulado 2,5 μm –
folha 2 de 2

Ar Não Filtrado

FILTRO ID	INICIO			FIM			PESO (μg)			CONCEN TRAÇÃO ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
	DIA dd/mm/aa	HORA hh:mm	FIT m3	DIA dd/mm/aa	HORA hh:mm	FIT m3	LIMPO	SUJO	DIF	
ext 400	07/12/06	15:00	3.309,82	08/12/06	15:25	3.324,46	18.136	18.332	196	13
ext 66a	08/12/06	15:50	3.324,46	11/12/06	14:42	3.363,43	18.346	18.991	645	17
ext 70a	11/12/06	16:01	3.363,43	12/12/06	16:07	3.379,28	18.050	18.213	163	10
ext 74a	12/12/06	14:23	3.379,29	14/12/06	14:48	3.406,90	18.241	18.638	397	14
ext 78a	14/12/06	15:00	3.406,91	15/12/06	16:04	3.421,51	18.056	18.314	258	18
ext 82a	15/12/06	15:20	3.421,52	18/12/06	15:20	3.458,39	18.410	19.197	787	21
ext 403	18/12/06	15:35	3.458,39	19/12/06	15:26	3.472,11	18.152	18.452	300	22
ext 407	19/12/06	15:39	3.472,11	20/12/06	14:30	3.483,91	18.320	18.518	198	17
ext 411	20/12/06	14:44	3.483,91	21/12/06	15:00	3.497,79	17.859	18.463	604	44
ext 415	21/12/06	15:20	3.497,79	22/12/06	15:37	3.513,49	17.841	18.455	614	39
ext 420	22/12/06	15:50	3.497,79	26/12/06	9:30	3.549,79	18.213	18.536	323	6
ext 425	26/12/06	9:46	3.549,79	27/12/06	10:12	3.564,82	18.325	18.556	231	15
ext 429	27/12/06	10:43	3.564,82	28/12/06	11:17	3.579,76	18.013	18.259	246	17
ext 433	28/12/06	11:30	3.579,76	29/12/06	10:49	3.594,32	18.259	18.479	220	15
cs435	29/12/06	11:02	2.669,61	02/01/07	15:11	2.724,22	18.241	18.795	554	10,1
ext 441	02/01/07	15:28	3.647,32	03/01/07	15:50	3.662,46	18.301	18.451	150	10
cs 466	03/01/07	16:13	2.739,19	04/01/07	16:34	2.753,96	19.175	19.381	206	14
cs 468	04/01/07	17:06	2.753,97	05/01/07	16:18	2.768,17	19.587	19.755	168	12
cs 471	05/01/07	16:40	2.768,17	08/01/07	9:45	2.801,38	18.816	0		
cs 474	08/01/07	10:20	2.801,38	09/01/07	10:16	2.815,99	19.324	19.507	183	13
cs 477	09/01/07	10:30	2.815,99	10/01/07	10:23	2.829,66	18.984	19.278	294	22
cs 480	10/01/07	10:35	2.829,67	11/01/07	10:35	2.843,75	19.030	19.294	264	19
cs 483	11/01/07	10:45	2.843,75	12/01/07	10:45	2.858,49	19.250	19.719	469	32
cs 486	12/01/07	11:15	2.858,50	15/01/07	9:35	2.900,06	19.171	19.817	646	16
cs 489	15/01/07	9:55	2.900,07	16/01/07	15:45	2.917,71	19.143	19.518	375	21
cs 492	16/01/07	16:00	2.917,72	17/01/07	14:00	2.931,43	18.832	19.070	238	17
cs 495	17/01/07	14:20	2.931,44	18/01/07	13:55	2.944,60	18.989	19.166	177	13
cs 498	18/01/07	13:55	2.944,61	19/01/07	15:50	2.959,32	19.078	19.253	175	12
cs 501	19/01/07	16:20	2.959,32	22/01/07	10:10	2.995,60	18.972	19.450	478	13
mp07-01	22/01/07	10:50	2.995,60	23/01/07	12:20	3.010,60	19.125	19.321	196	13
mp07-05	23/01/07	12:40	3.010,60	24/01/07	11:20	3.023,98	18.967	19.317	350	26
mp07-07	24/01/07	11:40	3.023,98	28/01/07	15:20	3.067,17	19.242	19.895	653	15
mp07-09	28/01/07	15:45	3.067,18	29/01/07	16:25	3.081,86	19.426	20.214	788	54
mp07-16	29/01/07	16:45	3.081,86	30/01/07	16:00	3.095,63	19.216	19.346	130	9
mp07-20	30/01/07	16:20	3.720,55	31/01/07	16:55	3.735,52	18.943	19.128	185	12
mp07-24	31/01/07	17:05	3.735,52	01/02/07	17:15	3.750,05	18.961	19.208	247	17
mp07-28	01/02/07	17:35	3.750,06	02/02/07	17:00	3.764,18	18.995	19.291	296	21
mp07-32	02/02/07	17:15	3.764,18	05/02/07	10:00	3.796,47	18.945	19.376	431	13

ANEXO B: Dados diários da concentração de Material Particulado 10 µm, Temperatura (máxima e mínima), Umidade Relativa do ar (máxima e mínima), Pressão Atmosférica média e Índice pluviométrico acumulado – Folha 1 de 2

Data	Temperatura		Umidade Relativa		Pressão Atmosférica	Índice Pluviométrico	Concentração de MP10
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima			
01-dez-06	24,1	17,8	86	59	935,1	0,2	
02-dez-06	28,3	18,8	81	50	934,3	0,0	
03-dez-06	31,4	18,8	86	45	932,9	0,2	
04-dez-06	27,7	20,1	90	63	932,7	98,0	
05-dez-06	31,1	19,9	89	52	933,3	0,2	
06-dez-06	28,9	20,4	90	59	930,9	46,2	
07-dez-06	25,8	18,5	88	61	929,9	1,2	
08-dez-06	27,9	18,3	80	49	931,2	0,0	24
09-dez-06	25,5	18,9	83	62	931,4	0,0	36
10-dez-06	24,9	19,3	83	68	932,2	0,0	39
11-dez-06	24,9	18,6	80	61	934,2	0,0	29
12-dez-06	25,0	19,0	84	61	935,3	0,0	29
13-dez-06	28,8	19,9	80	53	933,8	0,0	25
14-dez-06	29,3	21,2	87	57	932,8	1,4	31
15-dez-06	32,2	20,7	90	50	932,7	9,2	33
16-dez-06	33,3	19,8	87	44	932,6	0,2	42
17-dez-06	33,1	20,3	87	41	932,7	0,0	65
18-dez-06	32,5	21,2	86	45	931,8	2,0	35
19-dez-06	31,8	20,9	86	50	931,3	1,4	48
20-dez-06	30,3	21,1	84	57	931,8	10,6	30
21-dez-06	28,4	22,1	84	56	932,9	0,0	27
22-dez-06	28,8	22,0	87	57	934,6	18,6	30
23-dez-06	22,2	21,4	89	85	934,0	3,8	28
24-dez-06	29,3	21,1	91	59	932,4	4,4	25
25-dez-06	31,9	21,0	89	51	931,9	0,0	20
26-dez-06	30,6	21,1	87	50	932,3	0,4	22
27-dez-06	27,2	21,0	87	66	934,5	1,4	28
28-dez-06	28,1	21,6	82	59	936,7	0,0	32
29-dez-06	26,7	19,9	82	64	937,1	0,0	22
30-dez-06	28,7	20,7	88	55	935,6	14,0	15
31-dez-06	26,9	20,8	88	65	934,9	14,0	20

ANEXO B (continuação): Dados diários da concentração de Material Particulado 10 μm , Temperatura (máxima e mínima), Umidade Relativa do ar (máxima e mínima), Pressão Atmosférica média e Índice pluviométrico acumulado – Folha 2 de 2

Data	Temperatura		Umidade Relativa		Pressão Atmosférica	Índice Pluviométrico	Concentração de MP10
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima			
01-jan-07	25,4	19,3	89	67	933,4	2,0	14
02-jan-07	27,6	20,4	89	61	934,2	5,4	13
03-jan-07	28,6	20,9	90	60	932,4	16,2	17
04-jan-07	24,8	21,2	90	77	930,0	18,2	22
05-jan-07	24,9	20,6	90	73	929,2	5,8	19
06-jan-07	24,9	21,7	83	72	930,8	0,6	10
07-jan-07	30,4	20,6	89	57	933,3	12,4	14
08-jan-07	26,4	20,4	90	68	934,2	2,0	16
09-jan-07	26,5	20,4	85	68	933,3	0,0	34
10-jan-07	29,2	19,4	88	58	932,5	0,0	37
11-jan-07	34,4	18,3	89	28	931,4	0,0	34
12-jan-07	30,4	19,7	80	50	927,3	0,0	66
13-jan-07	23,8	20,4	84	73	926,8	3,0	27
14-jan-07	29,6	19,0	89	33	929,0	0,0	33
15-jan-07	27,1	20,7	76	45	932,1	0,0	34
16-jan-07	26,7	17,3	82	50	935,0	0,0	41
17-jan-07	27,8	20,0	85	61	932,5	1,2	29
18-jan-07	25,6	20,9	89	76	930,3	14,2	23
19-jan-07	33,1	20,8	87	52	931,8	0,0	27
20-jan-07	25,6	22,1	89	74	933,0	5,6	46
21-jan-07	25,8	20,9	88	74	934,9	15,6	21
22-jan-07	24,3	18,7	87	65	935,7	0,4	16
23-jan-07	26,3	19,2	81	61	934,2	0,0	33
24-jan-07	29,1	19,6	81	50	933,4	0,0	34
25-jan-07	28,9	19,7	88	57	932,7	3,2	36
26-jan-07	30,3	20,8	90	55	932,3	15,4	46
27-jan-07	30,5	21,9	89	57	931,6	0,2	30
28-jan-07	30,3	22,7	87	56	931,0	3,2	14
29-jan-07	29,9	22,2	88	61	930,4	9,6	16
30-jan-07	26,9	18,9	89	67	932,7	2,4	16
31-jan-07	27,3	21,5	83	66	933,3	0,0	19
01-fev-07	30,0	21,8	81	53	933,2	0,0	26
02-fev-07	28,6	22,0	81	56	933,4	0,0	37
03-fev-07	29,2	20,2	84	40	932,9	0,0	25
04-fev-07	28,6	18,7	81	48	932,5	0,0	
05-fev-07	30,7	19,3	86	49	931,5	1,0	

ANEXO C: Dados obtidos na análise por FRX

AR FILTRADO									
	27-dez-06			12-jan-07			05-fev-07		
	4430	KU20	palida	4430	KU20	palida	4430	KU20	palida
massa	0,566	1,130	1,279	0,335	0,460	0,530	0,962	1,154	1,2812
K	5,628	3,375	4,993	0,232	4,843	6,884	4,735	3,045	4,204
Ca	1,315	2,520	3,057	1,660	2,407	2,614	1,832	2,714	3,294
Cl	1,731	#N/D	1,514	2,306	1,910	2,589	1,555	1,396	1,545
Si	0,741	0,199	0,347	0,551	0,258	0,363	0,726	0,332	0,642
Mg	0,851	0,599	0,998	0,970	0,730	0,953	0,910	0,668	1,034
P	0,249	0,256	0,321	0,251	0,496	0,397	0,205	0,428	0,239
S	0,222	0,550	0,203	0,205	0,395	0,403	0,259	0,480	0,571
Al	0,157	0,123	0,084	0,000	0,037	0,152	0,111	0,082	0,150
Fe	0,039	0,020	0,028	0,003	0,020	0,009	0,020	0,015	0,025
Mn	0,010	0,006	#N/D	#N/D	0,009	0,005	0,013	0,007	#N/D
Sr	0,006	0,010	0,014	0,003	0,006	0,010	0,008	0,014	0,016
Br	0,006	0,009	0,010	0,003	0,015	0,013	0,005	0,013	0,006
Ti	0,004	0,002	0,005	0,000	0,004	0,001	0,001	0,004	0,005
Zn	0,002	0,002	0,002	0,002	0,004	0,004	0,003	0,002	0,006
Cu	0,002	0,002	0,002	0,004	0,003	0,004	0,003	0,002	0,003
Cr	0,001	0,000	0,000	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	#N/D
V	0,000	0,002	0,002	0,001	0,003	0,000	0,000	0,000	0,003
Zr	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
Co	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	0,001	#N/D	0,001	#N/D
Rb	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	0,009	0,005	0,004	0,006
Ni	0,000	0,001	0,000	0,001	0,002	0,000	0,000	0,000	0,001

AR NÃO FILTRADO									
	27-dez-06			12-jan-07			05-fev-07		
	4430	KU20	palida	4430	KU20	palida	4430	KU20	palida
massa	0,833	1,180	1,330	0,490	0,538	0,647	0,435	0,8995	1,257
K	4,379	2,827	3,518	4,191	5,923	5,102	3,693	5,260	4,322
Ca	1,620	2,626	1,474	1,622	1,630	2,521	3,027	1,376	3,107
Cl	1,267	#N/D	1,498	1,189	1,428	1,622	1,394	0,579	1,529
Si	0,690	0,229	0,775	0,763	0,485	0,309	0,180	0,158	0,567
Mg	0,689	0,530	0,803	0,752	0,494	0,960	0,934	0,403	0,988
P	0,167	0,209	0,242	0,316	0,374	0,342	0,428	0,408	0,324
S	0,227	0,429	0,194	0,246	0,229	0,415	0,260	0,226	0,288
Al	0,316	0,144	0,124	#N/D	0,002	0,005	0,085	0,026	0,045
Fe	0,061	0,034	0,063	0,045	0,025	0,014	0,010	0,020	0,036
Mn	0,012	0,006	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	0,006	0,002	#N/D
Sr	#N/D	0,010	0,004	0,006	0,005	0,013	0,015	0,005	0,019
Br	0,005	0,005	0,005	0,008	0,006	0,012	0,006	0,005	0,005
Ti	0,007	0,005	0,004	0,004	0,008	0,004	0,001	0,003	0,007
Zn	0,002	0,002	0,002	0,002	0,003	0,004	0,002	0,003	0,006
Cu	0,002	0,002	0,004	0,003	0,003	0,004	0,002	0,002	0,002
Cr	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001
V	0,002	0,004	0,001	0,002	0,004	0,000	0,001	0,001	0,000
Zr	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	0,001
Co	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	0,001	#N/D
Rb	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	0,006	#N/D	#N/D	#N/D
Ni	0,000	0,000	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,002

8 REFERÊNCIAS

Air Diagnostics. Indoor aerosol monitoring equipment. Specifications for MS&T area sampler. 2000 [acesso em 22 março 2007], Disponível em http://www.airdiagnostics.com/indoor_samp_equip.html.

André PA. *Estudo dos efeitos da poluição atmosférica na saúde da população de Itabira (MG), utilizando como indicadores de morbidade os atendimentos em pronto-socorro e as internações hospitalares* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2002.

André PA, Braga ALF, Lin CA, Conceição GMS, Pereira LAA, Miraglia SGE, Böhm GM. Environmental epidemiology applied to urban atmospheric pollution: a contribution from the Experimental Air Pollution Laboratory (LPAE). *Cad Saúde Pública*. 2000, 16: 619-28.

Barsa [CD-ROM]. São Paulo: Encyclopaedia Britannica do Brasil Publicações Ltda, 1999.

Bell ML, Davis DL. Reassessment of the lethal London fog of 1952: Novel indicators of acute and chronic consequences of acute exposure to air pollution. *Environ Health Perspec*. 2001, 109(3):289-94.

Bergweiler CJ, Manning WJ. Inhibition of flowering and reproductive success in spreading dogbane (*Apocynum androsaemifolium*) by exposure to ambiente ozone. *Environ Pollution*. 1999, 105(3):333-9.

Bertin EP. Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis. Plenum Press, London, 1079 p., 1975. Dockery DW. Epidemiologic evidence of cardiovascular effects of particulate air pollution. *Environ Health Perspect*. 2001, 109: 483-6.

Blimbescombe P. Air pollution and health history. In: Holgate ST, Samet JM, Koren HS, Maynard RL. *Air pollution and health*. San Diego: Academic Press 1999, cap 2: 5-18.

Carneiro RMA. *Bioindicadores vegetais de poluição atmosférica: uma contribuição para a saúde da comunidade*. Dissertação de mestrado. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2004.

Carvalho HA. Use of Tradescantia to monitor the clastogenic effects of ionizing radiation. *Radiol Bras*. 2005, 38(6). [citado 19.fev.2007] Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-39842005000600015&lng=en&nrm=iso.

Carvalho-Oliveira R, Pozo RMK, Lobo DJA, Lichtenfels AJFC, Martins-Junior HÁ, Bustilho JOWV, Saiki M, Sato IM, Saldiva PHN. Diesel emissions significantly influence composition and mutagenicity of ambient particles: a case study in Sao Paulo. Brazil. *Environ Res*. 2005, 98:1-7.

CETESB. Relatório de qualidade do ar do Estado de São Paulo - 2001. São Paulo: CETESB. 2002.

CETESB. Relatório de qualidade do ar do Estado de São Paulo - 2005. São Paulo: CETESB. 2006.

CETESB. Qualidade do Ar, Rede automática, boletins diários, meses anteriores. 2007a [citado em 06.abr.2007]. Disponível em http://www.cetesb.sp.gov.br/Ar/ar_boletim_mensal.asp

CETESB. Mapa da qualidade do ar – Região Metropolitana de São Paulo. 2007b [citado em 21.abr.2007]. Disponível em http://www.cetesb.sp.gov.br/Ar/mapa_qualidade/mapa_qualidade_rmosp.asp

Clark RW, Catalano PJ, Koutrakis P, Khishna-Murty CG, Sioutas C, Paulaskis J, Coull B, Ferguson S, Godlaski JJ. Urban air particulate inhalation alters pulmonary function and induces pulmonary inflammation in a rodent model of chronic bronchitis. *Inhal Toxicol*. 1999, 11:627-56.

Clark RW, Coull B, Reinisch U, Catalano P, Killingsworth CR, Koutrakis P, Kavouras I, Krishna-Murthy GG, Lawrence J, Lovett EG, et al. Inhaled concentrated ambient air particles are associated with hematologic and bronchoalveolar lavage changes in canines. *Environ Health Perspect*. 2000, 108:1179-87.

Constantin MJ. Utility of specific locus systems in higher plants to monitor for mutagens. *Environ Health Perspec*. 1978, 27:69-75.

Crutzen PJ, Carmichael GR. Modeling the influence of fires on atmospheric chemistry. In: Crutzen PJ, Goldammer JG. *Fire in the environment*. Chichester: John Wiley & Sons. 1993, Cap 6: 89-106.

Davidova MN, Tarasova NB. Carbon monoxide inhibits superoxide dismutase and stimulates reactive oxygen species production by *Desulfovibrio desulfuricans* 1388. *Anaerob*. 2005, 11(6):335-8.

Dockery DW. Epidemiologic evidence of cardiovascular effects of particulate air pollution. *Environ Health Perspect*. 2001, v109 483:6.

Ferreira MI, Domingos M, Gomes HD, Saldiva PHN, De Assunção JV. Evaluation of mutagenic potential of contaminated atmosphere at Ibirapuera Park, Sao Paulo – SP, Brazil, using the *Tradescantia* stamen-hair assay. *Environ Pollut*. 2007, 145(1):219-24.

Foucaud L, Bennasroune A, Kjestadt D, Laval-Gilly P, Falla J. Oxidative stress induction by short-term time exposure to ozone on THP-1 cells. *Toxicol in Vitro*. 2006, 20:101-8.

Galhardo E. Evolução humana e aspectos sócio-culturais [apostila]. In: Curso de Biologia. Assis: Departamento de Psicologia Experimental e do Trabalho da Faculdade de Ciências e Letras da UNESP, 2007a [citado 06.abril.2007]. Disponível em: <http://www.assis.unesp.br/~egalhard/humanev3.htm>

Galhardo E. Etapas evolutivas – o gênero humano [apostila]. In: Curso de Biologia. Assis: Departamento de Psicologia Experimental e do Trabalho da Faculdade de Ciências e Letras da UNESP, 2007 [citado 06.abril.2007]. Disponível em: <http://www.assis.unesp.br/~egalhard/humanev2b.htm>

Galhardo E. A linhagem evolutiva do homem [apostila]. In: Curso de Biologia. Assis: Departamento de Psicologia Experimental e do Trabalho da Faculdade de Ciências e Letras da UNESP, 2007 [citado 06.abril.2007]. Disponível em: <http://www.assis.unesp.br/~egalhard/humanev2.htm>

Godleski, JJ, Verrier RL, Koutrakis P, Catalano P, Xoull B, Reinisch U, Lovett EG, Lawrence J, Murthy GG, Wolfson JM, et al. Mechanisms of morbidity and mortality from exposure to ambient air particles. *Res Rep Health Eff Inst*. 2000, 91:5-103.

Gong H, Linn WS, Terrel SL, Anderson KR, Clark KW, Sioutas C, Cascio WE, Alexis N, Devlin RB. Exposures of elderly volunteers with and without chronic obstructive pulmonary disease (COPD) to concentrated ambient fine particulate pollution. *Inhal Toxicol*. 2004, 16(11-12):731-44.

Gosh S, Wilson MR, Choudhury S, Yamamoto H, Goddard ME, Falusi B, Marczin N, Takada M. Effects of inhaled carbon monoxide on acute lung injury in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005, 288:1003-9.

Gu ZG, Januszkiewicz AJ, Mayorga MA, Coleman GD, Morrisette CR. Consequences of brief exposure to high concentrations of carbon monoxide in conscious rats. *Inhalation Toxicol*. 2005, 17:755-64.

Guimarães ET, Domingos M, Alves ES, Caldini Jr N, Lobo DJA, Lichtenfels AJFC, Saldiva PHN. Detection of the Genotoxicity of Air Pollutants in and Around the City of São Paulo (Brazil) with the *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) assay. *Environ Experimental Botany*. 2000, 44: 1-8.

Helfand WH, Lazarus J, Theerman P. Donora, Pennsylvania: an environmental disaster of the 20th century. *Am J Public Health*. 2001, 91(4):553.

Hinds WC. Aerosol technology: properties, behavior and measurement of airborne particles. 2nd edition. New York: Wiley-Interscience. 1998.

Huffman LJ, Judy DJ, Brumbaugh K, Frazer DG, Reynolds JS, McKinney WG, Goldsmith WT. Hyperthyroidism increases the risk of ozone-induced lung toxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2001, 173:18-26.

Huffman LJ, Beighley CM, Frazer DG, McKinney WG, Porter DW. Increased susceptibility of hyperthyroid rats to ozone: early events and mechanisms. *J Toxicol Environ Health*. 2006, 69:465-79.

IAEA – Radioisotope X-ray fluorescence spectrometry. Viena, Internacional Atomic Energy Agency, Technical Reports series no: 115, 102 pag, 1970.

IAG – Instituto de Astronomia Geofísica e Ciências Atmosféricas. Precipitação acumulada mensalmente na plataforma micrometeorológica. São Paulo, 2007 [citado em 21 abril 2007]. Disponível em: http://www.iag.usp.br/meteo/labmicro/tab_precip.htm

Ichikawa, S. Spontaneous somatic mutation frequencies in the stamen hairs of 14 different *Tradescantia* clones heterozygous for flower color. *Environ Experimental Bot*. 1984, 24(3):259-66.

Ichikawa, S. *Tradescantia* stamen-hair system as an excellent botanical tester of mutagenicity: its responses to ionizing radiations and chemical mutagens, and some synergistic effects found. *Mutation Research*. 1992, 270(1): 3-22.

Johnson RA, Wichern DW. Applied multivariate statistical analysis. 3rd Edition. New Jersey: Prentice-Hall International Editions, 1992.

Keane B, Collier MH, Shann JR, Rogstad SH. Metal content of dandelion (*Taraxacum officinale*) leaves in relation to soil contamination and airborne particulate matter. *Sci Total Environ*. 2001, 281(1-3):63-78.

Klumpp A, Ansel W, Klumpp G, Fomin A. Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede européia para a avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras (EuroBionet). *Revta brasil Bot*. 2001, 24(4):511-8.

Klumpp A, Ansel W, Fomin A, Schnirring S, Pickl C. Influence of climatic conditions on the mutations in pollen mother cells of *Tradescantia* clone 4430 and implications for the Trad-MCN bioassay protocol. *Hereditas*. 2004, 141(2):142-8.

Krupa SV, Legge AH. Passive sampling of ambient, gaseous air pollutants: an assessment from an ecological perspective. *Environ Pollution*. 2000, 107(1):31-45.

Lee HM, Greeley GH, Herndon DN, Sinha M, Luxon BA, Englander EW. A rat model of smoke inhalation injury: influence of combustion smoke on gene expression in the brain. *Toxicol Applied Pharmac*. 2005, 208:255-65.

Lemos M, Mohallem SV, Macchione M, Dolnikoff M, Assunção JV, Godleski JJ, Saldiva PHN. Chronic exposure to urban air pollution induces structural alterations in murine pulmonary and coronary arteries. *Inhalation Toxicol*. 2006, 18:247-53.

Lorenzi H, Souza HM. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3ª edição. Nova Odessa: *Instituto Plantarum*, 2001. p.381.

Ma T.-H. *Tradescantia* micronucleus bioassay and pollen tube chromatid aberration test for in situ monitoring and mutagen screening. *Environ Health Perspec*. 1981, 37:85-90.

Ma T.-H. Application of quick and simple plant bioassay to assess the genotoxicity of environmental pollutants – detection of potential health hazards of air, water and soil contaminants. In: EUROTOX Congress, 1994, Basel, Switzerland: Springer, 1994. p.420-33.

Ma T.-H, Cabrera GL, Cebulka-Wasilewska A, Chen R, Loarca F, Vandenberg AL, Salamone MF. *Tradescantia* stamen hair mutation bioassay. *Mutation Research*. 1994, 310:211-20.

Malallah G, Afzal M, Murin G, Murin A, Abraham D. Genotoxicity of oil pollution on some species of Kuwaiti flora, *Biologia (Bratislava)*. 1997, 52: 61-70.

Malavolta E. Absorção e transporte de íons e nutrição mineral. In: Ferri MG. Fisiologia Vegetal I. 2ª edição. São Paulo. Editora Pedagógica e Universitária Ltda. 1985, vol 1, cap 2:77-96.

Manning WJ. Ozone and plants: need for a biological based air quality standard. *The Scientific World J.* 2002, 2:282-3.

Manning WJ. Detecting plant effects is necessary to give biological significance to ambient ozone monitoring data and predictive ozone standards. *Environ Pollution.* 2003, 126(3):375-9.

Manning WJ, Godzik B. Bioindicator plants for ambient ozone in central and eastern Europe. *Environ Pollution.* 2004, 130(1):33-9.

Manning WJ, Cooley DR, Tuttle AF, Frenkel MA, Berweiler CJ. Assessing plant response to ozone: growth of young apple trees in open-top chambers and corresponding ambient air plots. *Environ Pollution.* 2004, 132(3):503-8.

Markert B. Quality assurance of plant sampling and storage. In: Quevauviller P. Quality Assurance in environmental monitoring. Sampling and Sample Pretreatment. Weinheim VCH. *Verlagsgesellschaft*, 1975, 215-54.

Markert B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. *Sci Total Environ.* 1995, 176: 45-61.

Massad E, Saldiva PHN, Saldiva CD, Böhm GM, Caldeira MPR, Cardoso LMN, Moraes AMS, Calheiros DF, Silva R. Toxicity of Prolonged Exposure to Ethanol and Gasoline Auto Engine Exhaust Gases. *Environ Research.* 1986, 40:479-86.

Melin A, Bonnet P, Eder V, Antier D, Obert P, Fauchier L. Direct implication of carbon monoxide in the development of heart failure in rats with cardiac hypertrophy subjected to air pollution. *Cardiovasc Toxicol.* 2005, 5(3):311-20.

Mičieta K, Kunová K. Phytoindication of genotoxic deterioration of polluted environment, *Biológia (Bratislava).* 2000, 55(Suppl.): 75-9.

Mičieta K, Murín G. Wild plant species in practical use for bioindication polluted environment. *Ekológia (Bratislava).* 1997, 16: 193-202.

Mirza A, Eder V, Rochefort GY, Hyvelin JM, Machet MC, Fauchier L, Bonnet P. CO inhalation at dose corresponding to tobacco smoke worsens cardiac remodeling after experimental myocardial infarction in rats. *Toxicol Sci.* 2005, 85:976-82.

Mohallem SV, Lobo DJA, Pesqueiro CR, Assunção JV, André PA, Saldiva PHN, Dolhnikoff M. Decreased Fertility in Mice Exposed to Environmental Air Pollution in the City of São Paulo. *Environ Research*, Elsevier. 2005, 98:196-202.

Moraes RM, Bulbovas P, Furlan CM, Domingos M, Meireles ST, Delitti WBC, Sanz MJ. Physiological responses of saplings of *Caesalpinia achinata* Lam., a Brazilian tree species, under ozone fumigation. *Ecotoxicology and Environ Safety*. 2006, 63:306-12.

Nali C, Francini A, Lorenzini G. Biological monitoring of ozone: the twenty-year Italian experience. *J Environ Monitoring*. 2006, 8:25-32.

Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. Applied Linear Statistical Models. 4th ed. Chicago: Irwin, 1996.

Novak K, Skelly JM, Schaub M, Kräuchi N, Hug C, Landolt W, Bleuler P. Ozone air pollution and foliar injury development on native plants of Switzerland. *Environ Pollution*. 2003, 125:41-52.

Oliveira RC, Pozo RMK, Lobo DJA, Lichtenfels AJFC, Martins Jr HA, Bustilho JOWV, Saiki M, Sato IM, Saldiva PHNS. Diesel emissions significantly influence composition and mutagenicity of ambient particles: a case study in São Paulo, Brazil. *Environ Research*. 2005, 98:1-7.

Park SS, Kim YJ, Kang CH. Atmospheric polycyclic aromatic hidrocarbons in Seoul, Korea. *Atmospheric Environ*. 2002; 36(17):2917-24.

Pires-Neto RC, Lichtenfels AJ, Soares SR, Macchione M, Saldiva PHN, Dolhnikoff M. Effects of São Paulo air pollution on the upper airways of mice. *Environ Research*. 2006, 101:356-61.

Pope CA, Schwartz J, Ramsom MR. Daily mortality and PM10 in Utah Valley. *Arch Environ Health*. 1992, 47:211-17.

Pope CA, Thun MJ, Namboodiri MM, Dockery DW, Evans JS, Speizer FE, Health CW. Particle air pollution as a predictor of mortality in a prospective study of US adults. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995, 151:669-74.

Pope CA, Dockery DW. Epidemiology of particulate effect. In: Air pollution and health. Holgate ST, Koren H, Samet J, editors. San Diego: Academic Press. 1999, 673-705.

Reed MD, Blair LF, Burling K, Daly I, Gigliotti AP, Gudi R, Mercieca MD, McDonald JD, O'Callaghan JP, Seilkop SK, Ronskoh NL, Wagner VO, Kraska RC. Health effects of subchronic exposure to diesel-water-methanol emulsion emission. *Toxicol Ind Health*. 2006, 22(2):65-85.

Richardson DHS. Pollution Monitoring with Lichens. Richmond Publishing, Slough. 1992

Richardson M, Shore M, Hartree R, Richardson RM. The use of X-ray fluorescence spectrometry for the analysis of plants, especially lichens, employed in biological monitoring. *The Sci Total Environ*. 1995;176: 97-105.

Rodrigues GS, Ma T-S, Pimentel D, Weinstein LH. Tradescantia bioassays as monitoring systems for environmental mutagenesis: a review. *Crit Reviews Plant Sci*. 1997, 16(4):325-59.

Roholm K. The fog disaster in the Meuse Valley, 1930: a fluorine intoxication. *J Industrial Hyg and Toxicol*. 1937, 19:126-37.

Rojas E, Valverde M, Lopez MC, Naufal I, Sanches I, Bizarro P, Lopez I, Foutoul TI, Ostrosky-Wegman P. Evaluation of DNA damage in exfoliated tear duct epithelial cells from individuals exposed to air pollution assessment cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res J*. 2000, 468(1):11-7.

Rothman KJ, Greenland S. Modern epidemiology. 2nd edition. Washington: Lippincot – Raven, 1998. Chapter 5, p.67-78: Types of Epidemiological Studies.

Saldiva PHN, King M, Macchione M, Parada MAC, Sakae RS, Criado PMP, Silveira PSP, Zin WA, Böhm GM, Capelozzi VL. Respiratory Alterations Due to Urban Air Pollution: an Experimental Study in Rats. *Environ Research*. 1992, 57:19-33.

Saldiva PHN, Clark RW, Coul BA, Steams RC, Lawrence J, Murthy GGK, Diaz E, Koutrakis P, Suh H, Tsuda A, Godleski JJ. Lung inflammation induced by concentrated ambient air particles is related to particle composition. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002, 165: 610-7.

Samet JM, Dominici F, Curriero FC, Coursac I, Zeger SL. Fine particulate and air pollution and mortality in 20 US cities, 1987-1994. *N Engl J Med*. 2000, 343: 1742-9.

Schairer LA, Van't Hof J, Hayes CG, Burton RM, Serres FJ. Exploratory monitoring of air pollutants for mutagenicity activity with the Tradescantia stamen hair system. *Environ Health Perspectives*. 1978, 27: 51-60.

Schwartz J, Dockery DW. Particulate air pollution and daily mortality in Steubenville, Ohio. *Am J Epidemiol*. 1992, 135:12-19.

Schwartz J. What are people dying of on high air pollution days? *Environ Res*. 1994, 64:26-35.

Schwartz J, Dockery DW, Neas LM. Is daily mortality associated specifically with fine particles? *J Air Waste Manag Assoc.* 1996, 46: 927-39.

Seagrave J, McDonald JD, Gigliotti AP, Nikuta KJ, Seilkop SK, Gurevich M, Mauderly JL. Mutagenicity and in vivo toxicity of combined particulate and semivolatile organic fraction of gasoline and diesel engine emissions. *Toxicol Sci.* 2002, 70(2):212-26.

Seinfeld JH, Pandis SN. Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change. New York: Wiley-Interscience. 1998.

Sioutas C, Koutrakis P, Burton RM. A technique to expose animals to concentrated fine ambient aerosols. *Environ Health Perspect.* 1995, 103:172-77.

Sioutas C, Koutrakis P, Godleski JJ, Ferguson ST, Kim CS, Burton RM. Fine particle concentrators for inhalation exposures: effects of particle size and composition. *J Aerosol Sci.* 1997, 28:1057-71.

Sumita NM. *Avaliação da poluição ambiental da cidade de São Paulo pela análise elementar em plantas (Tradescantia pallida), por método de ativação com nêutrons* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2002.

Suyama F, Guimarães ET, Lobo D-JA, Rodrigues GS, Domingos M, Alves ES, Carvalho HA, Saldiva PHN. Pollen mother cells of *Tradescantia* clone 4430 and *Tradescantia pallida* var. *purpurea* are equally sensitive to the clastogenic effects of X-rays. *Braz J Med Biol Res.* 2002, 35(1):127-9.

Thompson G, Bankston DC. Sample contamination from grinding and sieving determined by emission spectrometry. *Appl. Spectrs.* 1970, 24: 210-9.

Tofighi R, Tillmark N, Dare E, Aberg AM, Larsson JE, Ceccatelli S. Hypoxia-independent apoptosis in neural cells exposed to carbon monoxide in vitro. *Brain Res.* 2006, Epub ahead of print;.

Turrio-Baldassarri L, Battistelli CL, Conti L, Crebelli R, De Berardis B, Iamaceli AL, Gambino M, Iannaccone S. Evaluation of emission toxicity of urban bus engines: compressed natural gas and comparison with liquid fuels. *Sci Total Environ.* 2006, 355(1-3):64-77.

UN. The world at six billion. US Population Division, Department of Economic and Social Affairs, 1999 [citado 17 março 2007]. Disponível em: <http://www.un.org/esa/population/publication/sixbillion/sixbillion.htm>.

UNFPA – United Nation Population Fund. Population Issues: Meeting Development Goals, 2007 [citado em 05.abril.2007]. Disponível em: http://unfpa.org/pds/images/Trend_Graphic.swf.

US-DOE. Specification for HEPA Filters used by DOE Contractors. Washington (DC): US-DOE, 1997 Jan. DOE-STD-3020-97.

USCB – United States Census Bureau: Historical Estimates of World Population, 2006 [citado em 17.março.2007]. Disponível em: <http://www.census.gov/ipc/www/worldhis.html>.

USDA, ARS. Germplasm Resources Information Network (GRIN). Taxonomy Information (on line). GRIN Taxonomy for Plants. Beltsville, Maryland, 1997. [citado 19 fevereiro 2007]. Disponível em URL:<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?407023>.

Valacchi G, Pagnin E, Corbacho AM, Olano E, Davis PA, Cross CE. In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radic Biol Med* Mar. 2004, 36(5):673-81.

Vanderheyden DJ, Skelly JM, Innes J, Hug C, Zhang J, Landolt W, Bleuler P. Ozone exposure thresholds and foliar injury on forest plants in Switzerland. *Environ Pollution*. 2001, 111:321-31.

Wagner G. Basic approaches and methods for quality assurance and quality control in sample collection and storage for environmental monitoring. *Sci. Total Environ*. 1995, 176: 63-71.

Wark K, Warner CF, Davis WT. Air pollution its origin and control. 3.ed. Menlo Park, California: Addison-Wesley. 1998, p-573.

WHO - World Health Organization. Linkage methods for environment and health analysis: general guidelines. Geneva: WHO. 1996.

World Resources - The World Resources Institute. World resources: a guide to the global environment - the urban environment 1996-1997. New York: Oxford University Press. 1996.

Zeisler R, Strachnow V, Pershke H, Decner R. The preparation of a cabbage candidade reference material to be certified for residues of agrochemicals. *Fresenius J. Anal. Chem*. 1993, 345: 202-6.

Zhang J, Ferdinand JA, Vanderheyden DJ, Skelly JM, Innes J. Variation of gas exchange within native plant species of Switzerland and relationships with ozone injury: an open-top experiment. *Environ Pollution*. 2001, 113:177-85.