UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

FERNANDO GUERRA

Cádmio na cadeia alimentar: proveniente de vegetais e avaliação da sua disponibilidade no solo com auxílio do ^{109}Cd

Piracicaba

2011

FERNANDO GUERRA

Cádmio na cadeia alimentar: proveniente de vegetais e avaliação da sua disponibilidade no solo com auxílio do ^{109}Cd

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Takashi Muraoka

Piracicaba
2011

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Guerra, Fernando

Cádmio na cadeia alimentar: proveniente de vegetais e avaliação da sua disponibilidade no solo com auxílio do ^{109}Cd / Fernando Guerra; orientador Takashi Muraoka. - - Piracicaba, 2011.

94 f.: il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Hortaliças folhosas 2. Metais pesados 3. Monitoramento ambiental 4. Poluição do solo 5. Radiotraçadores I. Título

CDU 546.48:502.175

Aos meus pais, Antonio e Marilis, e ao meu irmão Adriano
pelo apoio, exemplo de vida e amor incondicional,
que muitas vezes abdicaram de seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus.

Aos meus tios, Carlos e Márcia, e ao meu primo Márcio
que sempre participaram da minha vida,
pela dedicação, carinho e apoio.

DEDICO

"Àqueles que de uma maneira ou de outra fizeram parte da minha vida, e que ainda por um breve momento, marcaram a minha história"

AGRADECIMENTOS

- A Deus, por me dar forças a cada dia;

- À Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, por meio do Programa de Pós Graduação em Ciências, pela oportunidade de realização do curso de mestrado;

- Ao meu orientador, professor Dr. Takashi Muraoka, pelo aprendizado, confiança, pela valiosa orientação, amizade. Meus sinceros votos de agradecimentos.

- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo entre abril e julho de 2009;

- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudo e reserva técnica (processo 2009/03777-0) entre agosto de 2009 e março de 2011;

- À Dra. Anita S. D. Gutierrez e toda a sua equipe do CEAGESP (Centro de Qualidade em Horticultura), pela atenção e dedicação que viabilizaram a aquisição de vegetais para a realização do estudo;

- Ao professor Dr. Márcio Roberto Soares, pela amizade, apoio, aprendizado profissional e pela minha iniciação na vida científica;

- Aos amigos de orientação Anderson, Rodrigo, Diogo, Nericlenes, Aline, Rafael, Vinícius e Fernanda, pela amizade, paciência, companheirismo, sugestões e críticas construtivas;

- Aos amigos, que hoje posso chamar de irmãos, Maísa, Vinícius, Sérgio, Marco, Renê, Marcelo, Fábio, Thiago, Débora, Lucas, Diego e João Ricardo, pelo apoio e companheirismo;

- Aos técnicos e funcionários do Laboratório de Fertilidade do Solo CENA/USP Marileusa, Sandra e João;

- A todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

“As long as a man has the strength to dream he can redeem his soul and fly”

(Elvis Presley)

“Se eu ainda soubesse como mudar o mundo, se eu ainda pudesse saber um pouco de tudo... eu voltaria atrás no tempo”

(Barão Vermelho)

RESUMO

GUERRA, F. **Cádmio na cadeia alimentar**: proveniente de vegetais e avaliação da sua disponibilidade no solo com auxílio do ^{109}Cd. 2011. 94 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

A contaminação do ambiente é crescente no mundo, com grandes extensões de áreas afetadas por metais pesados em concentrações que podem representar perigo ambiental. Em face ao aumento da atividade industrial e à agricultura altamente tecnificada, é fundamental o monitoramento dos níveis de metais pesados nos solos, já que as plantas se comportam como mecanismo de transferência de contaminantes do solo para níveis mais altos da cadeia trófica. A ingestão de vegetais contendo elevadas concentrações de metais pesados é uma das principais vias de acesso desses elementos ao corpo humano. No corpo humano, os metais pesados depositam-se no tecido ósseo e gorduroso, ocupando o lugar de minerais nobres. Lentamente liberados no organismo, podem provocar uma série de doenças. O projeto foi dividido em três etapas, cada qual com um objetivo específico: 1º) determinar as concentrações de cádmio, níquel, chumbo, cobalto e cromo em vegetais frequentemente consumidos no Estado de São Paulo, e compará-las com os limites estabelecidos na legislação brasileira; calcular a ingestão diária de metais pesados para estimar o risco à saúde humana; identificar as culturas que apresentam maior potencial de translocação de cádmio para a cadeia alimentar 2º) avaliar os teores de cádmio em hortaliças e nos solos dos campos de produção 3º) avaliar a disponibilidade de cádmio do solo para as plantas com maior potencial de acúmulo do mesmo, com auxilio de extratores químicos e pela técnica de traçador radioativo (^{109}Cd). As amostras vegetais foram coletadas na Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo e a concentração de metais pesados foi determinada por espectrometria de absorção atômica. Todos os vegetais analisados apresentaram concentrações de Cd e Ni abaixo do limite tolerável estabelecido pela legislação brasileira. No entanto, para Pb e Cr, 44% das amostras excederam o limite permitido. Não há nenhuma recomendação estabelecida de limite máximo de tolerância para Co no Brasil. Quanto ao hábito de consumo da população do Estado de São Paulo, a ingestão diária de metais pesados está abaixo da máxima permitida, consequentemente o consumo desses alimentos pode ser considerado seguro e sem riscos à saúde humana. As hortaliças folhosas foram as que mais acumularam Cd. Algumas regiões do Estado de São Paulo apresentaram teores totais de Cd no solo acima do valor de intervenção estabelecido pela CETESB. Entretanto, os vegetais cultivados nesses locais apresentaram teores de Cd inferiores ao limite máximo de tolerância, estabelecido pela ANVISA. É importante, ao estudar a contaminação de áreas agrícolas por metais pesados, observar, além do teor total, outros parâmetros, como a sua disponibilidade para plantas. No experimento em casa de vegetação, as correlações entre o Cd disponível do solo e o Cd acumulado pelas plantas foram significativas somente para a rúcula. O extrator mais eficiente em determinar a fitodisponibilidade de Cd, analisado por meio do Valor L e Razão L, foi o extrator Ácidos Orgânicos.

Palavras-chave: Hortaliças. Elemento potencialmente tóxico. Ingestão diária. Traçador radioativo. Razão L.

ABSTRACT

GUERRA, F. **Cadmium in food chain:** derived from vegetables and evaluation of its availability in soil with the aid of ^{109}Cd. 2011. 94 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

The environmental contamination is increasing worldwide, with large areas affected by heavy metals at concentrations which may pose environmental hazard. Due to industrial activity and highly technical agriculture, it is important to monitor heavy metals levels in soils, since vegetables behave as transfer mechanism of contaminants from soils to higher levels of the food chain. Ingestion of vegetables containing high concentrations of heavy metals is one of the main ways in which these elements enter the human body. Once in human body, heavy metals are deposited in the bone and fat tissues, overlapping noble minerals. Slowly released into the body, heavy metals may cause an array of diseases. The project was divided into three stages, each one with a specific objective: 1st) to determine the concentrations of cadmium, nickel, lead, cobalt and chromium in the most frequently consumed foodstuff in the São Paulo State, Brazil and to compare the heavy metal contents with the permissible limits established by the Brazilian legislation; to calculate intake of heavy metals in human diets for estimating the risk to human health; and to identify crops with the greatest potential for translocation of cadmium into food chain 2nd) to evaluate the cadmium content in leafy vegetables and soils at crop fields 3th) evaluate the phytoavailability of cadmium for leafy vegetables with aid of chemical extractants and radioactive tracer technique (^{109}Cd). The vegetable samples were collected at São Paulo General Warehousing and Centers Company, and heavy metal content was determined by atomic absorption spectrophotometry. All vegetables sampled presented average concentrations of Cd and Ni lower than the permissible limits established by the Brazilian legislation. Exception for Pb and Cr in that 44% of the samples exceeded the maximum permitted limits. The Brazilian legislation has not established a permissible limit for Co contents. Regarding the consumption habit of the population in the São Paulo State, the daily ingestion of heavy metals is below the oral dose of reference, therefore, the consumption of these vegetables can be considered safe and without risk to human health. Leafy vegetables were those most accumulated Cd. Some regions of São Paulo State showed total contents of Cd in soil higher than intervention value established by CETESB. However, the vegetables grown in these areas showed Cd concentrations lower than Brazilian limit established by ANVISA. It is important, when studying environmental contamination by heavy metals, to observe, beside their total content, other parameters, like soil availability. In the greenhouse experiment, the correlation between soil available Cd and plants accumulated Cd were significant only for rocket. The most efficient chemical extractant in determining Cd phytoavailability, analyzed by L Value and L Ratio, were Organic Acids.

Keywords: Leafy vegetables. Potentially toxic element. Daily intake. Radioactive tracer. L Ratio.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 10

2 REVISÃO DE LITERATURA 12

2.1 CONTAMINAÇÃO DO AMBIENTE POR METAIS PESADOS 12

2.2 CONTAMINAÇÃO DO SOLO PELO USO DE FERTILIZANTES MINERAIS E OUTRAS FONTES ... 13

2.3 METAIS PESADOS NA PLANTA E SUA ENTRADA NA CADEIA ALIMENTAR 17

2.4 TEORES FITODISPONÍVEIS DE METAIS PESADOS 20

2.5 TÉCNICA ISOTÓPICA 22

3 MATERIAL E MÉTODOS 25

3.1 DESCRIÇÃO DA 1ª ETAPA 25

3.1.1 Seleção de amostras vegetais 25

3.1.2 Definição das amostras vegetais 25

3.1.3 Tratamento das amostras 25

3.1.4 Digestão das amostras 26

3.1.5 Controle de Qualidade 26

3.1.6 Análises dos dados 27

3.1.6.1 Ingestão diária de metais pesados 27

3.1.6.2 Coeficiente de avaliação de risco (HQ) 27

3.1.6.3 Índice de avaliação de risco (HI) 28

3.1.7 Seleção das culturas para as etapas posteriores 28

3.2 DESCRIÇÃO DA 2ª ETAPA 28

3.2.1 Caracterização dos campos de produção 28

3.2.1.1 Locais de coleta 29

3.2.2 Solos 30

3.2.2.1 Análises Químicas 33

3.2.2.1.1 Determinação do teor total de Cd 33

3.2.2.1.2 Determinação dos teores disponíveis de Cd 33

3.2.3 Coleta e preparo das amostras vegetais 34

3.2.4 Análise dos Dados 34

3.2.4.1 Razão de Transferência 34

3.3 DESCRIÇÃO DA 3ª ETAPA 34

3.3.1 Delineamento experimental 36

3.3.2 Instalação e condução do experimento *36*
3.3.3 Análises químicas das amostras de terra *38*
3.3.4 Análises químicas e radioisotópicas de amostras de plantas *38*
3.3.5 Cálculos isotópicos *38*
3.3.6 Análise dos dados *39*
3.3.7 Razão L *40*
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 41
4.1 1ª ETAPA 41
4.1.1 Concentração de Cd, Ni, Pb, Co e Cr nos alimentos *41*
4.1.2 Ingestão diária de metais pesados *49*
4.1.2.1 Cádmio 49
4.1.2.2 Níquel 49
4.1.2.3 Chumbo 50
4.1.2.4 Cobalto 50
4.1.2.5 Cromo 51
4.1.3 Coeficiente de avaliação de risco (HQ) *51*
4.1.4 Índice de avaliação de risco (HI) *52*
4.1.5 Seleção das culturas para as etapas posteriores *53*
4.2 2ª ETAPA 54
4.2.1 Caracterização dos solos *54*
4.2.2 Concentração de Cd nos solos *55*
4.2.3 Concentração de Cd em vegetais *57*
4.2.4 Bioacessibilidade de Cd *59*
4.3 3ª ETAPA 61
4.3.1 Fitodisponibilidade de Cd determinado por meio de extratores químicos *68*
4.3.2 Eficiência dos extratores e Razão L *73*
5 CONCLUSÕES 75
REFERÊNCIAS 76
APÊNDICE 92

1 INTRODUÇÃO

Com o contínuo crescimento da população mundial, torna-se necessário o aumento da produção de alimentos e o Brasil passa a ser importante nesse contexto por ser um dos poucos países com capacidade de aumento de áreas agricultáveis e com produtividades passíveis de incrementos.

Concomitante ao aumento populacional, ocorrem o crescimento urbano e o desenvolvimento industrial e tecnológico, levando ao aumento da produção de resíduos. A disposição inadequada desses resíduos altera as condições de equilíbrio no ambiente, seja pela violação ou exaustão dos recursos naturais, ou ainda pela poluição do solo, do ar e dos recursos hídricos (CASTRO NETO, 1985). Os processos de descontaminação são muito trabalhosos e, até certo ponto, pouco eficientes. Portanto, o solo uma vez contaminado, permanecerá dessa forma por muito tempo (BORGES, 2002).

A presença de metais pesados (MPs) no solo em concentrações qualificadas de alerta ou intervenção, segundo normativa da CETESB (2005), restringe sua utilização para fins agrícolas, pois à medida que há acúmulo desses elementos, pode promover maior absorção pelas plantas e entrada na cadeia alimentar.

Sendo assim, é importante o monitoramento da contaminação do solo devido as diversas fontes antropogênicas de MPs, tais como deposição atmosférica, adições de fertilizantes, aplicação de lodo de esgoto, composto de lixo urbano e lodos industriais. Uma vez no ambiente, os MPs tendem a se acumular, provocando elevação constante de seus níveis. Nos seres vivos, tais elementos reagem com ligantes, o que, muitas vezes, lhe conferem propriedades de bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar, provocando distúrbios nos processos metabólicos (TAVARES; CARVALHO, 1992). O consumo de alimentos com altos teores de MPs pode induzir a toxicidade crônica por acúmulo fundamentalmente no fígado e rins.

A crescente conscientização para o valor de legumes e frutas na dieta humana sugere que o monitoramento da concentração de MPs nos alimentos deva ser realizado com frequência (ANTONIOUS; KOCHHAR, 2009), embora esse tipo de trabalho seja raro, especialmente em países em desenvolvimento. Como o teor de MPs nos alimentos é dependente do teor presente nos solos, é muito importante, também, o monitoramento dos teores desses elementos no ambiente agrícola.

O mais rigoroso método para avaliar a fitodisponibilidade de MPs no solo é pela medida direta da porção lábil usando a técnica de diluição isotópica com traçadores radioativos (HAMON et al., 1998; STANHOPE et al., 2000; ALMAS; SINGH, 2001). Esse método pode ser considerado o mais apropriado para determinar a fitodisponibilidade de elementos no solo, pois utiliza as plantas como meio extrator, contemplando tanto os processos químico-físicos que ocorrem no solo como os processos fisiológicos e reações que ocorrem na rizosfera das plantas (VILLANUEVA et al., 2008). Esse método tem sido utilizado para quantificar a disponibilidade de diferentes elementos. Inicialmente foi utilizado para avaliar fósforo (P) (LARSEN, 1952) e recentemente sua utilização tem-se estendido para níquel (Ni), cádmio (Cd) e zinco (Zn) (HUTCHINSON et al., 2000).

Partindo da hipótese de que a transferência de MPs fitodisponíveis do solo para as plantas e o consumo dessas por seres humanos podem causar efeitos adversos à saúde humana, os objetivos do projeto foram:

- Determinar as concentrações de cádmio, níquel, chumbo, cobalto e cromo nos alimentos frequentemente consumidos no Estado de São Paulo e compará-las com os limites estabelecidos na legislação brasileira.
- Calcular a ingestão diária de MPs para estimar o risco à saúde humana.
- Identificar e classificar as culturas que apresentem maior potencial de entrada de cádmio na cadeia alimentar.
- Avaliar os teores de cádmio em hortaliças e nos solos dos campos de produção.
- Avaliar a disponibilidade de cádmio do solo para as plantas com maior potencial de acúmulo do mesmo, com auxílio de extratores químicos e radionuclídeo ^{109}Cd.
- Determinar o extrator mais eficiente na avaliação da fitodisponibilidade de Cd.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Contaminação do ambiente por metais pesados

O solo é considerado contaminado quando apresenta concentrações de determinada espécie química acima do esperado em condições naturais. O conhecimento das quantidades totais e formas fitodisponíveis de MPs no solo é essencial no diagnóstico da contaminação e definição de estratégias de remediação (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000). A Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB) estabeleceu para MPs valores de referência de qualidade, de prevenção e intervenção para solos no Estado de São Paulo (CETESB, 2005).

Há grandes extensões de áreas com presença de elementos metálicos, compostos orgânicos, organometálicos e elementos radioativos, em concentrações que podem representar perigo ambiental (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000). Atualmente, um dos poluentes de maior preocupação ao redor do mundo são os MPs (THUY; VY; LOAN, 2007).

Para Alloway (1995) e Kabata-Pendias e Pendias (1984), a presença de MPs em áreas agrícolas altamente tecnificada é resultado da deposição atmosférica e da aplicação de agrotóxicos, resíduos orgânicos e inorgânicos, urbanos e industriais, fertilizantes e corretivos.

São diversas as fontes antropogênicas de MPs para o solo, dentre elas, restos de mineração, insumos agrícolas, lodo de esgoto, queima de combustíveis fósseis, indústrias metalúrgicas, eletrônicas, manufaturados, indústrias químicas, depósitos de resíduos, esportes de caça e pesca e treinamento militar (ADRIANO, 1986; ALLOWAY, 1995). Todavia, os MPs contidos no solo também podem ser oriundos da rocha que lhes deu origem (ADRIANO, 1986; TEIXEIRA et al., 2010).

Embora os MPs sejam considerados como poluentes da água, solo e contaminantes de alimentos, são, em sua maioria, transportados de um lugar para outro por via aérea, seja como gases ou como espécies adsorvidas/absorvidas sobre material particulado em suspensão (BAIRD, 2002). Dessa maneira, a contaminação do ambiente não se restringe a áreas com elevada atividade industrial, mas se estende a outros locais distante do foco inicial de poluição.

Ainda que o acúmulo de MPs no solo pareça ser pequeno, requer monitoramento, em face ao uso repetitivo e em excesso de fertilizantes fosfatados, fungicidas, pesticidas e

resíduos orgânicos na mesma área agrícola (AMARAL SOBRINHO et al., 1992; GIMENO-GARCIA; ANDREU; BOLUDA, 1996; MARCHIORI JUNIOR, 2003), e também devido ao solo ser a maneira mais fácil e barata para disposição de rejeitos (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

Além de impactos com consequências danosas ao funcionamento e biodiversidade do ecossistema, a contaminação do solo é ameaça direta à saúde pública, necessitando de ações remediadoras. Entretanto, as plantas apresentam vários mecanismos para evitar a absorção de MPs, tais como: a) absorção seletiva de íons; b) diminuição da permeabilidade das membranas ou outras diferenças; c) imobilização dos íons nas raízes, nas folhagens e sementes; d) remoção de íons do metabolismo por deposição em formas fixas ou insolúveis; e) alterações nos padrões metabólicos; f) adaptação para substituição de um metal tóxico por outro metal em uma enzima fisiológica e g) eliminação dos íons das plantas através das excreções das raízes (ALLOWAY, 1995).

Os MPs considerados como importantes poluentes ambientais são: arsênio[1] (As), berílio (Be), Cd, cromo (Cr), cobre (Cu), mercúrio (Hg), Ni, chumbo (Pb), antimônio (Sb) e Zn (TILLER, 1989), sendo os metais Cd, Cu, Zn e Pb os mais perigosos, devido à toxicidade e potencial de bioacumulação (CHANG et al., 1984).

2.2 Contaminação do solo pelo uso de fertilizantes minerais e outras fontes

Segundo Alloway (1995), a entrada de MPs em solos agrícolas dá-se através: a) de impurezas presentes em fertilizantes, b) utilização de lodo de esgoto, que contém especialmente Cd, Ni, Cu, Pb e Zn, c) adubos de origem animal, especialmente de suínos e aves, que podem conter Cu, As e Zn, d) pesticidas contendo Cu, As, Hg, Pb, manganês (Mn) e Zn, e) dessecantes com As na sua composição, f) conservantes de madeira, que contêm As, Cu e Cr e g) corrosão de objetos metálicos, como telhas de metais galvanizados e cercas de arame, que contêm Zn e Cd.

A contaminação do solo por MPs provenientes da contínua aplicação de fertilizantes vem preocupando pesquisadores de diversos países (McLAUGHLIN et al., 1996; RAVEN; LOEPPERT, 1997; CAKMAK et al., 2010). No Brasil, trabalhos desta natureza são recentes e em número crescente, resultante da necessidade de preservação do ambiente e recursos

[1] O arsênio não é realmente um metal, mas um semimetal, já que suas propriedades são intermediárias entre a dos metais e as dos não-metais (TILLER, 1989).

naturais (MARCHIORI JUNIOR, 2003; OLIVEIRA, 2003; CONCEIÇÃO; BONOTTO, 2006).

O uso de insumos agrícolas tem sido alvo de especulações relativas à contaminação do ambiente (RODELLA; ALCARDE, 2001). Um dos aspectos é a contaminação do solo com MPs via fertilizantes fosfatados, principalmente Cd, sendo esse o elemento de maior preocupação à saúde humana.

A composição da rocha fosfatada depende do tipo (sedimentar, ígnea ou metamórfica) e origem. Rochas sedimentares geralmente contêm elevadas concentrações de elementos pesados como urânio (U), tório (Th), além de MPs como Cd, As, Sb, V (vanádio), Cr, Zn, Cu e Ni (STOCIA et al., 1997).

Dependendo da fonte da rocha fosfatada, o conteúdo de Cd associado a minerais de apatita pode variar amplamente. Se a rocha fosfatada contém teores significativos de Cd, teores significativos desse elemento podem ser encontrados no superfosfato simples (SFS) e ácido fosfórico (H_3PO_4), por meio da acidulação da rocha fosfatada com ácido sulfúrico (H_2SO_4). Se o H_3PO_4 é usado para acidular a mesma rocha fosfatada, o superfofato triplo (SFT) resultante também irá conter elevados teores de Cd. O uso do H_3PO_4-Cd também resultará em contaminação do fosfato monoamônio e diamônio (MAP e DAP) (CHIEN; PROCHNOW; CANTARELLA, 2009) (Figura 1b).

Conceição e Bonotto (2006), ao analisarem o teor de poluentes durante o processamento industrial de rochas fosfatadas da região de Tapira (MG), verificaram que não mais de 11% de MPs são incorporados ao fosfato concentrado durante o processo de flotação (Figura 1a).

Como não há atualmente meio comercial para remoção completa desses poluentes durante a manufatura do fertilizante, e o teor de MPs no fertilizante é função do seu teor na rocha fosfatada, uma estratégia seria a seleção de jazidas com baixos teores de poluentes para a produção de fertilizantes (OOSTERHUIS; BROUWER; VIJNANTS, 2000; JAVIED et al., 2009). Os teores de Cd em fertilizantes fosfatados variam de 1 a 600 mg kg^{-1} (ALLOWAY, 1995; LÆGREID; BØCKMAN; KAARSTAD, 1999).

O uso desses fertilizantes fosfatados contribui de fato no aumento do teor de Cd nos solos, embora sem elevá-los a níveis críticos (RAMALHO; AMARAL SOBRINHO; VELLOSO, 1999; CAMARGO et al., 2000; CAKMAK et al., 2010). Mesmo que seja mínima a quantidade de MPs adicionado aos solos via fertilizante, é ainda desconhecido o efeito de contínuas aplicações sobre o ambiente e plantas.

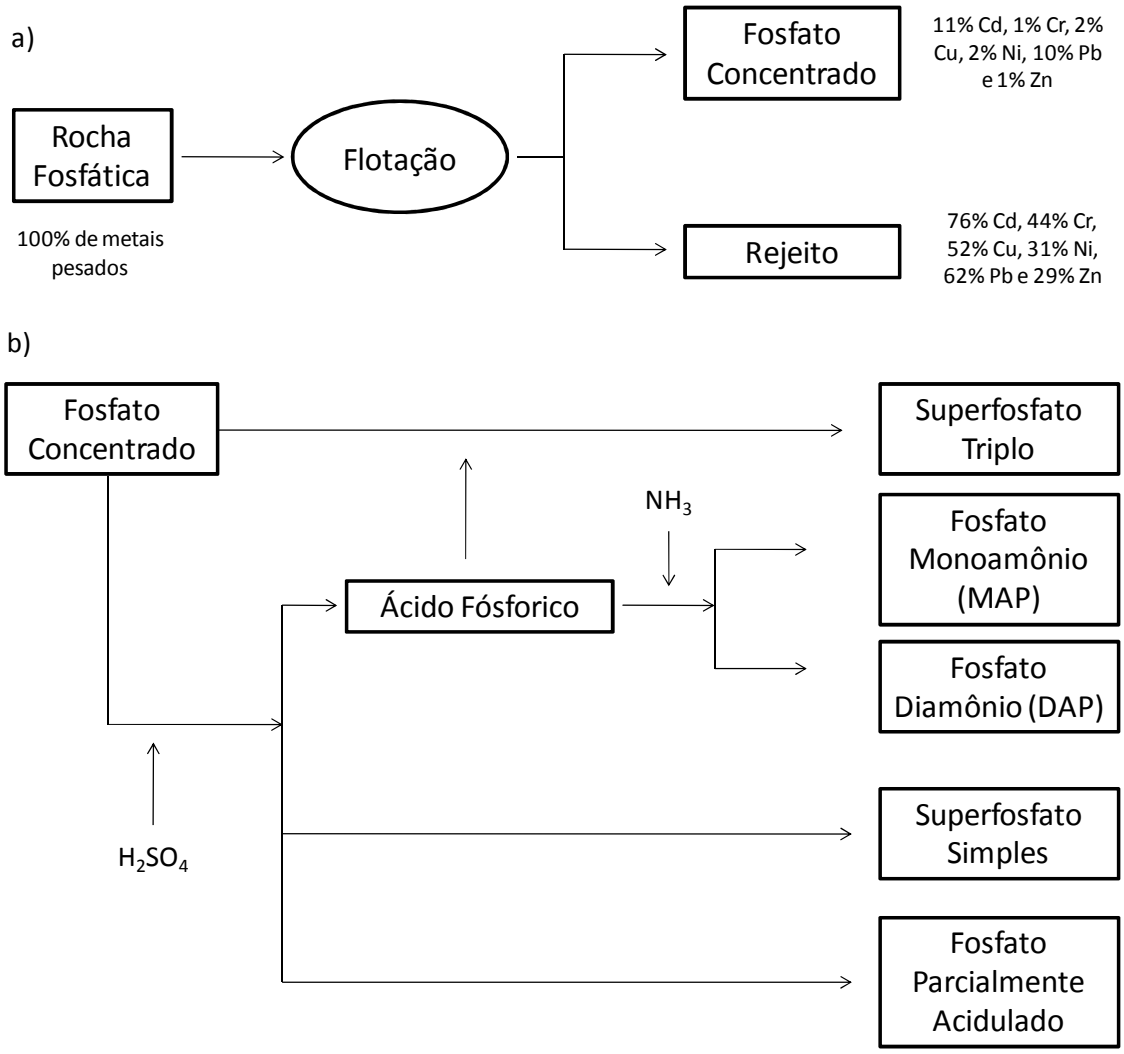

Figura 1 - a) Distribuição de metais pesados após o processo de flotação b) Rotas de fabricação de fertilizantes fosfatados no Brasil. Adaptado de Conceição e Bonotto (2006) e Cekinshi (1990).

A presença desses MPs nas plantas depende da sua forma química e dinâmica no solo. Ambientes ácidos geralmente aumentam a disponibilidade de metais nos solos. O Cd é preferencialmente móvel nos solos, e a forma desse metal absorvida pelas plantas é a do íon livre, Cd^{2+}, entretanto formas complexas como $CdCl_2^0$ e $CdCl^{1+}$ também podem ser absorvidas pelas plantas (WOLT, 1994). Isso ocorre principalmente em fertilizantes contendo KCl e P-Cd no mesmo grânulo, pois, devido ao maior contato, aumenta a possibilidade de formação desses complexos e de absorção pelas plantas (CHIEN et al., 2003).

Irregularidades foram também encontradas em “fritas” comercializadas no Brasil, pois os micronutrientes não estavam fundidos com silicatos, o que é característica desse produto, mas constituído apenas de mistura de micronutrientes (ALCARDE; VALE, 1999). O uso de resíduos industriais como fonte de micronutrientes em fertilizantes são práticas comuns e que tornam esses produtos fonte direta de contaminação (WATANABE, 1984; AMARAL SOBRINHO et al., 1992; RAIJ, 2001). Primavesi et al. (2000), ao analisarem a “frita” FTE BR 12 pela técnica de ativação neutrônica instrumental, constataram a presença de elementos que não são estudados comumente em sistemas agrícolas brasileiros, como o lantânio (La) e samário (Sm), em teores de 8.438 e 1.022 mg kg^{-1}, respectivamente.

Em um inventário sobre adição anual de MPs nos solos agrícolas da Inglaterra e País de Gales, Nicholson et al. (2003) verificaram outras fontes de contaminação além do uso de fertilizantes fosfatados. Para Zn e Cu, aproximadamente 40% da adição total anual foi derivado de esterco animal, 38 a 48% de deposição atmosférica e de 8 a 16% do uso de lodo de esgoto. Em contrapartida, 55 a 77% de Ni, Pb e As foram derivados de deposição atmosférica e somente de 6 a 27% de uso de esterco animal. Para Cd, 53% da adição anual foram de deposição atmosférica, 30% de fertilizantes inorgânicos (principalmente fertilizantes fosfatados) e 11% de esterco animal. A maior fonte de Cr para os solos agricultáveis foram fertilizantes fosfatados, lodo de esgoto e deposição atmosférica. Mais de 85% da adição de mercúrio (Hg) foram derivados da deposição atmosférica.

A deposição atmosférica e acumulação de Cd na parte aérea das plantas também foram verificadas por outros autores (CAKMAK et al., 2000). Em experimentos com cevada, cenoura, repolho e centeio realizados em área rural da Dinamarca, observou-se que 20 a 60% do total de Cd presente na plantas resultaram diretamente da deposição atmosférica na superfície foliar (HOVMAND; TJELL; MOSBAEK, 1983).

O estudo da adição de MPs nos solos agrícolas é de grande importância, visto que somente com esse conhecimento é possível o desenvolvimento de políticas de proteção de solos com o objetivo de reduzir a adição e evitar a contaminação de toda a cadeia alimentar (NICHOLSON et al., 2003).

2.3 Metais pesados na planta e sua entrada na cadeia alimentar

A absorção, o transporte e a redistribuição dos MPs, micronutrientes ou não, têm muita semelhança aos macronutrientes de modo geral (MALAVOLTA, 1994).

Malavolta (1989) descreve três processos de absorção: intercepção radicular, fluxo de massa e difusão. As características químicas que determinam o comportamento desses elementos no solo, tais como valência, grau de hidratação, raio iônico, estado de oxidação, sugerem que o Cr e Ni tenham o processo semelhante ao do ferro (Fe) e Mn. O Pb deve entrar em contato por difusão, já que a facilidade com que é imobilizado no solo deve restringir o seu movimento por fluxo de massa. A baixa solubilidade e disponibilidade de Pb para as plantas ocorre pela formação de precipitados como fosfatos e sulfatos, formas químicas comumente encontradas na rizosfera (BLAYLOCK; HUANG, 2000).

Os MPs podem ocorrer na solução do solo em forma iônica ou complexado com complexos orgânicos. Os íons absorvidos são: Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+} ($>Fe^{3+}$), Mn^{2+}, $HMoO^{4-}$, MoO_2^{4-}, Ni^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Cr^{2+}, Pb^{2+} (MALAVOLTA, 1994).

Baker (1981) sugere a classificação das plantas em três categorias: (1) *excludentes*: aquelas que, mesmo em ambiente contaminado, mantêm baixa a concentração de MPs na parte aérea; (2) *acumuladoras*: plantas que acumulam MPs na parte aérea; e (3) *indicadoras*: a absorção e o transporte de MPs para a parte área são regulados, de modo que a concentração interna reflita externamente na planta, ao menos até ocorrer toxicidade.

Inúmeras reações bioquímicas ocorrem em plantas *"estressadas"* por MPs. Essas reações são produzidas pelo deslocamento do centro catiônico das proteínas, pela alta afinidade de MPs às proteínas, alterando sua atividade e pelo aumento de espécies reativas de oxigênio, criando desequilíbrios e perturbações, interferindo nos processos funcionais das plantas (BARCELÓ; POSCHENRIEDER, 1992; PERALTA-VIDEA et al., 2009).

As plantas apresentam diversos mecanismos para diminuir ou neutralizar os efeitos dos MPs (de LA ROSA et al., 2005). Dentre eles, a complexação de MPs pela liberação de exsudatos, restrição no transporte da raiz para a parte aérea, exclusão de metais, produção de compostos intracelulares com propriedades quelantes e sequestro em organelas específicas como os vacúolos ou em estruturas como os tricomas (STEFFENS, 1990; CLEMENS, 2001). Em microrganismos e plantas, MPs podem ser incorporados do meio para o citoplasma por transportadores catiônicos de macro e micronutrientes, como Ca, Fe, Mn e Zn. Uma vez

dentro do citoplasma, o metal pode ser expulso pela bomba de ATP-ase ou armazenado dentro do vacúolo (MILLS et al., 2003). Outra estratégia usada pelas plantas é a ligação entre o elemento e grupos funcionais contendo O (como as ligninas), N e S, todos resultando na inativação final do MP na parede celular (DUPONT et al., 2003). Esses mecanismos podem ocorrer de forma isolada ou simultânea, conferindo maior tolerância ao estresse causado pela presença de MPs.

Dessa maneira, a toxidez do elemento à planta deve ser acompanhada e monitorada pelas seguintes variáveis: diminuição do crescimento ou redução na colheita, sintomas visíveis e concentração no tecido (BECKETT, 1991), pois muitas vezes as plantas podem estar contaminadas, embora não apresentem sintomas visíveis de toxidez (JULIATTI et al., 2002).

Marschner (1983) e Berton (2000) relatam que, de modo geral, os teores de MPs, incluindo micronutrientes, apresentam concentrações na matéria seca na seguinte ordem decrescente: folhas > raízes de reserva > tubérculos > frutos carnosos > sementes. Segundo Adriano (1986), os elementos boro (B), Mn, Ni e Zn apresentam-se uniformemente distribuídos entre raízes e parte aérea. Os elementos Co, Cu, molibdênio (Mo) e Cd encontram-se em maior concentração nas raízes e quantidades moderadas na parte aérea e o Cr, Pb, prata (Ag), estanho (Sn), titânio (Ti) e V encontram-se principalmente nas raízes, e em menores concentrações na parte aérea. Esses padrões de distribuição, entretanto, podem ser modificados com a espécie vegetal e níveis do elemento no solo.

A concentração e o acúmulo de MPs nos tecidos das plantas dependem das características do solo, como teor de matéria orgânica, pH e mineralogia da fração argila, sendo esses os principais fatores que influenciam a biodisponibilidade dos MPs na solução do solo (MARQUES; MOREIRA; SIQUEIRA, 2000; SANTOS; LAURIA; PORTO DA SILVEIRA, 2004). Hooda et al. (1997) verificaram que a concentração total do MP no solo é o principal fator que controla o conteúdo de MPs nas plantas, seguido do pH, e sugerem que a fração argila dos solos não prediz a acumulação de metais nos vegetais.

Os níveis tóxicos dos MPs para as plantas ainda são pouco conhecidos. Concentrações tóxicas foram sugeridas para alguns MPs (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001), porém esses valores são muito amplos e variáveis.

Há grande variação quanto à sensibilidade de espécies vegetais aos MPs. Em revisão realizada por Adriano (1986), 48 culturas foram classificadas de muito sensíveis a muito tolerantes a diversos MPs. Observou-se que a sensibilidade à presença de MPs no solo diminui na seguinte ordem para essas culturas: amendoim (*Arachis hypogaea* L.), soja

(*Glycine max* L. Merril) e milho (*Zea mays* L.), porém a tolerância ou sensibilidade também pode variar dentro da mesma espécie vegetal (ANTONIOUS; SNYDER, 2007).

A acumulação excessiva de MPs em solos agrícolas resulta não somente na contaminação do solo, mas também afeta a qualidade e segurança alimentar (MUCHUWETI et al., 2006). Como os vegetais constituem parte importante da dieta humana, já que contêm carboidratos, proteínas, assim como vitaminas e minerais, a qualidade do alimento deve ser monitorada, pois a absorção pelas plantas é uma das principais vias de acesso de MPs à cadeia alimentar (ANTONIOUS; KOCHHAR, 2009).

Os vegetais podem acumular MPs em suas partes comestíveis (BAHEMUKA; MUBOFU, 1991) e não comestíveis em quantidades suficientes para causar problemas clínicos, tanto para animais e seres humanos (ALAM; SNOW; TANAKA, 2003). A acumulação excessiva de MPs como Cd, Cr e Pb no organismo humano pode acarretar graves problemas de saúde (OLIVER, 1997), podendo exaurir alguns nutrientes essenciais ao organismo, causando redução nas defesas imunológicas, retardo de crescimento intra-uterino, alteração do comportamento psico-social, deficiências associadas à desnutrição e câncer gastrointestinal (ARORA et al., 2008). Lactuşu et al. (1996) relataram que solos e vegetais contaminados com Pb e Cd em *Copsa Mica* e *Baia Mare*, *Romênia*, contribuíram significativamente para a diminuição da expectativa de vida humana em 9-10 anos dentro das áreas afetadas.

Chaney e Oliver (1996) afirmaram que as plantas se comportam, não só como mecanismo de transferência de contaminantes do solo para níveis mais altos na cadeia trófica, mas também como importante barreira para essa transferência. Chaney (1980) propôs o conceito de “Barreira Solo-Planta”, referindo-se aos diferentes grupos de elementos e sua absorção pelas plantas: Grupo 1 - encaixam-se os elementos insolúveis no solo [Ti, Cr, zircônio (Zr), Ag e Sn], de forma que a planta não constitui fonte de transferência, mesmo quando o solo está altamente contaminado. Grupo 2 - inclui elementos passíveis de absorção (Hg e Pb), embora não são translocados para a parte aérea em quantidades suficientes para causar risco à cadeia trófica. Grupo 3 - compreendem os elementos Zn, Cu, Ni, B, Mn e aqueles para os quais a planta não consegue fazer proteção contra a sua entrada na cadeia alimentar. Grupo 4 - encaixam-se os elementos selênio (Se), Mo e Cd, conhecidos pela toxicidade aos seres humanos.

Embora o vapor de mercúrio seja altamente tóxico, os quatro MPs, Hg, Pb, Cd e As, nas suas formas de elementos livres condensados, não são particularmente tóxicos. Porém, os quatro são perigosos nas suas formas catiônicas e também quando ligados a cadeias curtas de

átomos de carbono. Do ponto de vista bioquímico, o mecanismo de ação tóxica deriva da forte afinidade dos cátions pelo enxofre. Assim, os grupos sulfidrila (-SH), que ocorrem comumente nas enzimas que controlam a velocidade de reações metabólicas de importância crítica no corpo humano, ligam-se rapidamente aos cátions de MPs ingeridos ou a moléculas contendo tais metais. Pelo fato da ligação resultante metal-enxofre afetar a enzima como um todo, ela não pode atuar com normalidade, e, em consequência, a saúde humana vê-se afetada de maneira desfavorável, às vezes fatal. As reações dos cátions de MPs M^{2+}, onde M é Hg, Pb ou Cd, com as unidades sulfidrila das enzimas R-S-H para produzir sistemas estáveis, tal como R-S-M-S-R, é análoga à reação com o composto inorgânico simples H_2S, com o qual produzem a espécie insolúvel MS (BAIRD, 2002).

Dessa maneira, o consumo de alimentos sem devidas precauções pode ser perigoso, já que estes, mesmo não apresentando sintomas visíveis, podem estar contaminados com MPs.

2.4 Teores fitodisponíveis de metais pesados

A crescente preocupação com a presença de vários poluentes no ambiente tem resultado no desenvolvimento de inúmeros procedimentos analíticos para a determinação de MPs (SCANCAR; MILACIC; HORVAT, 2000). Não existe um único teste de solo para avaliar com precisão os riscos devido à contaminação dos solos com MPs (McLAUGHLIN et al., 2000), e para evitar o uso de diferentes extratores, extratores multielementares têm sido extensivamente testados (SIMS, 1989; RAIJ, 1994; ABREU; ABREU; BERTON, 2002) e são atualmente preferidos.

Quando a fitodisponibilidade de MPs em solos é avaliada, a concentração total e as espécies disponíveis de metais devem ser consideradas (de VRIES et al., 2005). A análise do conteúdo total prevê informação da acumulação de MPs nos solos, entretanto não indica a disponibilidade e mobilidade desses metais, pois nem todas as formas presentes no solo estão disponíveis às plantas. Portanto, é importante prever a disponibilidade de MPs, ao invés do teor total, para avaliar os efeitos tóxicos às plantas e aos seres humanos (ZHANG; LIU; WANG, 2010).

A fitodisponibilidade de MPs pode ser avaliada usando-se extrator químico apropriado, no qual a quantidade extraída é correlacionada com o acúmulo ou com a concentração do elemento na folha diagnóstico, sendo esse sistema o mais empregado em pesquisas (ABREU; ABREU; BERTON, 2002).

Os extratores ácidos solubilizam os elementos, principalmente pela dissolução dos minerais de argila, sendo a quantidade dependente da concentração do ácido, do tempo de extração e da relação solo/solução. As soluções ácidas mais usadas para extração de formas disponíveis de MPs no solo para as plantas são HCl 0,1 mol L^{-1} e Mehlich-1 (H_2SO_4 0,0125 mol L^{-1} + HCl 0,05 mol L^{-1}).

As soluções quelantes combinam-se com o íon metálico em solução formando complexos solúveis, diminuindo a sua atividade iônica na solução do solo. Em consequência, os íons dessorvem da superfície do solo ou da fase sólida para restabelecer o equilíbrio das formas iônicas na solução (ABREU; ABREU; BERTON, 2002). Os agentes quelantes mais utilizados, visando à seleção de métodos químicos para avaliar a fitodisponibilidade de MPs em amostras de solos brasileiros, são EDTA e DTPA pH 7,3 (BATAGLIA; RAIJ, 1994), sendo o último mais difundido (ABREU et al., 1995).

O DTPA pH 7,3 (LINDSAY; NORVELL, 1978) foi desenvolvido para estimar a fitodisponibilidade de Cu, Fe, Mn e Zn em solos de reação próxima à neutralidade, e o Mehlich-1 para verificar a disponibilidade de P e cátions trocáveis. Esses métodos, entretanto, tiveram seu uso ampliado e atualmente têm sido utilizados também para Pb, Cd e Ni. (MATTIAZZO; BERTON; CRUZ, 2001).

Uma das principais críticas aos extratores químicos é que, nas condições de acidez da maioria dos solos brasileiros, os resultados são pouco conclusivos na previsão da fitodisponibilidade (ANDRADE; MATTIAZZO, 2000; OLIVEIRA, 2000; ANJOS; MATTIAZZO, 2001). As baixas correlações se devem ao fato de que os extratores usados não simulam as reações que ocorrem na rizosfera (BERTON, 2000). Marschner (1995) cita que ácidos orgânicos de baixo peso molecular presentes na rizosfera são efetivos na solubilização de metais ligados à fração sólida do solo.

Pires, Mattiazzo e Berton (2004), utilizando solução composta de ácidos orgânicos (acético, cítrico, lático e oxálico), para avaliar fitodisponibilidade de Cd, Cu, Ni, Pb e Zn em plantas cultivadas em solos tratados com lodo de esgoto, observaram que a solução extratora mostrou-se eficiente em avaliar a fitodisponibilidade de elementos traço, principalmente o Pb.

O conhecimento da disponibilidade de MPs em solos agrícolas é importante para a avaliação do potencial de entrada desses elementos na cadeia alimentar, podendo auxiliar no isolamento de áreas agrícolas contaminadas ou no manejo adequado das mesmas.

2.5 Técnica isotópica

O emprego de técnicas isotópicas para estudos de nutrição de plantas e fertilidade de solo tem demonstrado há décadas sua importância (NEPTUNE; MURAOKA; SFTEWART, 1979; VOSE, 1980; VILLANUEVA et al., 2008). Segundo Muraoka (1991) o uso das técnicas isotópicas apresenta duas vantagens inerentes: (i) extrema sensibilidade, com possibilidade de detecção do elemento na ordem de grandeza de 10^{-15}g e (ii) possibilidade de separar, por exemplo, na planta o elemento proveniente do fertilizante, do solo ou de outra fonte.

O cádmio possui quatro radioisótopos (^{107}Cd, ^{109}Cd, ^{115}Cd e ^{117}Cd), entretanto somente um pode ser utilizado como traçador em estudos de fertilidade de solo, o ^{109}Cd. Uma característica importante desse radionuclídeo é a meia-vida, que é definida como o tempo necessário para que a atividade de uma amostra se reduza a metade da atividade inicial. O tempo de meia-vida do ^{109}Cd é de 450 ± 5 dias, diferentemente dos outros isótopos que é de algumas horas.

O ^{109}Cd decai por captura eletrônica (CE)[2] e gera ^{109m}Ag (prata metaestável). A ^{109m}Ag decai com 96% de probabilidade por conversão interna (CI)[3] (45% de CI pela camada K + 48% pela camada L + 3% por outras camadas eletrônicas) e com 4% de probabilidade por emissão de raios gama (L'ANNUNZIATA, 2007), conforme ilustrado na figura 2.

A atividade do radionuclídeo ^{109}Cd é determinada pelo número de partículas γ emitidas, denominadas desintegração por segundo (dps). A unidade internacional padrão da dps é o Bequerel (Bq) e a estimativa da atividade do ^{109}Cd ao longo do tempo é dada pela equação (1) (KAPLAN, 1978):

$$A = A_0\, e^{-0,693\, t / T} \quad \text{.....} \quad (1)$$

em que A é a atividade final do radionuclídeo (Bq), A_0 é a atividade inicial do radionuclídeo (Bq), *e* é o logaritmo neperiano, t é o decaimento em dias e T é o tempo de meia-vida (450 dias).

---

[2] O elétron da camada K é puxado para dentro do núcleo e se transforma em nêutron ($p^+ + e^-_k \rightarrow n^0$), e a vacância livre é ocupada por um elétron de outra camada, emitindo raio-X.

[3] Um núcleo num estado excitado pode passar espontaneamente para um estado do mesmo núcleo, mas de menor energia, tanto emitindo um raio γ com energia *hν* igual à diferença entre as energias dos dois estados nucleares, como dando energia a um elétron nas camadas K -, L -,..., do mesmo átomo. O elétron é ejetado com uma energia cinética, onde E_K, E_L,..., são as energias de ligação do elétron nas camadas K, L,..., respectivamente.

Nas plantas, a atividade do radionuclídeo é representada pela atividade específica, dada por (DI; CONDRON; FROSSARD, 1997):

$A_e = A / Cd_{Total}$ ..... (2)

em que A_e é a atividade específica do radionuclídeo (Bq μg^{-1} Cd), A é a atividade do radionuclídeo na planta (Bq) e Cd_{Total} é o conteúdo de cádmio na planta (µg de Cd).

O mais rigoroso método para avaliar a biodisponibilidade de íons metálicos no solo é pela medida direta da porção lábil, usando a técnica de diluição isotópica com traçadores radioativos (MURAOKA; NEPTUNE; NASCIMENTO FILHO, 1983a; 1983b; NAKHONE; YOUNG, 1993; HAMON et al., 1998; ALMAS; SINGH; SALBU, 1999; SMOLDERS et al., 1999; STANHOPE et al., 2000; ALMAS; SINGH, 2001). Essa técnica fornece informações sobre a origem e o destino do elemento em estudo no sistema solo-planta, que não poderiam ser obtidas por métodos convencionais. A maior vantagem desse método, em relação ao método da diferença, é que a razão isotópica do elemento pode ser alterada sem que ocorra aumento significativo da concentração original do mesmo no sistema em estudo, causando o mínimo de distúrbios.

A utilização da técnica conhecida como “Valor L” (LARSEN, 1952) consiste essencialmente em marcar o solo com solução isotopicamente marcada (^{109}Cd) e mede-se a razão isotópica na planta (atividade específica do Cd) do Cd fornecido pelo solo marcado, ou seja, é a quantidade de Cd disponível que é isotopicamente trocável e determinado pela relação de radioatividade específica na planta e uma solução do elemento Cd.

Dados os fenômenos de troca e diluição isotópica entre o radionuclídeo ^{109}Cd adicionado e o elemento Cd-lábil do solo, a disponibilidade (fator quantidade) do elemento Cd do solo pode ser avaliada pelo “Valor L”, conforme descrito por Neptune e Muraoka (1978).

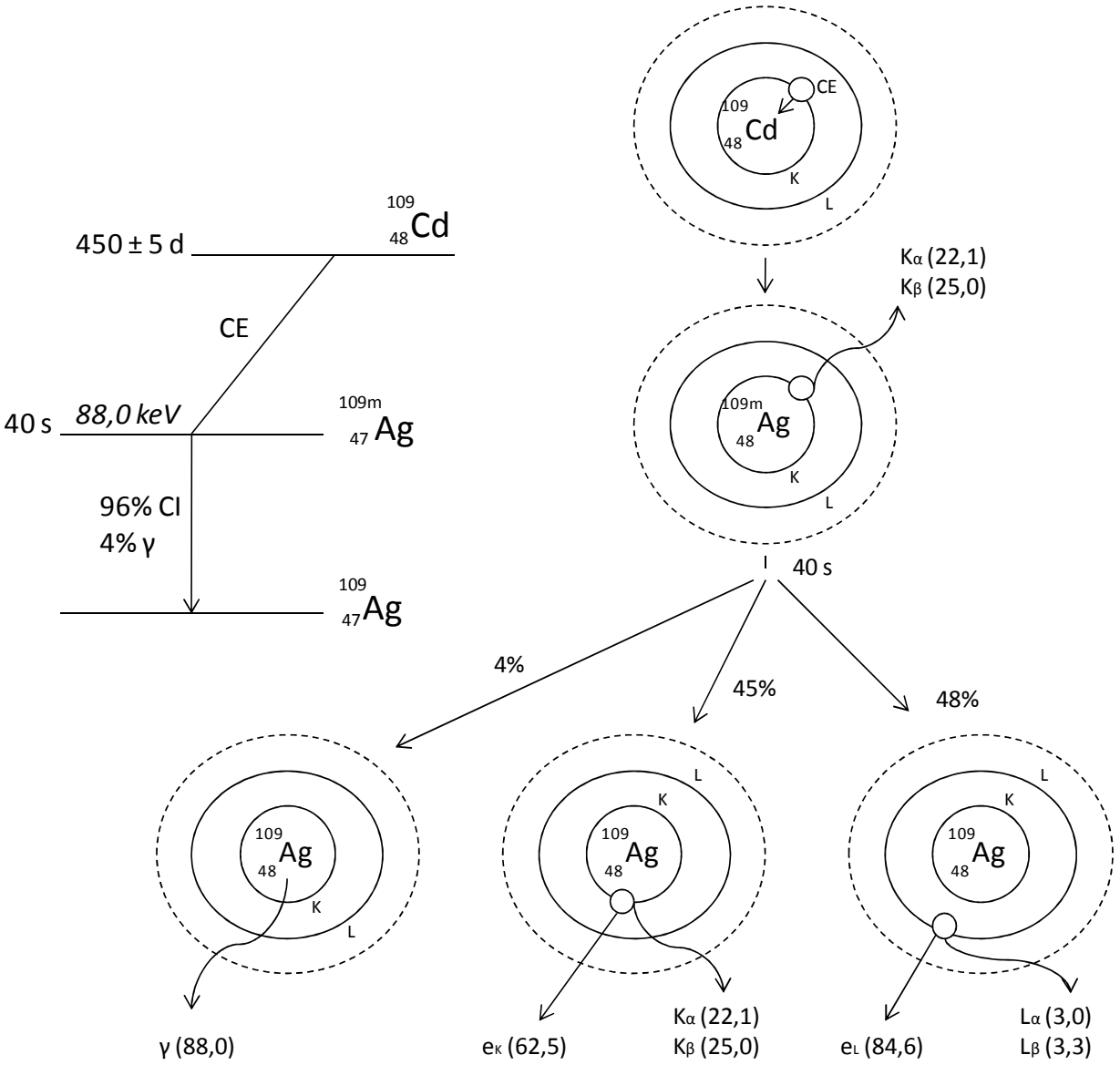

Figura 2 - Esquema de decaimento do ^{109}Cd (^{109m}Ag). O número entre parênteses indica o valor da energia em keV. O processo de captura eletrônica (CE) ocorre nas camadas k, L e outras camadas com probabilidades de 79, 17 e 4%, respectivamente, mas somente a captura da camada K é representada acima. A ^{109m}Ag decai por emissão de raios gama (88,0 keV) com 4% de probabilidade ou por conversão interna (CI) com probabilidades de 45 e 48% para as camadas K e L, respectivamente. CI de camadas superiores contribui com somente 3% (não ilustrada). O decaimento da camada K e L por conversão interna envolve a expulsão de um elétron com energia e_K = 62,5 keV ou e_L = 84,6 keV, acompanhado pela emissão de raio X da Ag (K_α = 22,1; K_β = 25,0 keV ou L_α = 3.0; L_β = 3.3 keV) (L'ANNUNZIATA, 2007)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESCRIÇÃO DA 1ª ETAPA

3.1.1 Seleção de amostras vegetais

Amostras vegetais foram coletadas em Agosto de 2009 na Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), localizado na cidade de São Paulo (23º32'14" S e 46º44'14" W; 723 m), que mantém a maior rede pública de armazéns do Estado de São Paulo e um complexo de 13 centrais atacadistas, que asseguram o abastecimento de grande parte do estado. A CEAGESP administra o maior entreposto atacadista de hortifrutigranjeiros da América Latina, sendo o terceiro maior do mundo em volume de comercialização. Destaca-se pelo volume comercializado que, em 2008, atingiu a marca de 3,114 milhões de toneladas de frutas, verduras, legumes, flores, pescado e outros (CEAGESP, 2008).

Os vegetais coletados foram classificados em frutas, legumes, verduras e diversos (tubérculos, bulbos, arroz e feijão), conforme a organização estabelecida pela CEAGESP. Em função da diversidade de espécies vegetais, foram selecionados os produtos mais comercializados no ano de 2008 dentro de cada grupo, os quais foram coletados em agosto de 2009, compreendendo 223 amostras de 83 espécies vegetais.

3.1.2 Definição das amostras vegetais

Para as frutas, legumes e diversos, a amostra constitui-se de uma unidade, independente do peso ou tamanho; uvas, de um cacho, e no caso de morango, 5 unidades. Cada amostra de arroz e feijão foi constituída de 100 gramas. Para as verduras, a amostra constitui-se um pé, no caso de alface, ou um maço, no caso de rúcula, independente do peso ou tamanho.

3.1.3 Tratamento das amostras

As amostras foram identificadas e armazenadas em sacos plásticos até o retorno ao laboratório, onde foram pesadas e lavadas com água corrente para a remoção de impurezas na superfície, da mesma maneira que seria feito durante o processo de preparo do alimento por uma dona de casa (CHARY; KAMALA; RAJ, 2008). Em seguida, os vegetais foram

separados em partes comestíveis e não comestíveis. As partes comestíveis foram pesadas, lavadas em água deionizada, secas em papel toalha para retirada do excesso de água, colocadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas. Feito isso, procedeu-se a pesagem, em balança analítica com exatidão de 0,01 g, e moagem das amostras em moinho tipo Willey.

3.1.4 Digestão das amostras

As amostras vegetais foram submetidas à digestão por via úmida, com ácido nítrico (HNO_3) e ácido perclórico ($HClO_4$) na proporção de 3:1. Pesou-se 1,0 g do material vegetal em tubo digestor, adicionou-se 8,0 ml da mistura ácida, deixando em repouso por 12 horas. A seguir, os tubos foram levados ao bloco digestor e aquecidos lentamente até 120ºC, mantendo a temperatura até cessar o desprendimento do vapor castanho de NO_2. Em seguida, a temperatura foi aumentada gradativamente até 220ºC e mantida até cessar o desprendimento do vapor branco de $HClO_4$ e iniciar clareamento e redução do volume do extrato. Após esfriar, os extratos foram diluídos com água deionizada a 25 ml e transferidos para frascos (MIYAZAWA et al., 2009).

Todas as análises foram feitas em triplicata. Os teores de Cd, Pb, Ni, Co e Cr foram determinados por espectrometria de absorção atômica (Varian AA140), no Laboratório de Fertilidade do Solo, do CENA/USP.

3.1.5 Controle de Qualidade

Visando verificar a confiabilidade das análises, foram analisadas amostras certificadas pelo “National Intitute of Standards and Technology” (NIST) – SRM 1515 (Apple Leaves) e SRM 2710 (Montana Soil). Essas amostras certificadas foram também utilizadas para verificar o desempenho dos métodos de extração nas etapas posteriores.

3.1.6 Análises dos dados

3.1.6.1 Ingestão diária de metais pesados

Para a avaliação da ingestão diária, foi calculada a concentração média de MPs em cada vegetal e multiplicada pela respectiva taxa de consumo estabelecida pelo IBGE (2004), que para crianças (0-6 anos) foi considerada em 1/3 da dos adultos. A estatística descritiva (média e coeficiente de variação) foi realizada com auxílio do software Excel.

3.1.6.2 Coeficiente de avaliação de risco (HQ)

O risco à saúde humana pela ingestão de alimentos contaminados por MPs foi caracterizado pelo coeficiente de avaliação de risco (HQ) (US EPA, 1989; CHIEN et al., 2002; CHARY; KAMALA; RAJ, 2008). HQ é a razão entre a exposição e a ingestão máxima permitida (R_fD). Se a razão for inferior a um (1), não haverá risco aparente ao consumir o alimento. O coeficiente de avaliação de risco (HQ) foi calculado segundo a equação (3),

$$HQ = (Div) \times (C_{metal}) / R_fD \times B \quad (3)$$

em que *(Div)* é a ingestão diária de vegetais (kg dia^{-1}), (C_{metal}) é a concentração média de metal pesado no vegetal (mg kg^{-1} peso úmido), R_fD é a ingestão diária máxima permitida para cada metal pesado (mg kg^{-1} de peso corpóreo dia^{-1}) e *B* é o massa corpórea humana (kg). R_fD é uma estimativa de exposição oral diária por um período agudo (24 horas ou menos) para a população humana, que não apresenta risco de efeitos deletérios durante o decorrer da vida, geralmente utilizado nas avaliações de efeitos cancerígenos da EPA.

Valores de R_fD para Cd (0,001 mg kg^{-1}), Ni (0,02 mg kg^{-1}) e Cr (1,5 mg kg^{-1}) foram retirados da Integrated Risk Information System (USEPA, 2010). O valor de R_fD para Pb (0,0035 mg kg^{-1}) foi retirado da Organização Mundial da Saúde (WHO, 1993). Não há consenso sobre R_fD para Co, dessa maneira, a ingestão diária máxima permitida foi estimada em 0,043 mg kg^{-1} (FOOD AND NUTRITION BOARD, 2004). B foi considerado como sendo a massa corpórea de 70 kg para um indivíduo adulto (WHO, 1993), e 19,25 kg para crianças de 0-6 anos de idade (IBGE, 2006).

3.1.6.3 Índice de avaliação de risco (HI)

Para avaliar o potencial de risco à saúde humana por meio da interação e/ou adição de dois ou mais MPs, foi calculado o índice de avaliação de risco (HI) (US EPA, 1989; HUANG; ZHOU; ZHAO, 2008; HANG et al., 2009). O índice de risco é o somatório dos coeficientes de risco, como demonstrado na equação (4).

$$HI = \sum HQ = HQ_{Cd} + HQ_{Ni} + HQ_{Pb} + HQ_{Co} + HQ_{Cr} \quad (4)$$

3.1.7 Seleção das culturas para as etapas posteriores

Os vegetais foram selecionados em função dos teores de Cd (mg kg^{-1} peso seco do material) encontrados na parte comestível das plantas. A partir da identificação do grupo de plantas de maior acúmulo de Cd, a seleção das cinco culturas para as etapas posteriores foi em função do potencial de extração de Cd (Teste Tukey ($p \leq 0,05$)) e da disponibilidade das culturas na ocasião da coleta de campo.

3.2 DESCRIÇÃO DA 2ª ETAPA

A partir da etapa anterior, cinco culturas foram selecionadas pelo maior potencial de translocação de cádmio para a cadeia alimentar. Foram avaliadas diretamente nos campos de produção através da análise do nível de contaminação dos solos agrícolas, assim como os teores de Cd nas plantas coletadas nesses locais. Para avaliação, foram selecionados cinco locais diferentes de produção por cultura selecionada da primeira etapa.

3.2.1 Caracterização dos campos de produção

As culturas selecionadas na etapa anterior foram coletadas diretamente nos campos de produção em cinco municípios do Estado de São Paulo (Figura 3). Localizados em pontos estratégicos do estado, nas proximidades da Rodovia Anhanguera e da Via Dutra, os municípios caracterizam-se por intensa atividade agrícola e/ou industrial, e pela facilidade de escoamento da produção. A produção de hortaliças nos municípios é destinada a pequenos

varejões e supermercados no próprio município, como também aos grandes centros comerciais.

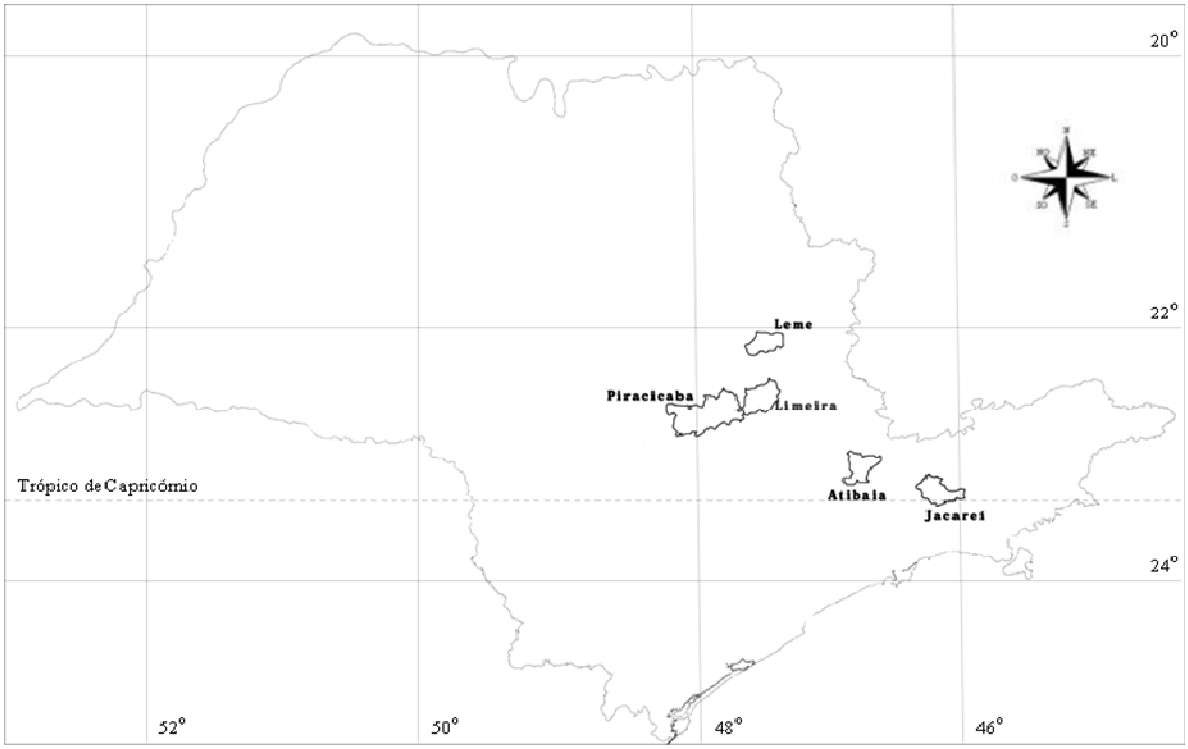

Figura 3 - Localização dos municípios para coleta de solos e hortaliças no Estado de São Paulo

3.2.1.1 Locais de coleta

Município de Piracicaba (22°43'31" S e 47°38'57" W; altitude 547 metros): produção focada em hortaliças, as quais são comercializadas no próprio local de produção ou destinadas a pequenos varejões do município. A produção está localizada em área urbana.

Município de Limeira (22°33'53" S e 47°24'06" W; altitude 588 metros): propriedade familiar focada na produção de hortaliças e frutas cítricas, que são comercializadas no local ou destinadas a pequenos restaurantes do município. Propriedade situada em zona rural, a poucos quilômetros da Rodovia Anhanguera.

Município de Leme (22°11'08" S e 47°23'25" W; altitude 619 metros): propriedade familiar focada na produção de hortaliças e milho para silagem, e estes são destinados à supermercados e restaurantes do município. Propriedade situada em zona rural, próxima à Rodovia Anhanguera e mineradora de pedra brita.

Município de Atibaia (23°07'01" S e 46°33'01" W; altitude 803 metros): produção de hortaliças em larga escala, destinadas a redes de hipermercados e centrais de abastecimento do Estado de São Paulo. Propriedade situada em zona rural, às margens da Rodovia Via Dutra.

Município de Jacareí (23°18'19" S e 45°57'57" W; altitude 567 metros): produção de hortaliças em larga escala, destinadas a redes de hipermercados e centrais de abastecimento do Estado de São Paulo. Propriedade situada em zona rural do município, às margens da Rodovia Via Dutra.

3.2.2 Solos

As amostras de terra foram coletadas da camada superficial (0-0,2 m), utilizando material em aço inoxidável, de acordo com os procedimentos estabelecidos pela CETESB (2001), de forma a evitar a contaminação das amostras. Dentro de cada canteiro de produção, foram retiradas 20 subamostras para composição de uma amostra composta, totalizando 3 amostras por canteiro. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e transportadas ao laboratório. Na Tabela 1, encontram-se as identificações das amostras de terra.

Tabela 1 - Identificação das amostras de terra

Amostra	Local	Cultura
1	Piracicaba	Alface Crespa / Coentro / Espinafre / Rúcula / Salsa
2	Limeira	Alface Crespa / Coentro / Espinafre / Rúcula / Salsa
3	Leme	Alface Crespa
4	Leme	Espinafre
5	Leme	Rúcula / Salsa
6	Atibaia	Coentro
7	Atibaia	Alface Crespa / Salsa
8	Atibaia	Rúcula
9	Jacareí	Coentro
10	Jacareí	Alface Crespa
11	Jacareí	Salsa
12	Jacareí	Rúcula

As amostras de solo foram secas ao ar, passadas em peneira com abertura de malha de 2 mm, de aço inoxidável, e quimicamente caracterizadas conforme métodos rotineiros descritos em Raij et al. (2001): pH em $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}, matéria orgânica, P disponível (resina), Ca, Mg, K, acidez total (H+Al), soma de bases (SB), capacidade de troca de cátions (CTC) e saturação por bases (V%). As análises físicas foram realizadas conforme metodologia descrita por Camargo et al. (1986).

Os atributos físicos e químicos das amostras de terra encontram-se representados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 - Análises físicas das amostras de terra

Amostras	Argila	Silte	Areia
	------- g kg^{-1} -------		
Piracicaba	65	5	30
Limeira	55	5	40
Leme	53	7	40
Atibaia	43	4	53
Jacareí	35	10	55

Granulometria: método da pipeta (Camargo et al., 1986)

Tabela 3 - Características químicas das amostras de terra

Amostras	P	MO	pH	K	Ca	Mg	H+AL	SB	CTC	V	S	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg dm^{-3}	g dm^{-3}	$CaCl_2$	----------	----------	----------	$mmol_c$ dm^{-3}	----------	----------	%	----------	----------	mg dm^{-3}	----------	----------
1	312	26,8	5,7	5,7	69,2	23,6	22,7	98,5	121,2	81,2	6,9	4,6	105,5	22,3	6,5
2	415	31,0	4,6	5,3	54,9	25,8	54,5	86,0	140,4	61,2	19,1	5,1	91,3	8,3	9,6
3	506	11,3	6,0	7,2	104,8	41,5	27,2	153,5	180,7	85,0	7,6	10,2	36,2	22,5	26,2
4	197	24,0	5,2	3,8	74,2	19,5	40,1	97,5	137,6	70,8	16,0	6,8	74,1	33,8	9,8
5	819	26,8	5,8	4,2	120,5	40,9	30,8	165,6	196,4	84,3	14,7	15,6	45,7	17,8	16,4
6	430	32,4	4,7	3,7	46,6	16,4	69,4	66,7	136,1	49,0	13,1	5,9	109,2	8,1	18,3
7	488	29,6	5,3	5,8	69,1	28,6	40,1	103,6	143,7	72,1	12,0	5,0	93,9	11,1	22,1
8	60	18,3	4,8	5,3	25,4	10,0	36,1	40,7	76,8	53,0	17,6	2,8	53,8	44,3	3,8
9	909	327,1	5,4	3,4	282,1	105,1	83,0	390,5	473,5	82,5	22,2	3,0	322,1	4,7	27,9
10	1154	98,7	5,4	11,8	249,3	76,9	65,1	338,0	403,1	83,8	11,3	13,3	346,9	12,9	60,1
11	1433	80,4	5,1	15,1	218,4	49,6	84,7	283,1	367,9	77,0	38,5	26,7	291,1	23,9	62,3
12	828	200,2	4,7	10,5	206,8	48,7	162,8	265,9	428,7	62,0	28,3	12,2	399,2	2,6	29,1

MO: método Walkley e Black (Raij et al., 2001); P, K, Ca e Mg: método da resina trocadora de íons; H+Al (acidez potencial): tampão SMP; S: extração com $CaCl_2$ 0,15%; micronutrientes: DTPA a pH 7,3 (Raij et al, 2001).

3.2.2.1 Análises Químicas

3.2.2.1.1 Determinação do teor total de Cd

A digestão total das amostras de terra foi realizada pelo método via úmida, através da mistura dos ácidos fluorídrico (HF), nítrico (HNO_3) e perclórico ($HClO_4$) na proporção de 3:3:1 (MURAOKA, 1984). Essa mistura é capaz de colocar em solução os MPs que estejam associados a todas as fases ou frações geoquímicas, ou seja, as frações adsorvidas, trocáveis, oxidáveis, reduzidas e residuais.

Foram pesados 0,5 g de TFSA e transferidos para cadinhos de teflon, adicionando-se 5 ml de HF e 5 ml de HNO_3, deixando em repouso por 3 horas, e depois por mais 1 hora com adição de 2 ml de $HClO_4$. Em seguida, foram levados ao banho de areia e aquecidos lentamente até 120 ºC, mantido até cessar o desprendimento do vapor castanho de NO_2. A temperatura foi elevada gradativamente até 200 ºC e mantida até cessar o desprendimento do vapor branco de $HClO_4$ e iniciar o clareamento e redução do volume do extrato. Além da própria digestão, a função do $HClO_4$ é eliminar o HF. Após o término da digestão, os cadinhos foram deixados para esfriar e os extratos transferidos para balões volumétricos de 50 ml com ácido clorídrico (HCl) 0,1 mol L^{-1} e aferidos.

Todas as análises foram conduzidas em triplicata. As concentrações de Cd foram determinadas por espectrometria de absorção atômica (Varian AA140), no Laboratório de Fertilidade do Solo, do CENA/USP.

3.2.2.1.2 Determinação dos teores disponíveis de Cd

Os teores disponíveis de Cd nas amostras de terra foram extraídos por DTPA (LINDSAY; NORVELL, 1978), Mehlich-1 (MEHLICH, 1978), Mehlich-3 (MEHLICH, 1984) e Ácidos orgânicos (PIRES; MATTIAZZO; BERTON, 2004). As concentrações de Cd nos extratos dos quatro extratores químicos foram determinadas por espectrometria de absorção atômica (Varian AA140).

3.2.3 Coleta e preparo das amostras vegetais

Foram coletadas 10 amostras de planta para composição de uma amostra composta, perfazendo um total de três amostras compostas por cultura. As amostras vegetais foram identificadas e armazenadas em sacos plásticos até o retorno ao laboratório. O procedimento de tratamento e digestão das amostras foi o mesmo descrito nos itens 3.1.3 e 3.1.4 da etapa anterior (CHARY; KAMALA; RAJ, 2008; MIYAZAWA et al., 2009). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A partir do extrato proveniente da parte comestível das plantas, os teores de Cd foram determinados por espectrometria de absorção atômica (Varian AA140).

3.2.4 Análise dos Dados

Os teores totais de Cd encontrados nos solos foram comparados com o Relatório de Estabelecimento de Valores Orientados para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo (CETESB, 2005), já os teores de Cd encontrados nas plantas foram comparados com os valores de referências para alimentos estabelecidos pela ANVISA (1965).

3.2.4.1 Razão de Transferência

A razão de transferência solo-planta é um dos componentes principais da exposição humana aos MPs através da cadeia alimentar (KHAN et al., 2008). A razão de transferência (Rt) do Cd foi calculada conforme a equação (5),

$$Rt = C_{PLANTA} / C_{SOLO} \quad (5)$$

em que C_{PLANTA} e C_{SOLO} representam a concentração de Cd no vegetal e no solo, respectivamente (HOODA et al., 1997; CUI et al., 2005).

3.3 DESCRIÇÃO DA 3ª ETAPA

Foram coletados dois solos, na profundidade de 0 - 0,2 m, com texturas distintas e sem nenhum histórico de contaminação. Os solos foram classificados, de acordo com EMBRAPA (1999), como Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) e Neossolo Quartzarênico (NQ). Após a

coleta, foram secos, peneirados em malha de 2 mm para a remoção de impurezas (galhos, raízes, etc) e homogeneizados.

Para caracterização das amostras de terra, foram realizadas análises químicas de rotina, de acordo com o sistema IAC de análises de solo (RAIJ et al., 2001), e análises físicas, conforme Camargo et al. (1986). Os atributos químicos e físicos das amostras de solo encontram-se representados na Tabela 4.

Tabela 4 - Características químicas e físicas das amostras de terra

Determinação	**Unidade**	**LVA**	**NQ**
(1) pH $CaCl_2$	antes calcário	4,8	4,8
(1) pH $CaCl_2$	após calcário	5,6	5,5
(1,2) MO	g dm^{-3}	23	7
(1,3) Fósforo	mg dm^{-3}	8	3
(1,3) Potássio	$mmol_c$ dm^{-3}	1,2	0,2
(1,3) Cálcio	$mmol_c$ dm^{-3}	18	5
(1,3) Magnésio	$mmol_c$ dm^{-3}	11	3
(1) H	$mmol_c$ dm^{-3}	2	1
(1) H + Al	$mmol_c$ dm^{-3}	25	11
SB	$mmol_c$ dm^{-3}	30,2	8,2
T	$mmol_c$ dm^{-3}	55,2	19,2
V	%	55	43
(1,4) Cádmio	mg kg^{-1}	0,05	0,07
(7) Boro	mg kg^{-1}	0,27	0,22
(1,4) Cobre	mg kg^{-1}	0,5	0,0
(1,4) Ferro	mg kg^{-1}	49	15
(1,4) Manganês	mg kg^{-1}	32,3	4,9
(1,4) Zinco	mg kg^{-1}	3,1	1,1
(5,6) Areia	%	77	95
(5,6) Silte	%	8	2
(5,6) Argila	%	15	3
Textura		média-arenosa	arenosa

(1) Raij et al. (2001); (2) método Walkley e Black; (3) resina trocadora de íons; (4) DTPA a pH 7,3
(5) Camargo et al. (1986); (6) Método da pipeta (7) Água quente/micro-ondas

3.3.1 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições, 5 doses de Cd, 5 espécies de plantas e 2 tipos de solos, perfazendo o total de 150 unidades experimentais.

Os tratamentos foram estabelecidos em função dos valores orientados da CETESB (2005) e dos valores encontrados na segunda etapa, sendo utilizadas as doses de 0, 2, 4, 8 e 16 mg kg^{-1} de Cd.

As espécies utilizadas no experimento foram alface crespa (*Lactuca sativa* L.), cultivar Grand Rapids, coentro (*Coriandrum sativum* L.), cultivar Verdão, espinafre (*Tetragonia tetragonoides*), cultivar Nova Zelândia, rúcula (*Eruca sativa* L.), cultivar Antonella e salsa (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym.), cultivar Lisa.

3.3.2 Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo, no período compreendido entre outubro de 2010 a fevereiro de 2011. Foram utilizados vasos plásticos de 3,0 L de capacidade, preenchidos com 2,0 kg de terra. As amostras de terras não foram acondicionadas diretamente nos vasos, mas antes em sacos plásticos, devido ao uso futuro de material radioativo.

Foi realizada calagem aplicando-se calcário com 95% de PRNT, visando elevar a saturação por bases a 80% (RAIJ et al., 1997; FILGUEIRA, 2003). Após a aplicação do calcário, o solo foi incubado por 15 dias, mantendo a umidade em 70% da capacidade máxima de retenção de água. Ao final do período, as amostras foram secas, destorroadas e homogeneizadas.

Antes da aplicação do material radioativo, foi realizada uma adubação básica, na forma de solução, que consistiu de 50 mg kg^{-1} de N (fosfato monoamônio e uréia), 100 mg kg^{-1} de P (fosfato monoamônio) e 25 mg kg^{-1} de K (cloreto de potássio) para o solo arenoso e de 50 mg kg^{-1} de N (fosfato monoamônio e uréia), 100 mg kg^{-1} de P (fosfato monoamônio) e 50 mg kg^{-1} de K (cloreto de potássio) para o solo argiloso. Os micronutrientes foram aplicados na forma também de solução, visando adicionar: 4 mg kg^{-1} de Fe (cloreto de ferro (III) hexahidratado), 4 mg kg^{-1} de Zn (sulfato de zinco heptahidratado), 2 mg kg^{-1} de B (ácido bórico), 2 mg kg^{-1} de Cu (sulfato de cobre pentahidratado) e 1 mg kg^{-1} de Mo (molibdato de amônio tetrahidratado), para ambos solos.

A razão isotópica das amostras de terra contida nos vasos foi alterada aplicando-se 200 mL de solução contendo atividade de 148 kBq de ^{109}Cd mais 1 mL de Cd conforme o tratamento (dose de Cd) ($CdCl_2$), e esquematizado na figura 4. Após a aplicação, o solo foi umedecido com água destilada até 70% de sua capacidade máxima de retenção de água e mantido por 10 dias para atingir o equilíbrio isotópico.

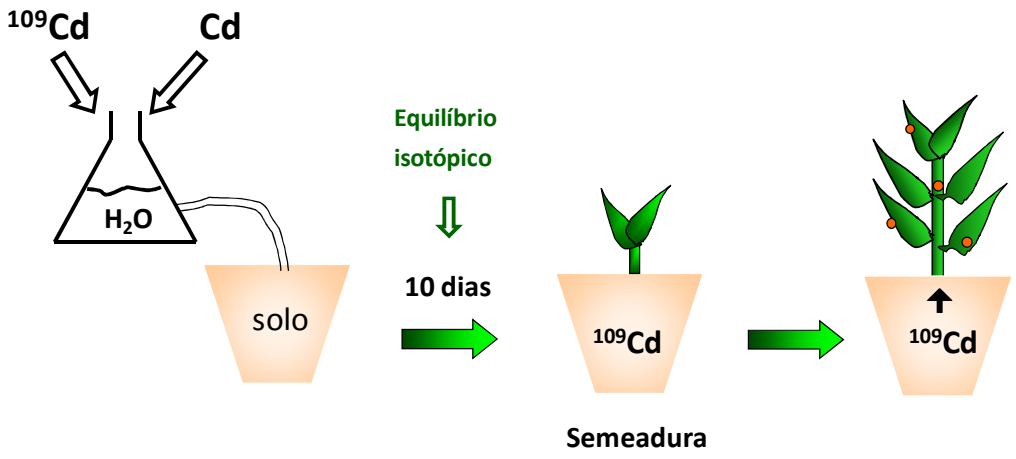

Figura 4 - Esquema de marcação de terra com o radionuclídeo ^{109}Cd

Considerando a meia-vida do radionuclídeo ^{109}Cd, a baixa atividade que foi aplicada, a extração pelas plantas e o tempo de duração do experimento, a atividade no solo ao final do experimento foi inferior a 74 kBq dm^{-3}, concentração essa permitida para descarte de rejeitos sólidos, conforme estabelecido na norma CNEN-NE-6.05.

Após o período de incubação, o solo foi homogeneizado novamente e 100 g de terra foram retiradas de cada vaso para futuras análises químicas. Em seguida, 10 sementes de cada cultura foram semeadas a 1 cm de profundidade e desbastadas para quatro plantas por vaso aos dez dias após a emergência (DAE). Aos 18 DAE, foi feito outro desbaste, deixando duas plantas por vaso. No caso da salsa, em função da menor biomassa, foram deixadas quatro plantas por vaso. A umidade do solo foi mantida a 70% da capacidade máxima de retenção de água durante todo o ciclo da cultura. Aos 20 DAE, foram realizadas as adubações de cobertura com 50 mg kg^{-1} de N (uréia) e 25 mg kg^{-1} de K (cloreto de potássio) para o solo arenoso e com 50 mg kg^{-1} de N (uréia) e 50 mg kg^{-1} de K (cloreto de potássio) para o solo argiloso.

3.3.3 Análises químicas das amostras de terra

As amostras de terra coletadas antes da semeadura foram utilizadas para a determinação dos teores disponíveis de Cd por meio de extratores químicos: DTPA (LINDSAY; NORVELL, 1978), Mehlich-1 (MEHLICH, 1978), Mehlich-3 (MEHLICH, 1984) e Ácidos orgânicos (PIRES; MATTIAZZO; BERTON, 2004). As concentrações de Cd nos extratos dos quatro extratores químicos foram determinadas por espectrometria de absorção atômica (Varian AA140).

3.3.4 Análises químicas e radioisotópicas de amostras de plantas

Após a colheita, realizada 35 DAE (exceto para a salsa, onde a colheita foi realizada aos 45 DAE devido ao maior tempo necessário para a germinação das sementes), as plantas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas, procedendo-se a pesagem em balança analítica com exatidão de 0,01 g e a moagem das mesmas em moinho tipo Willey. O Cd das amostras foi extraído via digestão nitro-perclórica (MIYAZAWA et al., 2009), sendo a determinação do elemento realizada por espectrometria de absorção atômica (Varian AA140).

A atividade do radionuclídeo ^{109}Cd foi medida por cintilação líquida.

3.3.5 Cálculos isotópicos

O Cd isotopicamente trocável (Valor L) foi calculado a partir da equação (6):

$$Valor\ L = \left(\frac{Y \times C_a}{C_p} \right) \quad (6)$$

em que Y é a atividade do padrão (cpm vaso^{-1}), C_a é a quantidade de Cd acumulado na planta (mg de Cd vaso^{-1}) e C_p é a atividade total do Cd na planta (cpm vaso^{-1}).

3.3.6 Análise dos dados

A análise estatística foi realizada utilizando o SigmaPlot® versão 10 (SYSTAT SOFTWARE Inc., 2006). Os dados foram submetidos às análises de variância e de regressão entre as variáveis dependentes (produção de matéria seca, teor de Cd acumulado etc) em função das doses de Cd e do teor disponível de Cd (DTPA, Mehlich 1, Mehlich 3, Ácidos Orgânicos e Valor L). Para descrever as relações entre os parâmetros estudados, foram testados os seguintes modelos:

Modelos polinomiais

$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$ ..... (7)

$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \beta_2 X^2 + \varepsilon$ ..... (8)

em que Y é a variável analisada, X é a dose de Cd ou Cd disponível, β_0 é o ponto de interceptação da regressão com o eixo y, β_1 é o coeficiente angular da regressão, β_2 é o coeficiente de regressão quadrática e o ε é o termo de erro para a regressão proposta.

Modelos exponenciais

$Y = \beta_1 e^{(-\beta_2 X)} + \varepsilon$ ..... (9)

$Y = \beta_1 e^{[\beta_2/(X-\beta_3)]} + \varepsilon$ ..... (10)

$Y = \beta_0 + \beta_1 e^{(-\beta_2 X)} + \varepsilon$ ..... (11)

em que Y é a variável analisada, X é a dose de Cd, β_1 é o parâmetro correspondente ao ponto de estabilidade (Y mínimo) da regressão não linear, β_0, β_2 e β_3 são parâmetros de regressão não linear do modelo e o ε é o termo de erro para a regressão proposta.

Modelo Sigmoidal

$Y = \{\beta_1 / 1+e^{[-(X-\beta_2/\beta_3)]}\} + \varepsilon$ ..... (12)

em que Y é a variável analisada, X é a dose de Cd, β_1 é o parâmetro correspondente ao ponto de estabilidade (Y mínimo) da regressão não linear, β_2 e β_3 são parâmetros de regressão não linear do modelo e o ε é o termo de erro para a regressão proposta.

Para a escolha do modelo adequado, foram considerados aspectos de ordem teórica e de aplicação prática (ALVAREZ V, 1991). Para cada modelo de regressão, foi avaliada a significância dos modelos considerando as probabilidades de 1%, 5% e não significativo, sendo representados respectivamente por **, * e ^{ns}.

3.3.7 Razão L

A eficiência dos extratores químicos foi avaliada pela Razão L, que consiste na razão entre o Valor L, considerado o método mais rigoroso na avaliação da fitodisponibilidade de Cd, e os quatro extratores em estudo, conforme equação (13):

$$Razão\ L = \left(\frac{ValorL}{Extrator} \right) \quad \text{.....} \quad (13)$$

onde ambos estão em mg kg^{-1}, e quanto mais próximo de um (1) for a razão, melhor é o extrator.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 1ª ETAPA

4.1.1 Concentração de Cd, Ni, Pb, Co e Cr nos alimentos

Os resultados obtidos para a concentração média de MPs nos vegetais estão apresentados nas Tabelas 5, 6, 7 e 8. A concentração de MPs na parte comestível dos vegetais foi comparada com os limites máximos de tolerância (LMT) estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1965 - Decreto n° 55.871). De acordo com a ANVISA (1965), os LMT para Cd, Ni, Pb e Cr em alimentos são 1,0; 5,0; 0,5 e 0,1 mg kg^{-1}, respectivamente (massa fresca). Não há nenhuma recomendação estabelecida de limite máximo de tolerância para Co no Brasil.

A concentração de Cd variou de 0,01 a 0,18 mg kg^{-1} nos vegetais, não excedendo o LMT para todos os vegetais. Nenhuma concentração de Ni, que variou de 0,01 e 0,74 mg kg^{-1}, excedeu LMT. A concentração de Pb variou de 0,02 a 2,50 mg kg^{-1}, onde 44,6% das amostras excederam o limite estabelecido pela ANVISA. Embora vegetais folhosos tendam a acumular elevados teores de Cd, Ni e Pb (HOODA et al., 1997), dada a maior área foliar, alta taxa de transpiração e alta taxa de crescimento dos vegetais folhosos (ITANNA, 2002), isso não foi observado, principalmente para Pb, já que não há classe específica de vegetais para aqueles que excederam o limite de 0,5 mg kg^{-1}.

A concentração de Cr variou de 0,01 a 0,60 mg kg^{-1} e 44,2% das amostras estiveram acima do LMT, principalmente legumes com 59,9% do total (Tabela 7). O maior teor de Pb encontrado (alho nacional) foi 5 vezes superior ao LMT e o de Cr (abóbora japonesa), em 6 vezes superior ao LMT.

É importante observar os limites máximos estabelecidos para MPs por órgãos internacionais aos produtos agrícolas brasileiros voltados à exportação, já que estes poderão vir a ser impedimento à comercialização desses produtos no mercado internacional. Além do suco concentrado de laranja, os principais produtos exportados pelo Brasil presentes na Tabela 1 são manga, melão, mamão papaia, uva, limão, maçã, abacaxi, banana e goiaba (EMATER, 2005).

Os limites estabelecidos pelo Codex Alimentarius da FAO/WHO (CODEX STAN 193) para Cd variam de 0,05 a 0,4 mg kg^{-1} e para Pb de 0,1 a 0,3 mg kg^{-1}, dependendo do tipo de alimento. As frutas descritas anteriormente apresentam concentrações de Cd inferiores ao

limite estabelecido pelo CODEX. As concentrações de Pb estão acima do limite estabelecido pelo CODEX, exceto para maçãs e abacaxi Hawai. Sendo assim, esses produtos agrícolas voltados à exportação não apresentam problemas quanto aos teores de MPs. Não foram encontrados valores de referência para os demais elementos no CODEX.

Tabela 5 - Concentração de metais pesados em frutas consumidas no Estado de São Paulo

Vegetais	Nome Científico	Estado de Procedência	*n* [1]	Consumo (kg ano^{-1})	Cd	Ni	Pb	Co	Cr
					---------- (mg kg^{-1}) ----------				
Abacate	*Persea americana*	SP	3	0,34	0,04 (0,11)[2]	0,40 (0,05)	0,04 (0,13)	0,23 (0,14)	0,21 (0,13)
Abacaxi Hawaí	*Ananas comosus L. Merril*	SP	3	0,44	0,02 (0,13)	0,15 (0,13)	0,29 (0,19)	0,16 (0,13)	0,04 (0,02)
Abacaxi Pérola	*Ananas comosus L. Merril*	BA	3	0,44	0,03 (0,19)	0,16 (0,06)	0,57 (0,19)	0,12 (0,09)	0,03 (0,11)
Banana Nanica	*Musa ssp.*	SP	5	1,48	0,06 (0,11)	0,27 (0,05)	0,68 (0,13)	0,10 (0,11)	0,34 (0,11)
Banana Prata	*Musa sapientum Schum.*	SP	5	2,91	0,06 (0,10)	0,15 (0,06)	0,72 (0,12)	0,11 (0,12)	0,17 (0,07)
Goiaba Vermelha	*Psidium guajava L.*	SP	4	0,21	0,01 (0,09)	0,13 (0,18)	0,42 (0,06)	0,17 (0,01)	0,08 (0,07)
Laranja Bergamota	*Citrus reticulata*	SP	4	0,97	0,02 (0,16)	0,12 (0,05)	0,34 (0,14)	0,14 (0,05)	0,09 (0,14)
Laranja Lima	*Citrus sinenses (L.) Osbeck*	SP	4	0,45	0,02 (0,07)	0,22 (0,11)	1,10 (0,11)	0,26 (0,06)	0,08 (0,02)
Laranja Mexerica	*Citrus reticulata*	MG	4	0,97	0,06 (0,002)	0,16 (0,03)	0,55 (0,03)	0,15 (0,02)	0,01 (0,11)
Laranja Pêra	*Citrus sinenses*	SP	4	2,91	0,05 (0,01)	0,15 (0,08)	0,85 (0,17)	0,15 (0,15)	0,09 (0,05)
Limão Tahiti	*Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*	SP	4	0,81	0,03 (0,09)	0,22 (0,05)	0,47 (0,10)	0,13 (0,11)	0,30 (0,10)
Maçã Fuji	*Malus silvestris Mill.*	SC	3	0,53	0,02 (0,16)	0,05 (0,11)	nd [3]	0,08 (0,17)	nd
Maçã Gala	*Malus silvestris Mill.*	SC	3	0,53	0,03 (0,07)	0,04 (0,16)	0,29 (0,09)	0,06 (0,10)	nd
Maçã Gala	*Malus silvestris Mill.*	PR	3	0,53	0,04 (0,08)	nd	nd	0,02 (0,15)	0,02 (0,13)
Maçã Granny Smith	*Malus silvestris Mill.*	SC	3	0,53	0,05 (0,12)	0,08 (0,16)	0,02 (0,13)	0,04 (0,15)	0,05 (0,13)
Mamão Formosa	*Carica papaia L.*	ES	3	1,20	0,02 (0,09)	0,05 (0,10)	0,39 (0,14)	0,08 (0,15)	0,02 (0,07)
Mamão Papaia	*Carica papaia L.*	– [4]	3	1,20	0,01 (0,23)	0,40 (0,06)	0,58 (0,15)	0,15 (0,08)	0,09 (0,14)

(1) n = número de amostras (2) média e coeficiente de variação (3) nd = abaixo do limite de detecção (4) sem procedência definida

Tabela 5 - Concentração de metais pesados em frutas consumidas no Estado de São Paulo (continuação)

Vegetais	**Nome Científico**	**Estado de Procedência**	***n*** [1]	**Consumo (kg ano^{-1})**	**Cd**	**Ni**	**Pb**	**Co**	**Cr**
					----------	----------	**(mg kg^{-1})**	----------	
Manga	*Mangifera indica L.*	PE	3	0,97	0,01 (0,12)[2]	0,11 (0,08)	0,45 (0,14)	0,11 (0,12)	0,03 (0,13)
Maracujá Azedo	*Passiflora edulis f. flavicarpa*	BA	4	0,36	0,03 (0,10)	0,23 (0,11)	0,91 (0,17)	0,20 (0,08)	0,10 (0,12)
Melancia	*Citrullus lanatus*	GO	1	2,13	0,02	0,05	0,17	0,05	0,01
Melão	*Cucumis melo L.*	PE	3	0,39	0,02 (0,02)	0,20 (0,01)	0,54 (0,16)	0,32 (0,16)	0,02 (0,12)
Morango	*Fragaria X ananassa Duch.*	SP	5	0,12	0,03 (0,04)	0,10 (0,08)	0,40 (0,05)	0,14 (0,13)	0,04 (0,01)
Uva Benitaca	*Vitis vinifera L.*	PE	3	0,16	0,07 (0,04)	0,03 (0,15)	0,39 (0,12)	0,12 (0,06)	nd[3]
Uva Itália	*Vitis vinifera L.*	PE	3	0,16	0,07 (0,19)	0,08 (0,01)	0,75 (0,17)	0,05 (0,12)	nd
Uva Niágara	*Vitis vinifera L.*	MG	3	0,16	0,09 (0,15)	0,09 (0,09)	0,64 (0,19)	0,13 (0,08)	0,01 (0,13)
Uva Rubi	*Vitis vinifera L.*	MG	3	0,16	0,09 (0,14)	0,08 (0,11)	0,49 (0,18)	0,11 (0,13)	nd

(1) n = número de amostras (2) média e coeficiente de variação (3) nd = abaixo do limite de detecção

Tabela 6 - Concentração de metais pesados em verduras consumidas no Estado de São Paulo

Vegetais	Nome Científico	Estado de Procedência	*n* (1)	Consumo (kg ano^{-1})	Cd	Ni	Pb	Co	Cr
					----------	----------	(mg kg^{-1})	----------	
Acelga	*Beta vulgaris L.* var. *cicla*	SP	2	0,12	0,05 (2)	0,21	0,58	0,17	0,07
Agrião	*Nasturtium officinale sp.*	SP	2	0,19	0,10	0,34	0,86	0,30	0,34
Alface Americana	*Lactuca sativa L.*	SP	2	0,22	0,03	0,13	0,41	0,07	0,20
Alface Crespa	*Lactuca sativa L.*	SP	2	0,22	0,08	0,33	0,48	0,15	0,20
Alface Lisa	*Lactuca sativa L.*	SP	2	0,22	0,07	0,13	0,44	0,16	0,09
Coentro	*Coriandrum sativum L.*	SP	2	0,02	0,16	0,57	1,24	0,50	0,02
Couve	*Brassica oleracea var. acephala* D.C.	SP	2	0,09	0,12	0,54	1,66	0,51	0,39
Couve-Brócolis	*Brassica oleracea L.*	SP	2	0,20	0,08	0,26	0,93	0,25	0,48
Couve-Flor	*Brassica oleracea var botrytis*	SP	2	0,29	0,08	0,24	0,36	0,15	nd(3)
Escarola	*Cichorium endivia L.*	SP	2	0,02	0,07	0,31	0,49	0,19	0,10
Espinafre	*Tetragonia tetragonoides*	SP	2	0,02	0,13	0,48	1,05	0,46	0,27
Milho Verde	*Zea Mays L.*	SP	2	0,34	0,08	0,07	0,16	0,32	nd
Repolho Branco	*Brassica oleracea L. var. capitata*	– (4)	2	0,50	0,04	0,21	0,60	0,23	0,06
Repolho Roxo	*Brassica oleracea L*	–	2	0,50	0,06	0,32	0,63	0,34	0,43
Rúcula	*Eruca sativa L.*	SP	2	0,02	0,07	0,29	0,76	0,21	0,23
Salsa	*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym.	SP	2	0,02	0,18	0,70	1,02	0,47	0,03
Salsão	*Apium graveolens L.*	SP	2	0,02	0,05	0,19	0,47	0,17	0,14

(1) n = número de amostras (2) valor médio (3) nd = abaixo do limite de detecção (4) sem procedência definida

Tabela 7 - Concentração de metais pesados em legumes consumidos no Estado de São Paulo

Vegetais	Nome Científico	Estado de Procedência	*n* [1]	Consumo (kg ano^{-1})	Cd	Ni	Pb	Co	Cr
					---------- (mg kg^{-1}) ----------				
Abóbora Seca	*Cucurbita moschata*	SP	2	0,25	0,04[2]	0,19	0,25	0,19	0,13
Abóbora Italiana	*Cucurbita pepo L.*	SP	2	0,25	0,04	0,20	0,30	0,18	0,08
Abóbora Japonesa	*Cucurbita pepo L.*	BA	2	0,25	0,16	0,24	0,90	0,62	0,60
Moranga	*Cucurbita maxima Duch*	SP	2	0,25	0,06	0,28	0,56	0,30	0,13
Abóbora Paulista	*Cucurbita moschata*	SP	2	0,25	0,05	0,21	0,50	0,24	0,13
Abobrinha Italiana	*Cucurbita pepo L.*	– [4]	2	0,31	0,04	0,25	0,51	0,16	0,08
Abobrinha Paulista	*Cucurbita moschata*	SP	2	0,31	0,04	0,23	0,59	0,19	0,15
Batata Doce Amarela	*Ipomoea batatas L.*	SP	3	0,13	0,11 (0,10)	0,15 (0,04)	0,43 (0,10)	0,49 (0,10)	nd[3]
Batata Doce Branca	*Ipomoea batatas L.*	SE	3	0,13	0,14 (0,002)	0,18 (0,04)	0,46 (0,001)	0,62 (0,15)	0,04 (0,02)
Batata Doce Rosada	*Ipomoea batatas L.*	SP	5	0,13	0,12 (0,08)	0,26 (0,04)	0,52 (0,15)	0,55 (0,02)	nd
Berinjela	*Solanum melongena L.*	SP	2	0,38	0,04	0,13	0,44	0,20	0,16
Beterraba	*Beta vulgaris L.*	SP	3	0,44	0,09 (0,02)	0,26 (0,10)	0,58 (0,12)	0,33 (0,06)	0,21 (0,10)
Inhame	*Dioscorea spp.*	SP	2	0,11	0,06	0,20	0,72	0,16	0,20
Cenoura	*Daucus corota L.*	MG	3	2,09	0,03 (0,01)	0,11 (0,12)	0,38 (0,09)	0,15 (0,05)	0,09 (0,10)
Chuchu	*Sechium edule Sw.*	ES	2	1,07	0,09	0,74	0,31	0,55	0,29
Jiló	*Solanum gilo Raddi*	SP	2	0,33	0,06	0,15	0,28	0,22	0,26
Mandioca 1 [5]	*Manihot esculenta Crantz.*	SP	2	0,82	0,13	0,11	nd	0,62	0,28

(1) n = número de amostras (2) média e coeficiente de variação (3) nd = abaixo do limite de detecção (4) sem procedência definida (5) mandioca 1 e 2 = procedência distinta

Tabela 7 - Concentração de metais pesados em legumes consumidos no Estado de São Paulo (continuação)

Vegetais	Nome Científico	Estado de Procedência	*n* (1)	Consumo (kg ano^{-1})	Cd	Ni	Pb	Co	Cr
					----------	----------	(mg kg^{-1})	----------	
Mandioca 2 (5)	*Manihot esculenta Crantz.*	SP	2	0,82	0,10(2)	0,63	0,98	0,80	0,11
Mandioquinha	*Arracacia xanthorrhiza Banc.*	SP	4	0,65	0,09 (0,05)	0,24 (0,15)	1,18 (0,12)	0,19 (0,05)	0,41 (0,13)
Pepino Caipira	*Cucumis sativus L.*	– (4)	2	0,16	0,02	0,25	0,30	0,09	0,05
Pepino Comum	*Cucumis sativus L.*	GO	2	0,16	0,02	0,16	0,25	0,08	0,02
Pepino Japonês	*Cucumis sativus L.*	SP	2	0,16	0,02	0,12	0,37	0,09	0,12
Pimentão Verde	*Capsicum annuun L.*	SP	2	0,28	0,04	0,12	0,29	0,10	0,12
Pimentão Vermelho	*Capsicum annuun L.*	SP	2	0,28	0,05	0,16	0,25	0,21	0,20
Quiabo	*Abelmoschus esculentus (L.) Moench.*	SP	5	0,50	0,08 (0,12)	0,48 (0,03)	1,31 (0,07)	0,36 (0,05)	0,21 (0,06)
Tomate Andrea	*Lycopersicum esculentum Mill.*	MG	2	1,38	0,03	0,20	0,17	0,15	nd(3)
Tomate Caqui	*Lycopersicum esculentum Mill.*	SP	2	1,38	0,04	0,14	0,20	0,11	0,01
Tomate Longa Vida	*Lycopersicum esculentum Mill.*	MG	2	1,38	0,03	0,11	0,21	0,12	0,04
Tomate Rasteiro	*Lycopersicum esculentum Mill.*	SP	2	1,38	0,02	0,10	0,19	0,10	0,02
Feijão Vagem	*Phaseolus vulgaris L.*	SP	4	0,33	0,07 (0,06)	0,19 (0,13)	0,75 (0,11)	0,30 (0,08)	0,15 (0,11)

(1) n = número de amostras (2) média e coeficiente de variação (3) nd = abaixo do limite de detecção (4) sem procedência definida (5) mandioca 1 e 2 = procedência distinta

Tabela 8 - Concentração de metais pesados em diversos consumidos no Estado de São Paulo

Vegetais	Nome Científico	Estado de Procedência	*n* [1]	Consumo (kg ano^{-1})	Cd	Ni	Pb	Co	Cr
					---------- (mg kg^{-1}) ----------				
Alho Chinês	*Allium sativum L.*	– [4]	3	0,30	0,12 (0,12)[2]	0,47 (0,10)	1,94 (0,08)	0,44 (0,04)	0,26 (0,07)
Alho Nacional	*Allium sativum L.*	MG	3	0,30	0,09 (0,09)	0,42 (0,01)	2,50 (0,14)	0,37 (0,16)	0,29 (0,04)
Arroz	*Oryza sativa*	RS	3	27,27	nd[3]	0,20 (0,11)	0,23 (0,14)	0,18 (0,16)	nd
Batata Ágata	*Solanum tuberosum ssp.*	SP	2	1,52	0,09	0,22	0,99	0,13	0,27
Batata Asterix	*Solanum tuberosum ssp.*	SP	2	1,52	0,09	0,37	1,02	0,28	0,13
Batata Caesar	*Solanum tuberosum ssp.*	SP	2	1,52	0,11	0,27	0,48	0,16	nd
Batata Monalisa	*Solanum tuberosum ssp.*	SP	2	1,52	0,12	0,22	0,77	0,21	0,03
Cebola	*Allium cepa L.*	MG	3	3,47	0,02 (0,04)	0,06 (0,13)	0,49 (0,12)	0,09 (0,10)	0,07 (0,11)
Feijão 1 [5]	*Phaseolus vulgaris*	–	3	3,04	0,01 (0,09)	0,44 (0,01)	0,26 (0,12)	0,08 (0,09)	0,002 (0,16)
Feijão 2	*Phaseolus vulgaris*	–	3	3,04	0,002 (0,11)	0,16 (0,07)	0,70 (0,08)	0,13 (0,12)	nd

(1) n = número de amostras (2) média e coeficiente de variação (3) nd = abaixo do limite de detecção (4) sem procedência definida (5) feijão 1 e 2 = procedência distinta

4.1.2 Ingestão diária de metais pesados

A ingestão diária de MPs depende da concentração de cada elemento presente nos alimentos, além da respectiva taxa de consumo (IBGE, 2004). Uma breve discussão foi realizada sobre a estimativa da ingestão diária de MPs através da taxa de consumo dos alimentos.

4.1.2.1 Cádmio

O Cd é um elemento perigoso, já que pode entrar no corpo humano via trato alimentar e através da placenta durante a gravidez, causando danos às membranas celulares e ao DNA (KABATA-PENDIAS, 2004). Uma vez no corpo humano, pode permanecer no metabolismo por 16 a 33 anos (COZZOLINO, 2005). É relacionado a vários efeitos nocivos à saúde, como insuficiência renal e perda anormal de proteínas pela urina (COZZOLINO, 2005), além de problemas de calcificação dos ossos, já que pode diminuir a absorção de Ca, e eventualmente mortalidade (WHO, 2004). Pode ainda afetar o sistema reprodutivo e endócrino feminimo (PERALTA-VIDEA et al., 2009). Os vegetais podem contribuir com até 70% da ingestão diária de Cd pelos seres humanos, variando de acordo com a taxa de consumo (WAGNER, 1993).

A ingestão diária de Cd foi estimada em 0,008 mg, o que representa aproximadamente 10,7% da R_fD estabelecida em 0,001 mg kg^{-1} dia^{-1}, equivalente à 0,07 mg dia^{-1} para um adulto de 70 kg (WHO, 1993). A ingestão diária é menor que a ingestão máxima permitida (0,07 mg dia^{-1}). O valor encontrado de ingestão diária de Cd está dentro da faixa apresentada na literatura, que varia entre 0,0018 a 0,0516 mg dia^{-1} (MUTO et al., 1994; TRIPATHI; RAGHUNATH; KRISHNAMOORTHY, 1997; SANTOS; LAURIA; PORTO DA SILVEIRA, 2004). A maior contribuição para a ingestão de Cd vem da batata monalisa (0,00049 mg dia^{-1}), seguida da banana prata (0,00046 mg dia^{-1}), laranja pêra (0,00041 mg dia^{-1}) e cenoura (0,00032 mg dia^{-1}), correspondendo a 22,6% do total ingerido por dia.

4.1.2.2 Níquel

O Ni não apresenta função específica em humanos, porém é co-fator para algumas enzimas microbianas que atuam no intestino. A recomendação de Ni é estimada em menos de

0,1 mg dia^{-1} para adultos saudáveis e o excesso pode causar danos ao DNA e estruturas celulares (KOHLMEIER, 2003).

A ingestão diária de Ni foi estimada em 0,046 mg, o que representa aproximadamente 3,3% da R_fD estabelecida em 0,02 mg kg^{-1} dia^{-1}, equivalente à 1,4 mg dia^{-1} para um adulto de 70 kg (WHO, 1993). A ingestão diária é menor que a ingestão máxima permitida de 1,4 mg dia^{-1} e também abaixo dos valores encontrados na literatura (0,089 - 0,231 mg dia^{-1}) (BIEGO et al., 1998; SANTOS; LAURIA; PORTO DA SILVEIRA, 2004). A maior contribuição para a ingestão de Ni vem do arroz (0,015 mg dia^{-1}) e feijão 1 (0.0036 mg dia^{-1}), correspondendo a 40,7% da ingestão total.

4.1.2.3 Chumbo

Os efeitos tóxicos do Pb envolvem muitos órgãos, como fígado, rim, baço e pulmão, ocasionando uma variedade de defeitos bioquímicos. O sistema nervoso de bebês e crianças é particularmente afetado pela toxicidade do metal. Adultos expostos ocupacionalmente ou acidentalmente a níveis excessivos de Pb exibem neuropatologia. Há associação entre o nível de Pb no corpo humano e o aumento da pressão sanguínea em adultos (MAIHARA; FÁVARO, 2006).

A ingestão diária de Pb foi estimada em 0,102 mg, o que representa 41,7% da R_fD estabelecida em 0,0035 mg kg^{-1} dia^{-1}, equivalente a 0,245 mg dia^{-1}. Embora elevada a concentração de chumbo em alguns vegetais, a baixa ingestão de vegetais resulta em baixa ingestão do elemento. A ingestão diária de Pb está dentro dos valores encontrados na literatura, que variam entre 0,025 a 0,521 mg dia^{-1} (CUADRADO; KUMPULAINEN; MOREIRAS, 1995; TRIPATHI; RAGHUNATH; KRISHNAMOORTHY, 1997; SANTOS; LAURIA; PORTO DA SILVEIRA, 2004). Arroz contribui com aproximadamente 16,84% da ingestão de Pb, seguida da laranja pêra (6,68%), feijão 2 (5,73%), banana prata (5,52%) e cebola (4,59%).

4.1.2.4 Cobalto

O Co é um dos constituintes da vitamina B_{12} (HAZELL, 1985). A ingestão diária de Co foi de 0,040 mg, o que representa 1,3% da R_fD estabelecida em 3 mg dia^{-1} (FOOD AND NUTRITION BOARD, 2004). Existem poucos dados sobre a ingestão de Co. Os dados na

literatura variam entre 0,012 - 1,2 mg dia^{-1} (BIEGO et al., 1998; CHARY; KAMALA; RAJ, 2008), e a ingestão de Co estimada neste trabalho encontra-se entre esses valores. O arroz apresentou a maior contribuição para a ingestão de Co com 0,013 mg dia^{-1} (33,98%), seguido da mandioca 2 com 0,0018 mg dia^{-1} (4,54%).

4.1.2.5 Cromo

O Cr é elemento importante para a atividade da insulina e para a transcrição de DNA (JEEJEEBHOY et al., 1977; ANDERSON, 1988; KOHLMEIER, 2003). A ingestão inferior a 0,02 mg dia^{-1} pode reduzir a resposta celular à insulina (KOHLMEIER, 2003).

A ingestão diária desse elemento, estimada em 0,016 mg, é inferior ao teor limite estabelecido em 1,5 mg kg^{-1} dia^{-1}, equivalente à 105 mg dia^{-1} (USEPA, 2010). O valor encontrado também é inferior à ingestão diária recomendada pela US National Council (NRC, 1989) para Cr^{+3}: 0,05 - 0,2 mg. O valor da ingestão diária de Cr estimada neste trabalho encontra-se de acordo com os encontrados na literatura, que variam entre 0,013 - 0,098 mg dia^{-1} (ANDERSON; KOZLOVSKY, 1985; BIEGO et al., 1998; SANTOS; LAURIA; PORTO DA SILVEIRA, 2004). Banana prata é a que mais contribuiu para a ingestão de Cr com 0,0014 mg dia^{-1}, seguido da banana nanica com 0,0013 mg dia^{-1} e cenoura com 0,0012 mg dia^{-1}, correspondendo a 24,7% da ingestão total.

4.1.3 Coeficiente de avaliação de risco (HQ)

Embora o método baseado no coeficiente de avaliação de risco (HQ) não forneça probabilidade de uma população exposta ter efeito nocivo à saúde, dá indicação do nível de risco pela exposição aos poluentes (CHARY; KAMALA; RAJ, 2008). Muitos pesquisadores consideram HQ como coeficiente confiável para avaliação do risco à saúde humana associado ao consumo de vegetais contaminados com MPs (CHIEN et al., 2002; HOUGH et al., 2004; RATTAN et al., 2005; WANG et al., 2005; KHAN et al., 2008), não levando em consideração outras vias como contato dérmico, ingestão de solos e outros fatores, como por exemplo, presença de defensivos agrícolas, moléculas de herbicidas, entre outros.

Quando analisados individualmente, os vegetais apresentam HQ < 1 para todos os elementos, independente do tipo de população. HQ para Cd, Ni, Pb e Co variam entre 0 a 0,0071; 0 a 0,0107; 0 a 0,0701 e 0 a 0,0045 para adultos e entre 0 a 0,0075; 0 a 0,0114; 0 a

0,0747 e entre 0 a 0,0048 para crianças. Cr apresentou valores inferiores a 0,00001 para ambos.

Quando analisado o hábito de consumo do Estado de São Paulo para adultos e crianças, o HQ para todos os MPs foram < 1 (Tabela 9). Sendo assim, o consumo desses alimentos pode ser considerado seguro e sem risco à saúde humana.

A sequência de HQ para adultos e crianças segue a ordem decrescente Pb>Cd>Ni>Co>Cr (Tabela 8). Embora a sequência seja a mesma para ambos, os valores para as crianças são superiores aos encontrados para a população adulta, conforme apresentados também por outros autores (NADAL; SCHUHMACHER; DOMINGO, 2004; ZHENG; WANG; ZHENG, 2007; HUANG; ZHOU; ZHAO, 2008).

Altas concentrações de Pb observadas em muitos alimentos, embora não apresentem riscos à saúde humana, podem ser atribuídas aos cultivos próximos a rodovias de intenso tráfego. As principais fontes desse elemento aos seres humanos são devido a inalação do Pb particulado de emissões veiculares e da deposição atmosférica no solo, água e cultivos, constituindo assim acesso à cadeia alimentar (BAIRD, 2002).

4.1.4 Índice de avaliação de risco (HI)

Quando o índice de avaliação de risco (HI) excede a unidade (1), há preocupação com possíveis efeitos nocivos à saúde humana (HUANG; ZHOU; ZHAO, 2008). Embora não exista risco aparente quando cada MP é analisado individualmente, esse pode ser multiplicado quando considerados todos os MPs. Os valores de HI para adultos e crianças no Estado de São Paulo são 0,57 e 0,68, respectivamente (Tabela 9). Embora o valor de HI seja maior para a população infantil, ambas as populações não sofrem com a ingestão de alimentos contaminados por diferentes MPs.

As contribuições relativas de Cd, Ni, Pb e Co para o valor de HI foram 18,8%, 5,7%, 73,1% e 2,3% para adultos e 19,1%, 5,7%, 73,4% e 2,4% para crianças, respectivamente. A contribuição do Cr é mínina, com apenas 0,03%, o que está relacionado ao alto valor de R_fD (1,5 mg kg^{-1} day^{-1}). Huang, Zhou e Zhao (2008) e Wang et al. (2005) também encontraram mínima contribuição do Cr para HI através do consumo de grãos de trigo e vegetais em Kunshan e Tianjin, China.

Tabela 9 - Valores de Coeficientes de Avaliação de Risco (HQ) e Índice de Risco (HI)

MPs	Cd	Ni	Pb	Co	Cr	HI
Adultos	0,107	0,033	0,417	0,013	0,00015	**0,57**
Crianças	0,130	0,039	0,499	0,016	0,00018	**0,68**

MPs = Metais Pesados

4.1.5 Seleção das culturas para as etapas posteriores

Foram feitas duas seleções, sendo a primeira referente ao grupo que apresentou maior concentração de Cd (hortaliças) (Figura 5). Dessa maneira, os vegetais selecionados foram espinafre, coentro, alface crespa, agrião, alface lisa, escarola, salsa, rúcula, salsão, acelga e couve (Tabela 10).

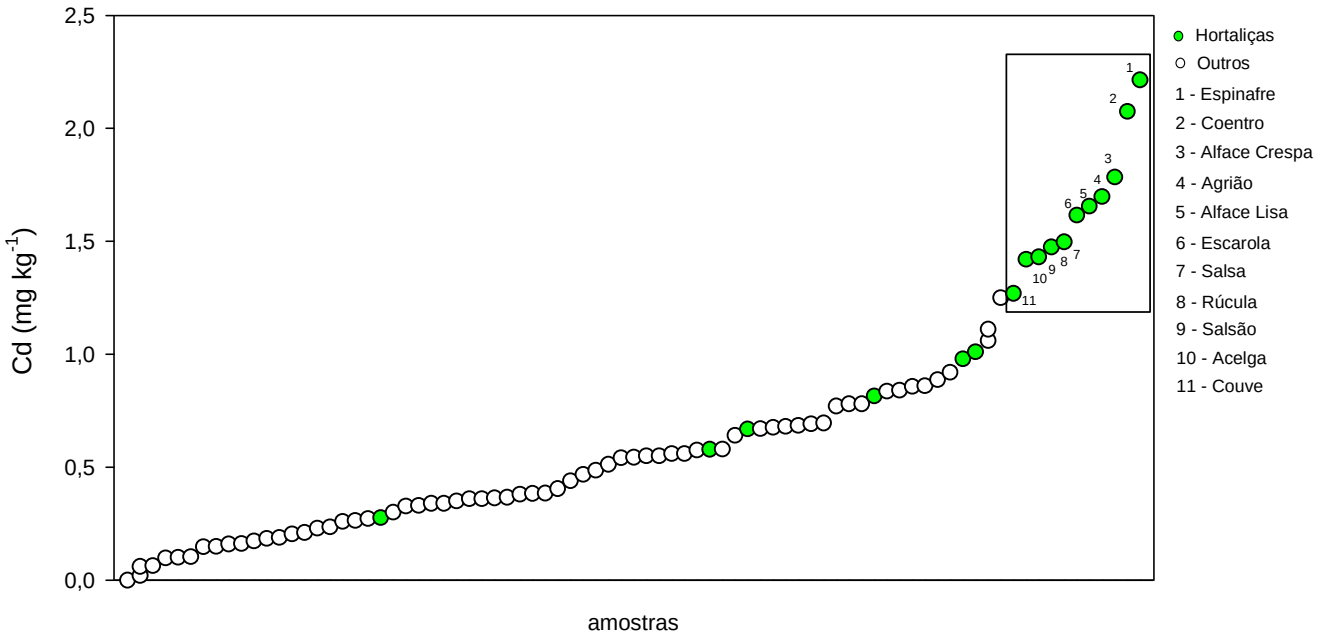

Figura 5 - Concentração de Cd (mg kg^{-1} peso de matéria seca) na parte comestível dos vegetais

Tabela 10 - Vegetais com maior potencial de acúmulo de Cd

Vegetais	Médias
Espinafre	2,21 a
Coentro	2,07 a
Alface Crespa	1,78 b
Agrião	1,70 bc
Alface Lisa	1,66 bcd
Escarola	1,62 bcd
Salsa	1,50 cde
Rúcula	1,47 cde
Salsão	1,43 cde
Acelga	1,42 de
Couve	1,27 ef

(1) Médias seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A segunda seleção foi em função da disponibilidade dos vegetais no momento da coleta: espinafre, coentro, alface crespa, salsa e rúcula.

4.2 2ª ETAPA

4.2.1 Caracterização dos solos

Em geral, os solos são ligeiramente ácidos, variando o pH de 4,6 a 6,0 (Tabela 3). A faixa adequada de pH para o desenvolvimento da maioria das cinco hortaliças é de 6,0 a 6,8, embora coentro e espinafre, consideradas hortaliças rústicas, sejam pouco exigentes em adubação e tolerantes à acidez (FILGUEIRA, 2003).

Os solos não apresentaram limitações quanto à fertilidade, pois revelaram teores altos tanto dos macros como micronutrientes. Entretanto não supriram as necessidades das culturas em relação à saturação por bases (V%), que é de 80% para todas (RAIJ et al., 1997; FILGUEIRA, 2003), exceto para Piracicaba, Leme (amostras 3 e 5) e Jacareí (amostras 9 e

10). Os valores de pH e V% indicam ineficiência na correção da acidez do solo, principalmente para Limeira e Atibaia (Tabela 3).

Os teores de matéria orgânica (MO) variaram de 11,3 a 32,4 g dm^{-3} para Limeira, Piracicaba, Leme e Atibaia. Os mesmos solos apresentaram valores moderados de capacidade de troca de cátions (CTC), variando de 76,8 a 196,4 $mmol_c$ dm^{-3}. Os solos de Jacareí, ao contrário dos outros, apresentaram valores elevados de MO e CTC, variando de 80,4 a 327,1 g dm^{-3} e de 367,9 a 473,5 $mmol_c$ dm^{-3}, respectivamente. Essas características são típicas dos solos da região, classificados como Organossolos.

4.2.2 Concentração de Cd nos solos

Os teores de Cd encontrados nos solos foram comparados com os valores orientados para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo (CETESB, 2005). Os valores orientados são divididos em valor de referência de qualidade (VRQ), de prevenção (VP) e de intervenção (VI). O VRQ é a concentração de determinada substância no solo, que o define como “limpo”. Deve ser utilizado como referência nas ações de prevenção da poluição do solo e de controle de áreas contaminadas. O VP é a concentração de determinada substância, acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo, ou seja, na capacidade de sustentar suas funções primárias. Deve ser utilizado para disciplinar a introdução de substâncias no solo e, quando ultrapassado, a continuidade da atividade será submetida a nova avaliação, devendo os responsáveis legais pela introdução das cargas poluentes proceder o monitoramento dos impactos decorrentes. O VI é a concentração de determinada substância no solo acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana. A área será classificada como *Área Contaminada sob Investigação* quando houver constatação da presença de contaminantes no solo em concentrações acima dos Valores de Intervenção, indicando a necessidade de ações para resguardar os receptores de risco.

O teor total e os disponíveis de Cd nos solos agrícolas são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Concentração do teor total e disponível de Cd (mg kg^{-1} peso seco) nas amostras de solos

Local	**Amostras**	**Cd** *Total*	**Cd** [(2)] *AO*	**Cd** [(3)] *M3*	**Cd** [(4)] *M1*	**Cd** [(5)] *DTPA*
Piracicaba	1	1,4	0,1	0,1	0,1	0,02
Limeira	2	1,9	0,1	0,04	0,03	0,01
Leme	3	5,0	0,2	0,2	0,2	0,1
Leme	4	2,6	0,1	0,1	0,05	0,03
Leme	5	4,0	0,2	0,1	0,1	0,04
Atibaia	6	3,3	0,1	0,1	0,02	0,01
Atibaia	7	3,2	0,1	0,1	0,01	0,01
Atibaia	8	3,0	0,1	0,03	0,02	0,003
Jacareí	9	2,3	0,3	0,2	0,3	0,2
Jacareí	10	2,4	0,3	0,2	0,3	0,2
Jacareí	11	2,6	0,3	0,2	0,4	0,2
Jacareí	12	2,0	0,3	0,2	0,2	0,1
Valor de Referência [(1)]		*0,5*	-	-	-	-
Valor de Prevenção [(1)]		*1,3*	-	-	-	-
Valor de Intervenção [(1)]		*3,0*	-	-	-	-

[(1)] Valores Orientados CETESB (2005) [(2)] Ácidos Orgânicos [(3)] Mehlich 3 [(4)] Mehlich 1 [(5)] DTPA a pH 7,3

Nos cinco municípios estudados, o teor total de Cd variou de 1,4 a 5,0 mg kg^{-1}. De uma maneira geral, observa-se grande variação dos teores encontrados entre os municípios, e até mesmo variação dentro da mesma propriedade, como no caso de Leme (amostras 3, 4 e 5). Os teores de Cd encontram-se abaixo do VI, exceto para Leme (amostra 3 e 5) e Atibaia (amostra 6 e 7).

Muitas pesquisas revelaram os efeitos cancerígenos de MPs como Cd (FEIG; REID; LOEB, 1994; TRICHOPOULOS, 1997). Em uma região endêmica de câncer gastrointestinal ao leste da Turquia, na província de Van, o teor total de Cd no solo ali encontrado foi de 5,9 mg kg^{-1}. Dessa maneira, tanto o solo quanto as frutas e legumes cultivados na província de Van possuem potencial de risco cancerígeno, que pode estar relacionado à alta prevalência de câncer gastrointestinal na região (TURKDOGAN et al., 2002).

Nos locais estudados, a área que apresentou valor de Cd próximo ao encontrado na região da Turquia foi Leme (amostra 3), indicando que o consumo de alimentos ali produzidos pode oferecer risco à saúde humana. As áreas consideradas contaminadas, conforme critério estabelecido pela CETESB foram Leme (amostras 3 e 5) e Atibaia (amostras 6 e 7).

Embora significativo o uso da concentração total de MPs nos solos como parâmetros de qualidade, esse conceito apresenta dificuldades em prover adequada avaliação do potencial de risco, devido às mudanças das condições ambientais que afetam a biodisponibilidade de MPs (JACKSON; ALLOWAY, 1991; CHEN; SHAN; QIAN, 1996; BROWN et al., 1998). Outros fatores, além da concentração total, controlam a mobilidade de MPs no sistema solo-planta, principalmente pH e conteúdo de MO (BASAR, 2009). Alguns autores indicaram que somente a concentração total de MPs não é ferramenta adequada para determinar o efeito às atividades ecológicas ou à saúde humana (VENUGOPAL; LUCKEY, 1978; CALMANO; FORSTNER; KERSTEN, 1986). Dessa maneira, a biodisponibilidade de MPs para as plantas deve ser considerada como base de critérios de qualidade ambiental do solo e avaliação de risco (YANG et al., 2009).

Os teores disponíveis de Cd extraídos por Ácidos Orgânicos, Mehlich 3, Mehlich 1 e DTPA variam de 0,1 a 0,3 mg kg^{-1}, 0,03 a 0,2 mg kg^{-1}, 0,01 a 0,4 mg kg^{-1} e 0,003 a 0,2 mg kg^{-1}, respectivamente (Tabela 11). Áreas anteriormente classificadas como contaminadas podem ser consideradas aptas ao uso agrícola, embora não haja nenhum valor de referência sobre os teores fitodisponíveis. Todavia, essas áreas devem continuar a ser monitoradas e manejadas adequadamente, para evitar que MPs anteriormente indisponíveis, passem a ser disponíveis às plantas.

4.2.3 Concentração de Cd em vegetais

As concentrações de Cd na parte comestível da alface crespa, coentro, espinafre, rúcula e salsa são apresentadas na Tabela 12. As concentrações de Cd nos vegetais em Piracicaba, Limeira, Leme, Atibaia e Jacareí variaram de 0,01 a 0,06 mg kg^{-1}, 0,03 a 0,07 mg kg^{-1}, 0,03 a 0,05 mg kg^{-1}, 0,03 a 0,08 mg kg^{-1} e 0,01 a 0,06 mg kg^{-1}, respectivamente (Tabela 12).

Tabela 12 - Concentração de Cd (mg kg^{-1} massa fresca) em vegetais

Vegetais	Piracicaba		Limeira		Leme		Atibaia		Jacareí	
	Cd	CV [1]	Cd	CV	Cd	CV	Cd	CV	Cd	CV
Alface Crespa	0,01	0,109	0,03	0,096	0,03	0,090	0,04	0,057	0,01	0,096
Coentro	0,04	0,046	0,04	0,040	- [2]	-	0,08	0,098	0,04	0,060
Espinafre	0,03	0,090	0,06	0,143	0,03	0,150	-	-	-	-
Rúcula	0,06	0,053	0,05	0,086	0,03	0,119	0,03	0,013	0,03	0,128
Salsa	0,04	0,091	0,07	0,015	0,05	0,074	0,06	0,085	0,06	0,050

[1] CV = Coeficiente de Variação [2] Vegetais não disponíveis no momento da coleta

Em todos os locais de coleta, nenhum dos vegetais analisados excedeu o LMT de 1 mg kg^{-1} para Cd, com base em massa fresca, estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1965).

Conforme descrito na etapa anterior, vegetais folhosos tendem a acumular elevados teores de Cd (HOODA et al., 1997; YANG et al., 2009). Esse acúmulo ocorre em virtude da maior área foliar, alta taxa de transpiração e alta taxa de crescimento dos vegetais folhosos (ITANNA, 2002). Espinafre, quando cultivado em solo contaminado, acumula 13 vezes mais Cd do que quando cultivado em solo não contaminado (HOODA et al., 1997).

A grande maioria dos trabalhos apresentam os teores de MPs em vegetais em base seca, entretanto a legislação brasileira e a internacional consideram o teor de MP em alimentos in natura, restringindo a comparação em diferentes bases. Hortaliças são vegetais reconhecidos pela maior acumulação de MP, porém quando consideramos que apresentam teores elevados de umidade, em torno de 90%, os teores consumidos de MPs por unidade vegetal são muito baixos.

A sequência da concentração de Cd nos vegetais para Piracicaba, Limeira, Leme, Atibaia e Jacareí foram Rúcula > Coentro = Salsa > Espinafre > Alface Crespa, Salsa > Espinafre > Rúcula > Coentro > Alface Crespa, Salsa > Alface Crespa = Rúcula = Espinafre, Coentro > Salsa > Alface Crespa > Rúcula, Salsa > Coentro > Rúcula > Alface Crespa, respectivamente. Os resultados corroboram com estudos anteriores sobre concentrações de Cd em plantas de espinafre e alface (ALEXANDER; ALLOWAY; DOURADO, 2006), porém não há trabalhos sobre os níveis de contaminação em rúcula, coentro e salsa.

A razão de transferência solo-planta (Rt), definida como razão entre a concentração de MP na parte comestível de plantas (massa seca) e concentração total de MP no solo, foi usada para avaliar o potencial de transferência do Cd do solo para a planta (HARRISON;

CHIRGAWI, 1989; HOODA et al., 1997; CUI et al., 2005; KHAN et al., 2008; YANG et al., 2009). A transferência do Cd do solo para a planta é função da propriedade do MP, das propriedades do solo e do genótipo das plantas.

A razão planta/solo, para qualquer elemento em particular, igual a 0,1 indica que a planta está excluindo o elemento de seus tecidos. Embora muitas vezes a concentração de metais no solo possa ser elevada e esses podem ser absorvidos pelas raízes, somente uma pequena porção é translocada para as folhas, dando a razão folha/solo em torno de 0,2. Dessa maneira, Rt acima de 0,2 indica contaminação antrópica do ambiente e das plantas (THORNTON; FAROGO, 1997).

Rúcula, em Piracicaba, apresentou maior valor de Rt (0,435) entre os vegetais e entre os municípios, seguida do espinafre em Limeira (0,390), rúcula em Jacareí (0,283), rúcula em Atibaia (0,212) e espinafre em Leme (0,153). Esses resultados implicam que rúcula e espinafre acumulam maiores quantidades de Cd comparados aos outros vegetais podendo apresentar potencial de risco aos consumidores. Além disso, segundo critério estabelecido por Thornton e Farogo (1997), os municípios de Piracicaba, Limeira e Jacareí apresentam indícios de contaminação antrópica (Tabela 13).

Tabela 13 - Razão de transferência solo-planta de Cd (Rt) nas diversas regiões de coleta de vegetais

Vegetais	**Piracicaba** Rt [1]	**Limeira** Rt	**Leme** Rt	**Atibaia** Rt	**Jacareí** Rt
Alface Crespa	0,201	0,350	0,096	0,174	0,140
Coentro	0,236	0,265	- [2]	0,192	0,218
Espinafre	0,193	0,390	0,153	-	-
Rúcula	0,435	0,315	0,120	0,212	0,283
Salsa	0,197	0,251	0,125	0,147	0,197

[1] Razão de transferência = concentração metal pesado planta/concentração metal pesado solo [2] Vegetais não disponíveis no momento da coleta

4.2.4 Bioacessibilidade de Cd

Teste de bioacessibilidade consiste em extrações químicas por meio de soluções que mimetizam a composição dos fluidos gastrointestinais presentes durante a digestão (BOSSO; ENZWEILER, 2008). Parâmetros como pH, temperatura, razão sólido/líquido, composição do

fluido gastrointestinal e tempo de transição devem ser considerados na avaliação do teste (RUBY et al., 1996; HAMEL; BUCKLEY; LIOY, 1998).

O consumo de alimentos contaminados contribui com aproximadamente 90% da exposição de seres humanos não fumantes ao Cd (YAHNG; LEE, 2009). Entretanto, a ingestão acidental de pequenas partículas de solo contaminado é reconhecida como a principal via de ingestão de Pb (CALABRESE et al., 1999), e consequentemente de Cd, especialmente em crianças, devido ao comportamento de levar a mão à boca (RUBY et al., 1993). De acordo com a U.S Environmental Protection Agency (EPA), uma criança pode engolir até 100 mg dia^{-1} de solo contaminado. Porém a ingestão de solo pode ser variável em função da idade da criança e do ambiente que a cerca (LAGOY, 1987).

Entretanto nem todo Cd ingerido é absorvido pelo organismo, pois depende da forma química do elemento e de sua reatividade nas condições gastrointestinais. A fração biodisponível de Cd é dada pelo conteúdo total de Cd que alcança o sistema sanguíneo e os órgãos (RUBY et al., 1999).

A presença de outros cátions influencia a absorção de Cd. A maioria das espécies de Cd atravessa o sistema gastrointestinal sem ser absorvida e é eliminada nas fezes. Em geral, a absorção oral de Cd é baixa em humanos, variando de 1 a 7% (ROBSON, 2003). Teores elevados de Zn influenciam a absorção, distribuição e eliminação de Cd. A absorção de Cd é também influenciada por Fe e Ca, aumentando quando a ingestão desses é baixa (YAHNG; LEE, 2009).

Será demonstrado a seguir, por meio de cálculos simplificados, a simulação do consumo de solo contaminado por uma criança de 19,25 kg (em torno de 6 anos de idade) (IBGE, 2006), considerando constante o consumo de 100 mg dia^{-1}.

100 mg solo ---------- 1 dia

x ---------- 365 dias

x = 36.500 mg de solo consumido/ano = 36,5 g solo/ano

Também será considerado que esse solo esteja contaminado com 5 mg kg^{-1} de Cd, quantidade essa encontrada na região de Leme.

5 mg Cd ---------- 1 kg solo

y ---------- 0,0365 kg solo

y = consumo de 182,5 μg ano^{-1} Cd

y = 0,5 μg dia^{-1} Cd

Baseado na informação de que a absorção de Cd pelo organismo é de 1 a 7 % → 0,5 x 3,5% (média) = 0,0175 μg dia^{-1} Cd. Quando comparamos esse valor com a *RfD* para Cd (0,001 mg kg^{-1} de peso corpóreo dia^{-1}), temos:

0,001 mg kg^{-1} dia^{-1} x 19,25 kg = 0,0192 mg dia^{-1} Cd (*RfD*)

Conclui-se que a absorção de Cd pelo organismo da criança desse exemplo é inferior à ingestão diária máxima permitida. Isso demonstra que considerar o teor total de Cd nos solos agrícolas não é metodologia adequada para avaliação de riscos à saúde humana.

4.3 3ª ETAPA

As doses de Cd reduziram a produção de matéria seca (MS) das hortaliças, com exceção da rúcula, em ambos os solos, provavelmente pelo efeito fitotóxico desse elemento. Foram ajustados os modelos exponenciais, sigmóides e lineares para a regressão das doses de Cd e a resposta das plantas em termos de produção de matéria seca da parte aérea (Tabela 14).

Segundo Prasad (1995), a tolerância à MPs está relacionada à mecanismos fisiológicos que permitem que as plantas cresçam normalmente apesar das altas concentrações de metais. O papel exercido por ligantes intracelulares, como as fitoquelatinas, reduzem a toxicidade citoplasmática do MP pela complexação, sendo o complexo fitoquelatina-Cd menos tóxico para o metabolismo celular das plantas que o íon metálico livre.

Tabela 14 - Equações de regressão para a massa seca da parte aérea (MSPA) das hortaliças em função das doses de Cd

Cultura	Neossolo Quartzarênico		Latossolo Vermelho-Amarelo	
	Equação	R^2	Equação	R^2
Alface	$y = 0{,}46 + \frac{3{,}61}{1 + e^{-\left(\frac{x-5{,}40}{-1{,}31}\right)}}$	$0{,}99^{*}$	$y = 3{,}62 + 3{,}57e^{-0{,}58x}$	$0{,}98^{*}$
Coentro	$y = 3{,}58e^{-0{,}21x}$	$0{,}96^{**}$	$y = 1{,}82 - 0{,}09x$	$0{,}72^{ns}$
Espinafre	$y = 0{,}48e^{\left(\frac{4{,}04}{x+2{,}05}\right)}$	$0{,}97^{*}$	$y = \frac{5{,}36}{1 + \left(\frac{x}{5{,}15}\right)^{1{,}06}}$	$0{,}98^{**}$
Rúcula	$y = \bar{y} = 2{,}54$	—	$y = \bar{y} = 5{,}59$	—
Salsa	$y = \frac{2{,}16}{1 + \left(\frac{x}{1{,}39}\right)^{1{,}05}}$	$0{,}99^{**}$	$y = \frac{1{,}01}{1 + e^{-\left(\frac{x-10{,}41}{-4{,}08}\right)}}$	$0{,}54^{ns}$

ns; *; ** Não significativo e significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade

Pereira (2001) encontrou reduções de 47 e 51% na produção de MS nas variedades de alface Mimosa e Regina de verão, quando submetidas à dose de 9,6 mg kg^{-1} de Cd.

A diminuição da MS foi marcante para coentro e salsa (Figura 6), constatando que essas espécies foram mais sensíveis às doses de Cd usadas no experimento. Entretanto, a partir da segunda dose, todas as culturas, exceto para rúcula, apresentaram reduções significativas de MS, principalmente no Neossolo Quartzarênico.

A produção de MS apresentou diferenças também entre os solos, onde as maiores produções foram observadas no LVA (Figura 7). Em média, a produção de MS foi aproximadamente 46% superior no LVA, exceto para coentro, onde a maior produção foi observada no NQ, e para salsa, que não apresentou diferenças. Isso ocorreu provavelmente devido à melhor condição química do LVA (Tabela 4), o que confere também a remoção do Cd da solução do solo por meio da adsorção pelos colóides do solo (PIERANGELI et al., 2005), reduzindo o efeito tóxico às plantas. O pH tem sido relacionado como o principal atributo relacionado à adsorção de Cd (FILIUS; STRECK; RICHTER, 1998; SALAM; HELMKE, 1998), entretanto como não há diferença de pH entre os solos utilizados no experimento, possivelmente a textura, capacidade de troca catiônica, presença de cátions competindo pelos mesmo sítios de adsorção, teores de matéria orgânica e de óxidos de Fe e Al são os principais fatores que influenciaram na adsorção de Cd (CHRISTENSEN, 1989; NAIDU et al., 1994; HAVLIN et al., 2005).

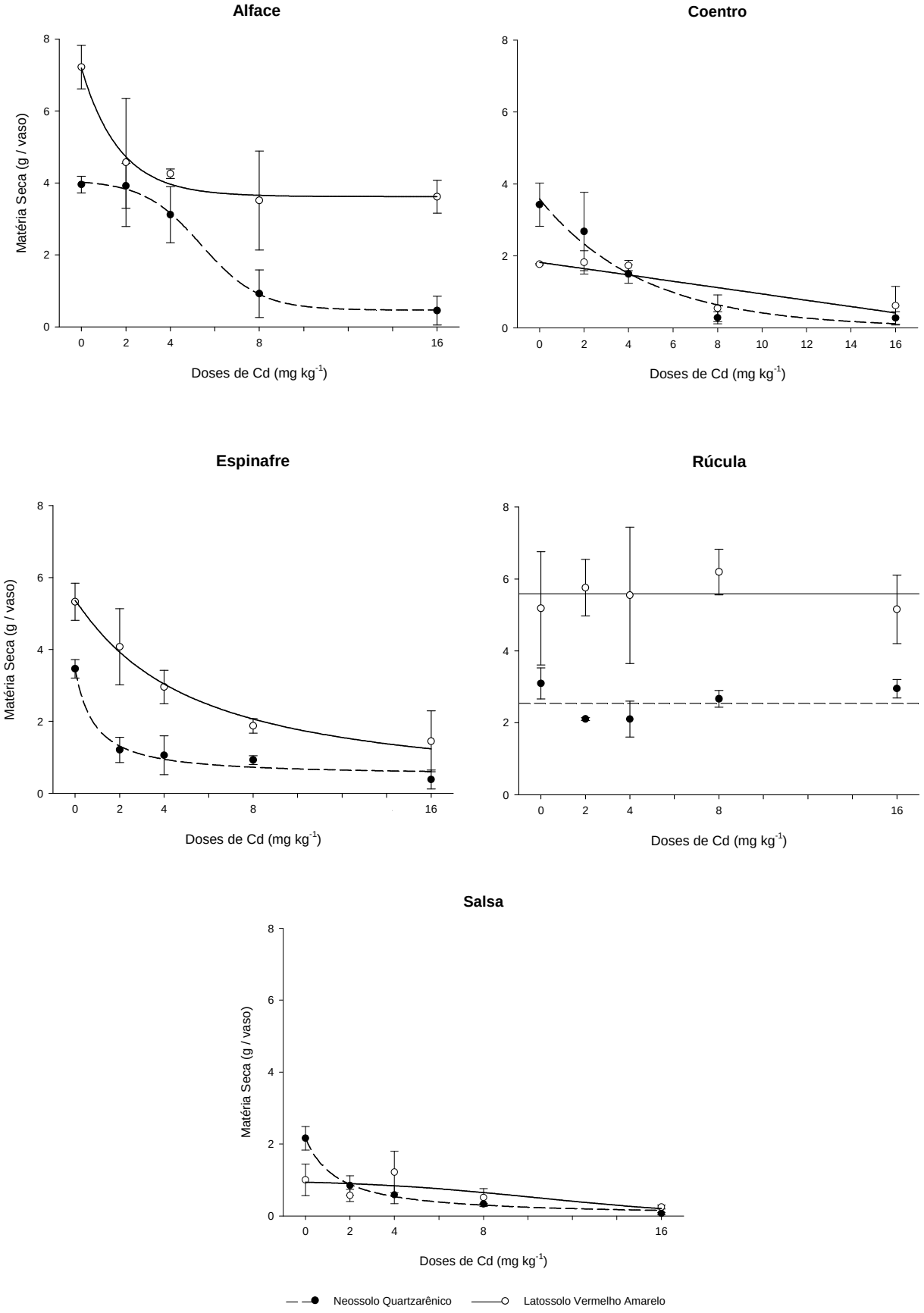

Figura 6 - Produção de massa seca da parte aérea em função das doses de Cd

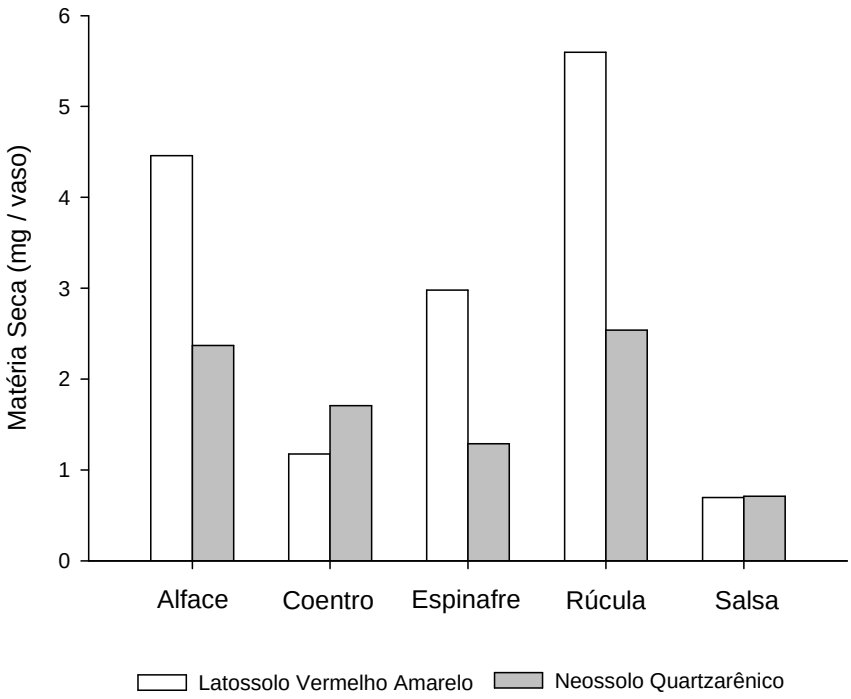

Figura 7 - Comparação da produção de matéria seca da parte aérea das hortaliças entre os solos. Média geral do experimento

Quanto ao teor de Cd nas plantas, o comportamento observado foi o contrário da MS. O aumento dos teores em função das doses de Cd ocorreu para todas as plantas e para ambos os solos, sendo menores os teores encontrados nas plantas cultivadas no LVA (Tabela 15; Figura 8). As maiores produções de matéria seca coincidem com a presença dos menores teores de Cd na parte aérea das plantas. Os maiores teores encontrados foram para o espinafre com 418,5 mg kg^{-1} e para a salsa com 423,7 mg kg^{-1}, ambos quando cultivados no NQ.

As culturas apresentaram desenvolvimento e reações diferenciadas em resposta às elevadas concentrações de Cd presentes nos solos. Segundo Beckett (1991), a toxidez do elemento às plantas deve ser acompanhada e monitorada pela diminuição do crescimento ou redução na colheita, sintomas visíveis e concentração no tecido. Coentro, espinafre e salsa não conseguiram se desenvolver nas duas últimas doses, entretanto o espinafre, com a severidade da toxidez, as folhas tornaram-se cloróticas, assim como a rúcula no NQ. Muitas vezes as plantas podem estar contaminadas mesmo sem apresentarem sintomas visíveis de toxidez (JULIATTI et al., 2002), como para a alface e rúcula (Apêndice), fato esse também observado por Melo (2010). A alface é conhecida como planta acumuladora, não sendo sensível aos efeitos tóxicos a baixas e médias concentrações de Cd no solo (ALEXANDER; ALLOWAY; DOURADO, 2006).

Tabela 15 - Equações de regressão para o teor de Cd nas hortaliças em função das doses de Cd

Cultura	Neossolo Quartzarênico		Latossolo Vermelho-Amarelo	
	Equação	R^2	Equação	R^2
Alface	$y = 27{,}38 + 21{,}37x$	$0{,}95^{**}$	$y = 10{,}74 + 10{,}48x$	$0{,}98^{**}$
Coentro	$y = 17{,}48 + 8{,}72x$	$0{,}96^{**}$	$y = 8{,}20 + 10{,}00x - 0{,}42x^2$	$0{,}92^{ns}$
Espinafre	$y = 32{,}61 + 78{,}04x - 3{,}56x^2$	$0{,}95^{*}$	$y = -10{,}46 + 40{,}56x - 1{,}35x^2$	$0{,}99^{**}$
Rúcula	$y = 13{,}78 + 14{,}62x$	$0{,}99^{**}$	$y = 5{,}86 + 5{,}17x$	$0{,}97^{**}$
Salsa	$y = -5{,}71 + 26{,}94x$	$0{,}99^{**}$	$y = 7{,}83 + 9{,}10x$	$0{,}99^{**}$

$^{ns; *; **}$ Não significativo e significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade

Observou-se resposta linear para o incremento do teor de Cd nas plantas para ambos os solos, entretanto o ajuste ao modelo quadrático pelo espinafre pode ser explicado devido ao desenvolvimento limitado das plantas na dose de 16 mg kg^{-1}. Esses resultados refletem que as hortaliças não possuem capacidade de regular a quantidade de elementos absorvidos e acumulados (ANJOS; MATTIAZZO, 2001; ARAÚJO; NASCIMENTO, 2005), podendo adquirir concentrações capazes de serem maléficas para a continuidade de seu ciclo fisiológico, conhecido também como consumo de luxo (EPSTEIN; BLOOM, 2004).

O acúmulo de Cd na parte aérea, relacionado com a produção de MS e o teor de Cd na planta, aumentou até a última dose de Cd para a rúcula e para a alface no LVA (Tabela 16; Figura 9).

Tabela 16 - Equações de regressão para o acúmulo de Cd na parte aérea das hortaliças em função das doses de Cd

Cultura	Neossolo Quartzarênico		Latossolo Vermelho-Amarelo	
	Equação	R^2	Equação	R^2
Alface	—	—	$y = 53{,}82 + 38{,}87x$	$0{,}98^{**}$
Coentro	—	—	—	—
Espinafre	$y = 47{,}09 + 88{,}54x - 5{,}58x^2$	$0{,}90^{ns}$	$y = 29{,}07 + 85{,}22x - 3{,}40x^2$	$0{,}96^{*}$
Rúcula	$y = 6{,}77 + 45{,}42x$	$0{,}99^{**}$	$y = 43{,}69 + 26{,}13x$	$0{,}96^{**}$
Salsa	$y = 4{,}92 + 14{,}86x - 0{,}83x^2$	$0{,}90^{ns}$	$y = 2{,}68 + 12{,}20x - 0{,}63x^2$	$0{,}84^{ns}$

$^{ns; *; **}$ Não significativo e significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade

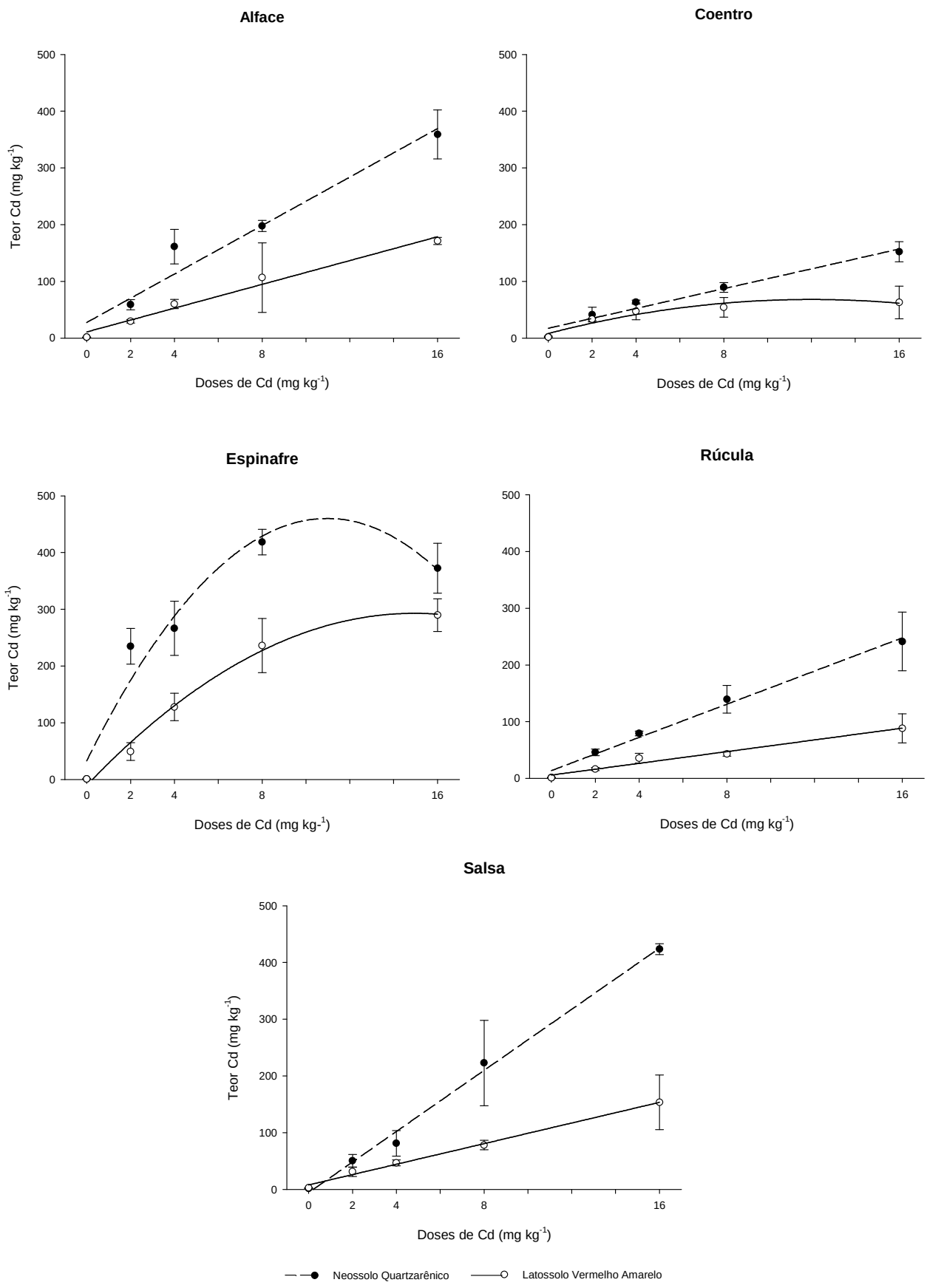

Figura 8 - Teor de Cd das hortaliças (mg kg^{-1} massa seca) em função das doses de Cd

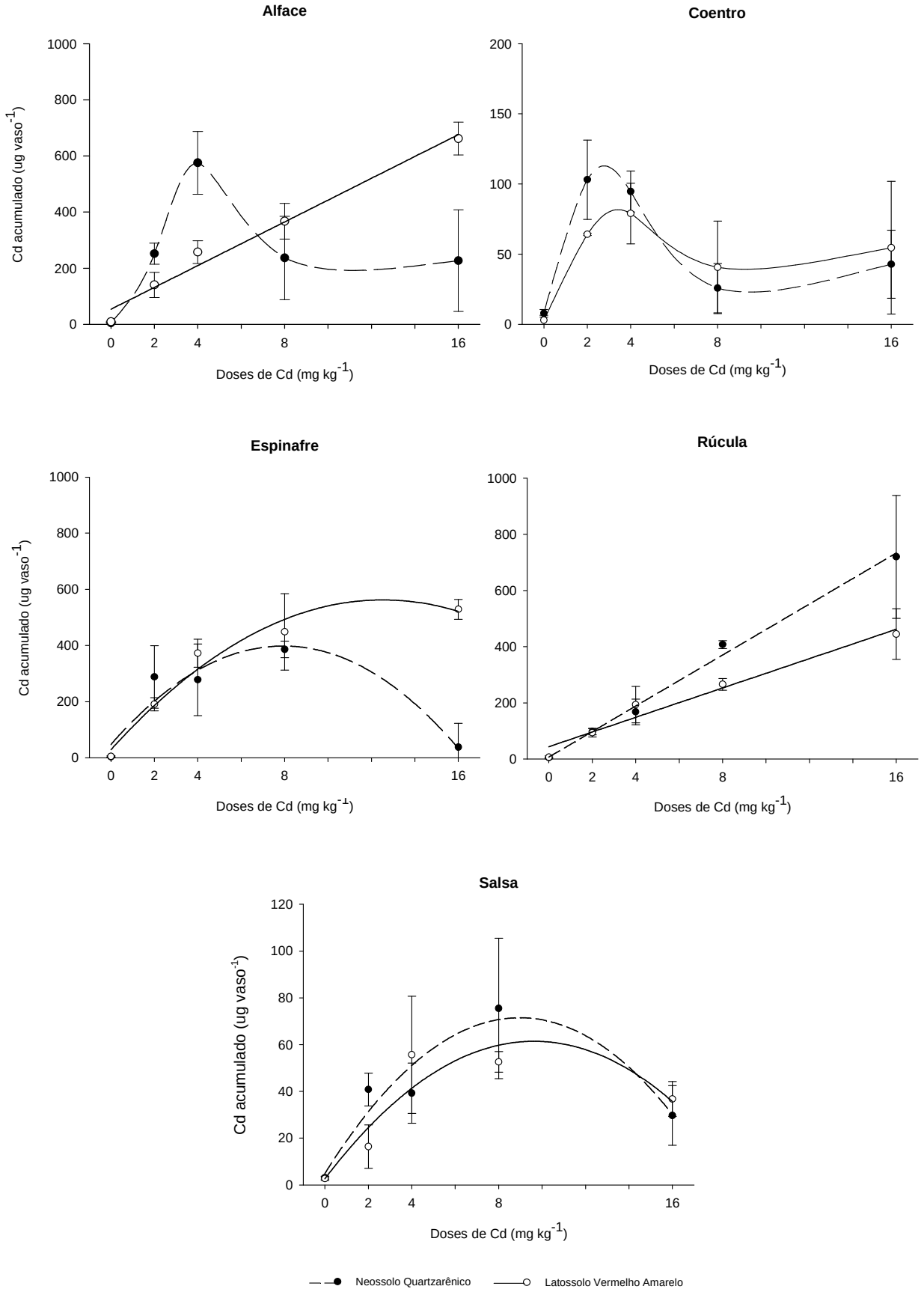

Figura 9 - Acúmulo de Cd na parte aérea das hortaliças (µg vaso^{-1}) em função das doses de Cd

Para o coentro, espinafre, salsa e alface no NQ, não houve acúmulo de Cd até a última dose de Cd devido às reduções drásticas de MS e ao não desenvolvimento das plantas nas doses de 8 e 16 mg kg^{-1}.

4.3.1 Fitodisponibilidade de Cd determinado por meio de extratores químicos

Na Tabela 17, encontram-se os teores de Cd extraídos pelos diferentes extratores avaliados. Para o NQ, o Mehlich-1 extraiu maior quantidade de Cd disponível, seguido do DTPA, Mehlich-3, Ácidos Orgânicos e Valor L. Para o LVA, a sequência de maior extração é Mehlich-1, Mehlich-3, DTPA, Ácidos Orgânicos e Valor L. As maiores extrações também foram observadas por Basar (2009), que relatou que extratores quelantes e compostos por ácidos fortes extraem maiores quantidades de metais. A extração próxima ao teor total para os extratores ácidos é devido ao seu poder de dissolver as estruturas minerais que retêm elementos traços no solo (TAYLOR et al., 1993).

Tabela 17 - Teores de Cd extraídos pelos métodos Mehlich-1, Mehlich-3, DTPA, Ácidos Orgânicos e Valor L nas diferentes doses, antes do plantio

Extratores	**[(1)]Doses**				
	0	**2**	**4**	**8**	**16**
	- - - - - - - - - - - - - - - mg kg^{-1} - - - - - - - - - - - - - - -				
Neossolo Quartzarênico					
Mehlich-1	0,15	1,99	3,87	7,89	15,89
Mehlich-3	0,08	1,48	3,51	5,93	12,08
DTPA	0,07	1,97	3,93	7,54	14,99
Ácidos Orgânicos	0,09	1,21	2,61	4,71	9,81
Valor L	0,00	0,68	1,29	2,95	5,52
Latossolo Vermelho-Amarelo					
Mehlich-1	0,03	1,95	4,01	7,74	16,04
Mehlich-3	0,07	1,80	3,65	6,71	13,04
DTPA	0,05	1,81	3,45	7,01	12,40
Ácidos Orgânicos	0,15	1,10	1,98	3,69	7,33
Valor L	0,00	0,68	1,34	2,56	5,12

[(1)]Média de 15 repetições

A correlação entre Cd disponível obtido pelos diferentes extratores e o Cd acumulado pelas plantas foi linear, entretanto somente foi significativa para a rúcula e para a alface no LVA (Tabela 18; Figuras 10 e 11).

O objetivo da análise foliar é de fornecer informação não somente do conteúdo de nutriente na planta, mas também a diferença entre o estado nutricional atual e o pleno requerimento do mesmo. Essa análise deve ser realizada acima do nível crítico, sendo esse definido como o conteúdo de nutriente na planta, abaixo do qual ocorrem problemas de crescimento ou redução de produtividade (MARTIN-PRÉVEL; GAGNARD; GAUTIER, 1987). Utilizando essa prerrogativa na avaliação de extratores químicos, os experimentos em casa de vegetação devem ser conduzidos numa faixa adequada do nutriente para o crescimento da planta. Porém para o experimento em questão, além do Cd não ser um nutriente, não se conhece exatamente a partir de qual teor no solo esse elemento passa a comprometer o crescimento da planta. Sendo assim, as correlações não significativas foram, provavelmente, devido ao seu efeito fitotóxico no desenvolvimento das plantas nas duas últimas doses.

Os teores extraídos por Mehlich-1, Mehlich-3, DTPA, Ácidos Orgânicos e Valor L apresentaram correlação significativa para a rúcula e para a alface no LVA, com os teores de Cd acumulado na planta ($p < 0,01$). Dessa maneira, somente a rúcula foi considerada para a avaliação da eficiência dos extratores, já que foi a única cultura com correlação significativa para os dois solos.

São muitos os trabalhos que avaliam a eficiência de diversos extratores químicos na fitodisponibilidade de metais pesados, dentre eles o DTPA e Mehlich 1 e 3 (GUPTA; ATEN, 1993; BORKERT; COX; TUCKER, 1998; CAJUSTE; CRUZ-DIAZ; GARCIA-OSORIO, 2000; MENZIES; DONN; KOPITTKE, 2007; LEE et al., 2009), entretanto os resultados são muitas vezes contraditórios.

No caso desse experimento, era esperado coeficiente de correlação elevado para todos os extratores testados ($r > 0,95$), já que foram aplicadas doses de Cd. Dessa maneira, não foi viável utilizar o coeficiente de correlação como ferramenta para verificar a eficiência dos extratores em avaliar os teores fitodisponíveis de Cd, conforme considerado por muitos autores (ABREU; LOPES; SANTOS, 2007). A eficiência dos extratores foi verificada pela Razão L.

Tabela 18 - Equações de regressão para o acúmulo de Cd na parte aérea das hortaliças em função dos teores fitodisponíveis de Cd

Cultura	Neossolo Quartzarênico		Latossolo Vermelho-Amarelo	
	Equação	r	Equação	r
		Mehlich 1		
Alface	$y = 239{,}53 + 3{,}22x$	$0{,}10^{ns}$	$y = 52{,}97 + 38{,}65x$	$0{,}99^{**}$
Coentro	$y = 61{,}61 - 1{,}14x$	$0{,}17^{ns}$	$y = 40{,}78 + 1{,}23x$	$0{,}27^{ns}$
Espinafre	$y = 221{,}64 - 3{,}83x$	$0{,}14^{ns}$	$y = 148{,}31 + 28{,}20x$	$0{,}84^{ns}$
Rúcula	$y = 10{,}53 + 45{,}36x$	$0{,}99^{**}$	$y = 43{,}70 + 23{,}37x$	$0{,}98^{**}$
Salsa	$y = 30{,}49 + 1{,}23x$	$0{,}29^{ns}$	$y = 22.28 + 1{,}74x$	$0{,}48^{ns}$
		Mehlich 3		
Alface	$y = 244{,}43 + 3{,}09x$	$0{,}08^{ns}$	$y = 63{,}13 + 38{,}82x$	$0{,}98^{**}$
Coentro	$y = 61{,}75 - 1{,}46x$	$0{,}18^{ns}$	$y = 36{,}12 + 3{,}17x$	$0{,}36^{ns}$
Espinafre	$y = 219{,}16 - 4{,}41x$	$0{,}13^{ns}$	$y = 139{,}45 + 33{,}06x$	$0{,}85^{ns}$
Rúcula	$y = -10{,}86 + 73{,}31x$	$0{,}99^{**}$	$y = 36{,}07 + 30{,}71x$	$0{,}98^{**}$
Salsa	$y = 31{,}46 + 1{,}44x$	$0{,}26^{ns}$	$y = 20{,}44 + 2{,}38x$	$0{,}53^{ns}$
		DTPA		
Alface	$y = 231{,}65 + 4{,}97x$	$0{,}14^{ns}$	$y = 53{,}34 + 40{,}28x$	$0{,}98^{**}$
Coentro	$y = 60{,}18 - 0{,}93x$	$0{,}14^{ns}$	$y = 38{,}40 + 1{,}96x$	$0{,}32^{ns}$
Espinafre	$y = 220{,}59 - 3{,}67x$	$0{,}14^{ns}$	$y = 123{,}98 + 39{,}50x$	$0{,}89^{*}$
Rúcula	$y = -9{,}58 + 52{,}72x$	$0{,}99^{**}$	$y = 37{,}29 + 34{,}04x$	$0{,}98^{**}$
Salsa	$y = 29{,}84 + 1{,}35x$	$0{,}31^{ns}$	$y = 19{,}77 + 2{,}76x$	$0{,}54^{ns}$
		Ácidos Orgânicos		
Alface	$y = 235{,}56 + 6{,}29x$	$0{,}12^{ns}$	$y = 31{,}96 + 89{,}02x$	$0{,}98^{**}$
Coentro	$y = 60{,}86 - 1{,}68x$	$0{,}15^{ns}$	$y = 40{,}74 + 2{,}68x$	$0{,}28^{ns}$
Espinafre	$y = 224{,}37 - 6{,}03x$	$0{,}16^{ns}$	$y = 129{,}52 + 63{,}90x$	$0{,}86^{ns}$
Rúcula	$y = -12{,}09 + 82{,}19x$	$0{,}99^{**}$	$y = 30{,}52 + 61{,}48x$	$0{,}98^{**}$
Salsa	$y = 31{,}08 + 2{,}01x$	$0{,}27^{ns}$	$y = 20{,}16 + 4{,}28x$	$0{,}53^{ns}$
		Valor L		
Alface	$y = 242{,}16 + 7{,}97x$	$0{,}08^{ns}$	$y = 37{,}97 + 141{,}00x$	$0{,}99^{**}$
Coentro	$y = 61{,}75 - 3{,}05x$	$0{,}18^{ns}$	$y = 41{,}79 + 3{,}13x$	$0{,}23^{ns}$
Espinafre	$y = 219{,}89 - 10{,}73x$	$0{,}13^{ns}$	$y = 128{,}44 + 91{,}52x$	$0{,}88^{*}$
Rúcula	$y = -2{,}10 + 147{,}61x$	$0{,}99^{**}$	$y = 35{,}82 + 88{,}62x$	$0{,}98^{**}$
Salsa	$y = 31{,}50 + 2{,}81x$	$0{,}26^{ns}$	$y = 23{,}32 + 4{,}49x$	$0{,}44^{ns}$

$^{ns;\ *;\ **}$ Não significativo e significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade

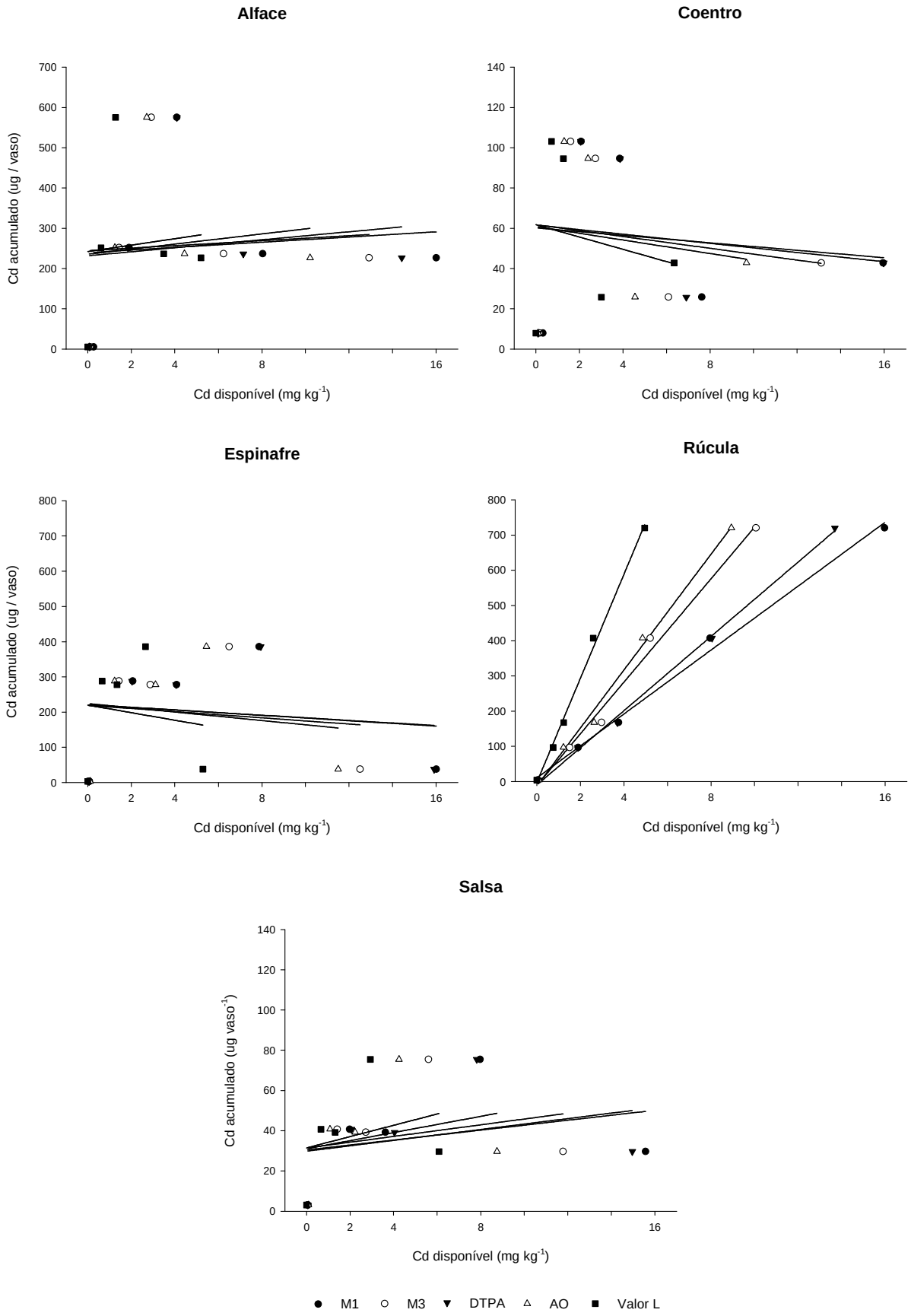

Figura 10 - Correlações lineares entre o teor de Cd acumulado nas plantas (µg vaso^{-1}) e os teores de Cd extraídos do Neossolo Quartzarênico pelos extratores Mehlich-1, Mehlich-3, DTPA, Ácidos Orgânicos e Valor L. $^{ns; *; **}$ Não significativo e significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade

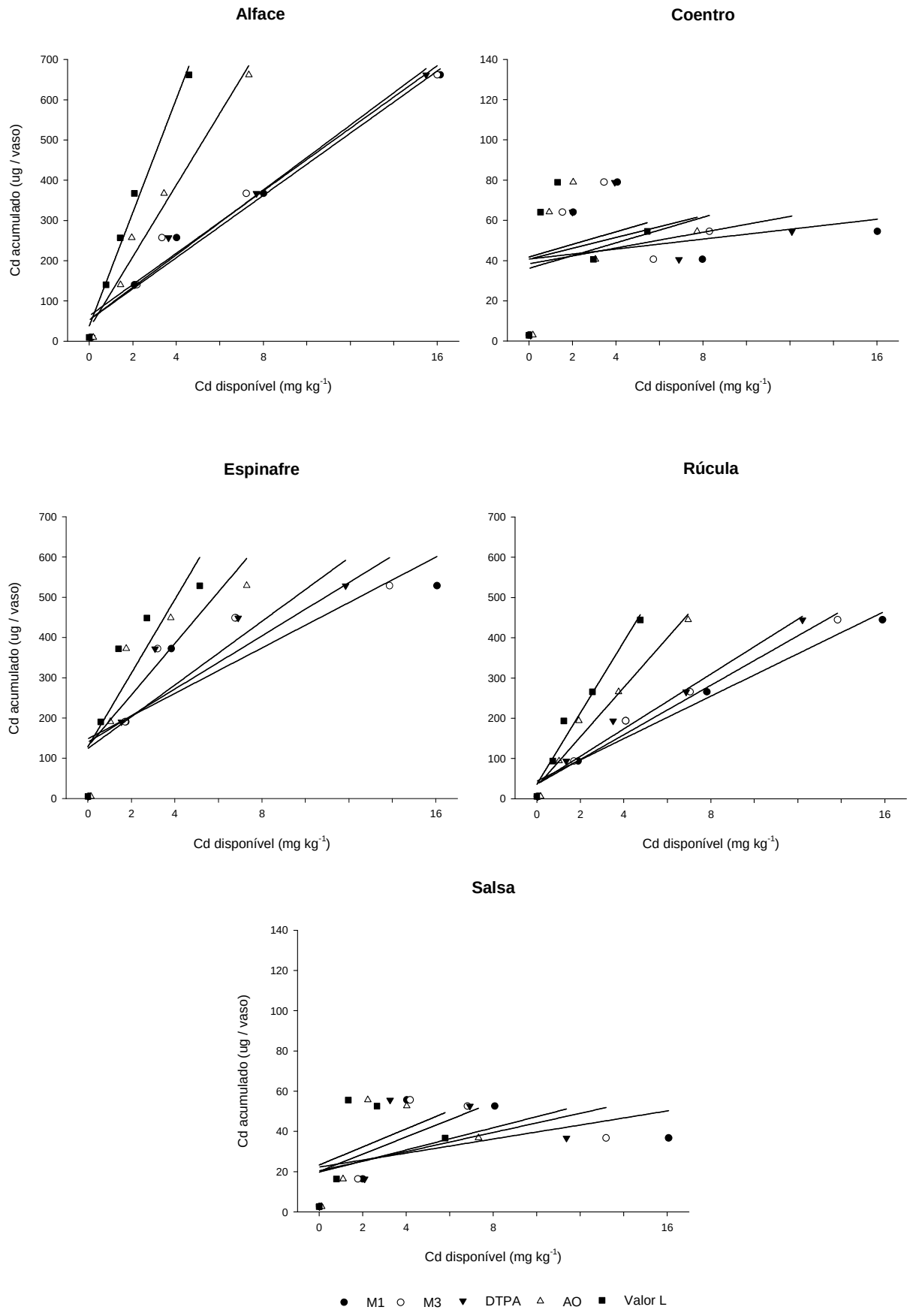

Figura 11 - Correlações lineares entre o teor de Cd acumulado nas plantas (µg vaso^{-1}) e os teores de Cd extraídos do Latossolo Vermelho-Amarelo pelos extratores Mehlich-1, Mehlich-3, DTPA, Ácidos Orgânicos e Valor L. $^{ns; *; **}$ Não significativo e significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade

4.3.2 Eficiência dos extratores e Razão L

A planta é considerada o referencial dos extratores de nutrientes, refletindo sua real disponibilidade. Dessa forma, um bom extrator deve simular o comportamento das raízes da planta (ABREU; LOPES; SANTOS, 2007). O Valor L é o método mais apropriado para determinar a fitodisponibilidade de elementos em solo porque utiliza as plantas como meio extrator (VILLANUEVA et al., 2008). Muitos autores utilizaram a técnica da diluição isotópica para avaliação da fitodisponibilidade (HUTCHINSON et al., 2000; VILLANUEVA et al., 2008; TREVIZAM et al., 2010), e mais recentemente, da zoodisponibilidade de Cd nos solos (SCHEIFLER et al., 2003).

A razão L parte do pressuposto de que quanto mais próximo de 1 for a razão, mais eficiente é o extrator. A eficiência dos extratores na avaliação da fitodisponibilidade de Cd está demonstrada na Tabela 19.

A comparação entre os extratores foi para cada dose de Cd. O extrator mais eficiente em todas as doses de Cd no NQ foi Ácidos Orgânicos, apresentando média geral de 0,55. Entretanto não houve diferença significativa para o Mehlich-3 (0,49), sendo a sequência de maior eficiência de extração Ácidos Orgânicos = Mehlich-3 > DTPA = Mehlich-1. Para o LVA, o extrator mais eficiente também foi Ácidos Orgânicos (0,69), e a sequência de eficiência de extração foi Ácidos Orgânicos > DTPA = Mehlich-3 = Mehlich-1.

Como ainda não há definição clara da pesquisa sobre quais métodos utilizar para alguns elementos traços, e, além disso, muitos resultados obtidos relativo ao emprego de diferentes extratores de Cd no solo são contraditórios (ABREU et al., 1995; SILVA, 2006), os resultados obtidos graças ao Valor L e demonstrado pela Razão L vêm sanar essa questão.

O provável motivo de os Ácidos Orgânicos terem sido o que mais se aproximou do Valor L é devido ao fato de o método estar baseado na simulação das reações que ocorrem na rizosfera (PIRES; MATIAZZO; BERTON, 2004), o que o Valor L também contempla, os processos fisiológicos e as reações que ocorrem na rizosfera das plantas. Marschner (1995) cita que ácidos orgânicos de baixo peso molecular presentes na rizosfera são efetivos na solubilização de metais ligados à fração sólida do solo.

Tabela 19 - Eficiência dos extratores na avaliação da fitodisponibilidade de Cd por meio da Razão L

Dose	Razão L - AO	Razão L - DTPA	Razão L - M1	Razão L - M3
		Neossolo Quartzarênico		
2	0,62a[(1)]	0,40a	0,39a	0,53a
4	0,48a	0,34b	0,33b	0,42ab
8	0,53a	0,32b	0,33b	0,51a
16	0,57a	0,37b	0,32b	0,50ab
Geral	**0,55a**	**0,36b**	**0,34b**	**0,49a**
		Latossolo Vermelho-Amarelo		
2	0,73a	0,45b	0,39b	0,44b
4	0,64a	0,36b	0,30b	0,30b
8	0,69a	0,37b	0,33b	0,36b
16	0,69a	0,40b	0,30b	0,34b
Geral	**0,69a**	**0,40b**	**0,33b**	**0,36b**

[(1)] Média de 3 repetições; letras iguais na linha não indicam diferença pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com a constante preocupação da preservação ambiental, os ácidos orgânicos apresentam-se como ótima alternativa de extrator para Cd no solo, uma vez que os extratores sintéticos usados comumente para simular a fitodisponibilidade de metais pesados, podem poluir o meio ambiente, quando utilizados de forma incorreta, devido a sua baixa biodegrabilidade (FREITAS et al., 2009). Os ácidos orgânicos, considerados agentes quelantes naturais, são degradados mais rapidamente no solo.

5 CONCLUSÕES

Todos os vegetais analisados apresentaram concentrações de Cd e Ni abaixo do limite tolerável, entretanto 44% apresentaram concentrações de Pb e Cr acima do limite estabelecido pela legislação brasileira. Não há nenhuma recomendação estabelecida de limite máximo de tolerância para Co no Brasil. Apesar de elevadas concentrações encontradas em alguns vegetais, a ingestão diária de MPs está abaixo da ingestão máxima permitida (R_fD), consequentemente o consumo desses alimentos pode ser considerado seguro e sem riscos à saúde humana.

As hortaliças folhosas foram as que mais acumularam Cd em suas partes comestíveis.

Algumas áreas agrícolas do Estado de São Paulo apresentaram teores totais de Cd nos solos acima do valor de intervenção. Entretanto os vegetais cultivados nesses locais apresentaram teores inferiores ao limite máximo de tolerância (LMT). Sendo assim, ao estudar a contaminação de áreas agrícolas por MPs, é importante observar, além do teor total, outros parâmetros, como a disponibilidade dos MPs nesses ambientes.

No experimento em casa de vegetação, as correlações entre o Cd disponível do solo e o Cd acumulado pelas plantas foram significativas somente para a rúcula. Os resultados obtidos demonstraram que o método de extração mais eficiente para determinar a fitodisponibilidade de Cd nos solos estudados foi Ácidos Orgânicos.

REFERÊNCIAS

ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; BERTON, R.S. Análise química de solos para metais pesados. **Tópicos Ciências do Solo**, Viçosa, v. 2, p. 1-48, 2002.

ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; RAIJ, B. van; SANTOS, W.R. Comparação de métodos de analise para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 19, p. 463-468, 1995.

ABREU, C.A.; LOPES, A.S.; SANTOS, G.C.G. Micronutritens. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. cap. 11, p. 645-736.

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, v. 1, p. 299-352, 2000.

ADRIANO, D.C. **Trace elements in the terrestrial environment**. New York: Springer-Verlag, 1986. 533 p.

ALAM, M.G.M.; SNOW, E.T.; TANAKA, A. Arsenic and heavy metal contamination of vegetables grown in Santa village, Bangladesh. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 308, p. 83–96, 2003.

ALCARDE, J.C.; VALE, F. Avaliação química de fertilizantes com micronutrientes comercializados no Brasil. In: CONGRESSO LATINIAMERICANO DE LA CIENCIA DEL SUELO, 14., 1999, Pucon, Chile. CLACS99. **Anais…** Temuco: Universidade de La Frontera, 1999. 1 CD-ROM.

ALEXANDER, P.D.; ALLOWAY, B.J.; DOURADO, A.M. Genotypic variations in the accumulation of Cd, Cu, Pb and Zn exhibited by six commonly grown vegetables. **Environmental Pollution,** London, v. 144, p. 736–745, 2006.

ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. 368 p.

ALMAS, A.; SINGH, B.R.; SALBU, B. Mobility of cadmium-109 and zinc-65 soil influenced by equilibration time, temperature, and organic matter. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 28, p. 1742-1750, 1999.

ALMAS, A.R.; SINGH, B.R. Plant uptake of cadmium-109 and zinc-65 at different temperature and organic matter levels. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, p. 869-877, 2001.

ALVAREZ V.; V.H. **Avaliação da fertilidade do solo**: superfícies de resposta – modelos aproximativos para expressar a relação fator-resposta. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991 (Reimpressão).

AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; COSTA, L.M.; OLIVEIRA, C.; VELLOSO, A.C.X. Metais pesados em alguns fertilizantes e corretivos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 16, p. 271-276, 1992.

ANDERSON, A.A. Chromium. In: SMITH, K.T. (Ed.). **Trace minerals in foods**. New York: M. Dekker, 1988. p. 231-247.

ANDERSON, R.A.; KOZLOVSKY, A.S. Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self- selected diets. **The American Journal of the Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 41, p. 1177-1183, 1985.

ANDRADE, C.A.; MATTIAZZO, M.E. Nitratos e metais pesados no solo e nas árvores após aplicação de biossólido (lodo de esgoto) em plantações florestais de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 59-72, 2000.

ANJOS, A.R.M.; MATTIAZZO, M.E. Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn em Latossolos tratados com biossólidos e cultivados com milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p. 337-344, 2001.

ANTONIOUS, G.F.; KOCHHAR, T.S. Mobility of heavy metals from soil into hot pepper fruits: a field study. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 82, p. 59-63, 2009.

ANTONIOUS, G.F.; SNYDER, J.C. Accumulation of heavy metals in plants and potential phytoremediation of lead by potato, *Solanum tuberosum* L. **Journal of Environmental Science and Health, Part-A**, New York, v. 42, p. 811-816, 2007.

ANVISA. **Decreto no 55.871**, de 26 de março de 1965. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/decretos/55871_65.htm>. Acesso em: 16 mar. 2010.

ARAÚJO, J.C.T.; NASCIMENTO, C.W.A. Fracionamento e disponibilidade de zinco por diferentes extratores em solos incubados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, p. 977-985, 2005.

ARORA, M.; KIRAN, B.; RANI, S.; RANI, A.; KAUR, B.; MITTAL, N. Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with waste from different sources. **Food Chemistry**, Barking, v. 111, p. 811-815, 2008.

BAHEMUKA, T.E.; MUBOFU, E.B. Heavy metals in edible green vegetables grown along the sites of the Sinza and Msimbazi rivers in Dar es Salaam, Tanzania. **Food Chemistry**, Barking, v. 66, p. 63–66, 1991.

BAIRD, C. **Química ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622 p.

BAKER, A.J.M. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 3, p. 643-654, 1981.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Respuesta de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelos y Planta**, Madrid, v. 2, p. 345 – 361, 1992.

BASAR, H. Methods for estimating phytoavailable metals in soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 40, p. 1087-1105, 2009.

BATAGLIA, O.C.; RAIJ, B. van. Soluções extratoras na avaliação da fitodisponibilidade do zinco em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 18, p. 457-461, 1994.

BECKETT, P.H.T. Critical tissue concentration as indicators of toxicity. **Suelos Ecuatoriales**, Bogotá, v. 21, p. 39-44, 1991.

BERTON, R.S. Riscos de contaminação do agrossistema com metais pesados. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. (Ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 259-268.

BIEGO, G.H.; JOYEUX, M.; HARTEMANN, P.; DEBRY, G. Daily intake of essential minerals and metallic micropollutants from foods in France. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 217, p. 27-36, 1998.

BLAYLOCK, M.J.; HUANG, J.W. Phytoextraction of metals. In: RASKIN, I.; ENSLEY, B.D. (Ed.). **Phytoremediantion of toxic metals:** using plants to clean up the environment. New York: John Wiley, 2000. p. 52-71.

BORGES, M. **Extratabilidade do cádmio**: influência de atributos de solos muito intemperizados em extratores convencionais e potencialidade de ácidos orgânicos de baixo peso molecular. 2002. 76 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola de Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BORKERT, C.M.; COX, F.R.; TUCKER, M.R. Zinc and copper toxicity in peanut, soybean, rice, and corn in soil mixtures. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 29, p. 2991-3005, 1998.

BOSSO, S.T.; ENZWEILER, J. Bioaccessible lead in soils, slag, and mine wastes from an abandoned mining district in Brazil. **Environmental Geochemistry and Health**, Kew, v. 30, p. 219-229, 2008.

BROWN, S.L.; CHANEY, R.L.; ANGLE, J.S.; RYAN, J.A.; The phytoavailability of cadmium to lettuce in long-term biosolids-amended soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 27, p. 1071–1078, 1998.

CAJUSTE, L.J.; CRUZ-DIAZ, J.; GARCIA-OSORIO, C. Extraction of heavy metals from contaminated soils: I. Sequential extraction in surface soils and their relationships to DTPA extractable metals and metal plant uptake. **Journal of Environmental Science and Health**, **Part A,** New York, v. 35, p. 1141-1152, 2000.

CAKMAK, D.; SALJNIKOV, E.; MRVIC, V.; JAKOVLJEVIC, M.; MARJANOVIC, Z.; SIKIRIC, B.; MAKSIMOVIC, S. Soil properties and trace elements contents following 40 years of phosphate fertilization. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 39, p. 541-547, 2010.

CAKMAK, I.; WELCH, R.M.; HART, J.; NORVELL, W.A.; OZTURK, L.; KOCHIAN, L.V. Uptake and retranslocation of leaf-applied cadmium (^{109}Cd) in diploid, tetraploid and

hexaploid wheats. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 221-226, 2000.

CALABRESE, E.J.; STANEK, E.J.; JAMES, R.C.; ROBERTS, S.M. Soil ingestion: a concern for acute toxicity in children. **Journal of Environmental Health**, Denver, v. 61, p. 1354–1358, 1999.

CALMANO, W.; FORSTNER, U.; KERSTEN, M. Metal associations in anoxic sediments and changes following upland disposal. **Toxicological and Environmental Chemistry**, New York, v. 12, p. 313–321, 1986.

CAMARGO, M.S.; ANJOS, A.R.M.; ROSSI, C.; MALAVOLTA, E. Adubação fosfatada e metais pesados em latossolo cultivado com arroz. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 513-518, 2000.

CAMARGO, O.A.; MONIZ A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do IAC**. Campinas: IAC, 1986. 94 p. (Boletim Técnico IAC, 106).

CASTRO NETO, P.P. Controle de resíduos sólidos industriais no Estado de São Paulo. **Limpeza Pública**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 3-11, 1985.

CEKINSHI, E. Fertilizantes fosfatados. In: CEBINSKI, E. (Coord.). **Tecnologia de produção de fertilizantes**. São Paulo: IPT, 1990. cap. 3, p. 95-129.

CHANEY, R.L. Health risks associated with toxic metals in municipal sludge. In: BITTON, G.; DAMRON, B.L.; EDDS, G.T.; DAVIDSON, J.M. (Ed.). **Sludge-health risks of land application.** Ann Arbor: Ann Arbor Science Publishers, 1980. p. 59-83.

CHANEY, R.L.; OLIVER, D.P. Sources, potential adverse effects and remediation of agriculture soil contaminants. In: NAIDU, R. (Ed.). **Contaminants and the soil environment in the Australasia-Pacific region.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p. 323-359.

CHANG, A.C.; PAGE, A.L.; WARNEKE, J.E.; GRGUREVIC, E. Sequential extraction of soil heavy metals following a sludge application. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 13, p. 33-38, 1984.

CHARY, N.S.; KAMALA, C.T.; RAJ, D.S.S. Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 69, p. 513-524, 2008.

CHEN, B.; SHAN, X.Q.; QIAN, J. Bioavailability index for quantitative evaluation of plant availability of extractable soil trace elements. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 186, p. 275–283, 1996.

CHIEN, L.C.; HUNG, T.C.; CHOANG, K.Y.; YEH, C.Y.; MENG, P.J.; SHIEH, M.J.; HAN, B.C. Daily intake of TBT, Cu, Zn, Cd and As for fishermen in Taiwan. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 285, p. 177–185, 2002.

CHIEN, S.H.; CARMONA, G.; PROCHNOW, L.I.; AUSTIN, E.R.A comparison of cadmium availability from granulated and bulk-blended phosphate with potassium fertilizers. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 32, p. 1911-1914, 2003.

CHIEN, S.H.; PROCHNOW, L.I.; CANTARELLA, H. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. **Advances in Agronomy**, Madison, v. 102, p. 267-322, 2009.

CHRISTENSEN, T.H. Cadmium soil sorption at low concentrations. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 44, p. 71-82, 1989.

CLEMENS, S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. **Planta**, Berlin, v. 212, p. 475-486, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex general standard for contaminants and toxins in food and feed**. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/download/standards/17/CXS_193e.pdf >. Acesso em: 10 mar. 2010.

COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZÉNS GERAIS DE SÃO PAULO. **Relatório de Gestão**. São Paulo: CEAGESP, 2008. 152 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. V**alores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2005. 5 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório de estabelecimento de valores orientados para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2001. 247 p.

CONCEIÇÃO, F.T.; BONOTTO, D.M. Radionuclides, heavy metals and fluorine incidence at Tapira phosphate rocks, Brazil, and their industrial (by) products. **Environmental Pollution**, London, v. 139, p. 232-243, 2006.

COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2005.

CUADRADO, C.; KUMPULAINEN, J.; MOREIRAS, O. Lead, cadmium and Mercury contents in average Spanish market basket diets from Galicia, Valencia, Andalucía and Madrid. **Food Additives and Contaminants,** London, v. 12, p. 107-118, 1995.

CUI, Y.J.; ZHU, Y.G.; ZHAI, R.; HUANG, Y.; QIU, Y.; LIANG, J. Exposure to metal mixtures and human health impacts in a contaminated area in Nanning, China. **Environment International**, New York, v. 31, p. 784-790, 2005.

de LA ROSA, G.; MARTÍNEZ, A.M.; PELAYO, H.; PERALTA-VIDEA, J.R.; SALCIDO, B.S.; TORRESDEY, J.L.G. Production of low-molecular weight thiols as a response to cadmium uptake by tumbleweed (*Salsola kali*). **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 423, p. 491-498, 2005.

de VRIES, W.; CURLIK, J.; MURANYI, A.; ALLOWAY, B.; GROENENBERG, B.J. Assessment of relationships between total and reactive concentrations of cadmium, copper, lead, and zinc in Hungarian and Slovakian soils. **Ekologia**, Bratislava, v. 24, p. 152-169, 2005.

DI, H.J.; CONDRON, L.M.; FROSSARD, E. Isotope techniques to study phosphorus cycling in agricultural and forest soils: a review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 1-12, 1997.

DUPONT, L.; BOUANDA, J.; DUMONCEAU, J.; APLINCOURT, M. Metals ions binding onto a lignocellulosic substrate extracted from wheat bran: a NICA-Donnan approach. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v. 263, p. 35-41, 2003.

EMATER. Frutas brasileiras conquistam novos mercados. **Boletim do Núcleo de Agronegócio**, Brasília, ano 2, n. esp. 3, p. 1-2, 2005.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de Solos.** Brasília: Embrapa Produção de Informação, 1999. 412 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Mineral nutrition of plants:** principles and perspectives. 1. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2004. 400 p.

FEIG, D.I.; REID, T.M.; LOEB, L.A. Reactive oxygen species in tumorigenesis. **Cancer Research**, Baltimore, v. 54, p. 1890-1894, 1994.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.

FILIUS, A.; STRECK, T.; RICHTER, J. Cadmium sorption and desorption in limed topsoils as influenced by pH: Isotherm and simulated leaching. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 27, p. 12-18, 1998.

FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary reference intakes (DRIs)**. Recommended intakes for individuals. Beltsville: Institute of Medicine, National Academy of Sciences, 2004.

FREITAS, E.V.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, A.J.; DUDA, G.P. Indução da fitoextração de chumbo por ácido cítrico em solo contaminado por baterias automotivas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 467-473, 2009.

GIMENO-GARCIA, E.; ANDREU, V.; BOLUDA, R. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticide to rice farming soils. **Environmental Pollution**, London, v. 92, p. 19-25, 1996.

GUPTA, S.K.; ATEN, C. Comparison and evaluation of extraction media and their suitability in a simple model to predict the biological relevance of heavy metal concentrations in contaminated soils. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, London, v. 51, p. 25-46, 1993.

HAMEL, S.C.; BUCKLEY, B.; LIOY, P.J. Bioaccessibility of metals in soil for different liquid to solid ratios in synthetic fluid. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 32, p. 358–362, 1998.

HAMON, R.E.; McLAUGHLIN, M.J.; NAIDU, R.; CORREL, R. Long-term changes in cadmium bioavailability in soil. **Environment Science and Technology**, Easton, v. 32, p. 3699-3703, 1998.

HANG, X.S.; WANG, H.Y.; ZHOU, J.M.; MA, C.L.; DU, C.W.; CHEN, X.Q. Risk assessment of potentially toxic element pollution in soils and rice (*Oryza sativa*) in a typical area of the Yangtze River Delta. **Environmental Pollution**, London, v. 157, p. 2542-2549, 2009.

HARRISON, R.M.; CHIRGAWI, M.B. The assessment of air and soil as contributors of some trace-metals to vegetable plants III. Experiments with field-grown plants. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 83, p. 47–62, 1989.

HAVLIN, J.L.; BEATON, J.D.; TISDALE, S.L.; NELSON, W.L. **Soil fertility and fertilizers**: an introduction to nutrient management. 7. ed. New Jersey: Pearson Education, 2005. 515 p.

HAZELL, T. Minerals in foods: dietary sources, chemical forms, interactions, bioavailability. In: Minerals in food and nutritional topics. **World Review of Nutrition and Dietetics**, London, v. 46, p. 1-123, 1985.

HOODA, P.S.; MCNULTY, D.; ALLOWAY, B.J.; AITKEN, M.N. Plant availability of heavy metals in soils previously amended with heavy applications of sewage sludge. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, p. 446-454, 1997.

HOUGH, R.L.; BREWARD, N.; YOUNG, S.D.; CROUT, N.M.J.; TYE, A.M.; MOIR, A.M.; THORNTON, I. Assessing potential risk of heavy metal exposure from consumption of home-produced vegetables by urban populations. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 112, p. 215-221, 2004.

HOVMAND, M.F.; TJELL, J.C.; MOSBAEK, H. Plant uptake of airborne cadmium. **Environmental Pollution**, London, v. 30, p. 27-38, 1983.

HUANG, M.; ZHOU, S.; ZHAO, Q. Heavy metals in wheat grain: Assessment of potential health risk for inhabitants in Kunshan, China. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 405, p. 54-61, 2008.

HUTCHINSON, J.J.; YOUNG, S.D.; McGRATH, S.P.; WEST, H.M.; BLACK, C.R.; BAKER, A.J.M. Determining uptake of ′non-labile’ soil cadmium by *Thlaspi caerulescens* using isotopic dilution techniques. **New Phytologist**, London, v. 146, p. 453-460, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003**: Aquisição alimentar domiciliar per capita - Brasil e Grandes Regiões. Rio de Janeiro, 2004. 251 p. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 10/03/2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003**: Antropometria e análise do estado nutricional de crianças e adolescentes no Brasil. Rio de Janeiro, 2006. 140 p. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 11/04/2010.

ITANNA, F. Metals in leafy vegetables grown in Addis Ababa and toxicological implications. **Ethiopian Journal of Health Development**, Addis Ababa, Ethiopia, v. 6, p. 295–302, 2002.

JACKSON, A.P.; ALLOWAY, B.J. The bioavailability of cadmium to lettuce and cabbage in soils previously treated with sewage sludges. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 132, p. 179–186, 1991.

JAVIED, S.; MEHMOOD, T.; CHAUDHRY, M.M.; TUFAIL, M.; IRFAN, N. Heavy metal pollution from phosphate rock used for the production of fertilizer in Pakistan. **Microchemical Journal**, New York, v. 91, p. 94-99, 2009.

JEEJEEBHOY, K.; CHU, R.; MARLISS, E.B.; GREENBERG, G.R.; BRUCE-ROBERTSON, A. Chromium deficiency, glucose intolerance and neuropathy reversed by chromium supplementation in a patient receiving long-term total parental nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 30, p. 531-538, 1977.

JULIATTI, M.A.; PRADO, R.M.; BARRIQUELO, M.F.; LENZI, E. Cádmio em Latossolo Vermelho cultivado com milho em colunas: mobilidade e biodisponibilidade. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 1075-1081, 2002.

KABATA-PENDIAS, A. Soil-plant transfer of trace elements - an environmental issue. **Geoderma**, Amsterdam, v. 122, p. 143-149, 2004.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants.** 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 331 p.

KABATA-PENDIAS, A; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC Press, 1984. 315 p.

KAPLAN, I. **Física nuclear**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978. 633 p.

KHAN, S.; CAO, Q.; ZHENG, Y.M.; HUANG, Y.Z.; ZHU, Y.G. Health risk of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. **Environmental Pollution,** London, v. 152, p. 686-692, 2008.

KOHLMEIER, M. **Nutrient metabolism**. San Diego: Elsevier, 2003. 829 p.

L'ANNUNZIATA, M. F. **Radioactivity**: introduction and history. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. 609 p.

LACTUȘU, R.; RĂUȚĂ, C.; CÂRSTEA, S.; GHELASE, I. Soil–plant–man relationships in heavy metal polluted areas in Romania. **Applied Geochemistry,** Oxford, v. 11, p. 105–107, 1996.

LÆGREID, M.; BØCKMAN, O.C.; KAARSTAD, O. **Agriculture, fertilizers and the environment**. Wallingford: CABI, 1999. 294 p.

LAGOY, P.K. Estimated soil ingestion rates for use in risk assessment. **Risk Analysis**, New York, v. 7, p. 355–359, 1987.

LARSEN, S. The use of ^{32}P in studies on the uptake of phosphorus by plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 4, p. 1-10, 1952.

LEE, S.H.; KIM, E.Y.; HYUN, S.; KIM, J.G. Metal availability in heavy metal-contaminated open burning and open detonation soil: Assessment using soil enzymes, earthworms, and chemical extractions**. Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 170, p. 382-388, 2009.

LINDSAY, W.L.; NORVELL, W.A. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 42, p. 421-428, 1978.

MAIHARA, V.A.; FÁVARO, D.I.T. Elementos tóxicos. In: COZZOLINO, S.M.F. (Ed.). **Biodisponibilidade de nutrientes**. Barueri: Manole, 2006. p. 629-660.

MALAVOLTA, E. **ABC da adubação**. 5. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1989. 292 p.

MALAVOLTA, E. **Micronutrientes e metais pesados**: mitos, mistificação e fatos. São Paulo: Produquímica, 1994. 140 p.

MARCHIORI JUNIOR, M. **Levantamento inicial de chumbo, cádmio, níquel, cromo e cobre em pomares de produção comercial no estado de São Paulo**. 2003. 138 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

MARQUES, T.C.L.L.S.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teor de metais de mudas de espécies arbóreas cultivadas em solo contaminado com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 121-132, 2000.

MARSCHNER, H. General introduction to the mineral nutrition of plant. In: **Encyclopedia of Plant Physiology**. New Series. Berlin: Spring-Verlag, 1983. cap. 15A, p. 5-60.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic, 1995. 889 p.

MARTIN-PRÉVEL, P.; GAGNARD, J.; GAUTIER, P. **Plant analysis**: as a guide to the nutrient requirements of temperate and tropical crops. New York: Lavoisier Publishing, 1987. 722 p.

MATTIAZZO, M.E.; BERTON, R.S.; CRUZ, M.C.P. Disponibilidade e avaliação de metais pesados potencialmente tóxicos. In: FERREIRA, M.E. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura.** Jaboticabal: CNPq; FAPESP; POTAFOS, 2001. p. 213-234.

McLAUGHLIN, M.J.; TILLER, K.G.; NAIDU, R.; STEVENS D.P. Review: the behavior and environmental impact of contaminants in fertilizers. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 34, p. 1-54, 1996.

McLAUGHLIN, M.J.; ZARCINAS, B.A.; STEVENS, D.P.; COOK, N. Soil testing for heavy metals. **Communications in Soil Science and Plant Analysi**s, New York, v. 31, p. 1661-1700, 2000.

MEHLICH, A. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 15, p. 1409-1416, 1984.

MEHLICH, A. New extractant for soil test evaluation of phosphorus, potassium, magnesium, calcium, sodium, manganese and zinc. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 9, p. 477-492, 1978.

MELO, L.C.A. **Phytotoxicity of cadmium and barium and derivation of critical limits in soils**. 2010. 85 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola de Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MENZIES, N.W.; DONN, M.J.; KOPITTKE, P.M. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. **Environmental Pollution**, London, v. 145, p. 121-130, 2007.

MILLS, R.F.; KRIJGER, G.C.; BACCARINI, P.J.; HALL, J.L.; WILLIAMS, L. Function expression of AtHMA4, a PIB-type ATPase of Zn/Co/Cd/Pb subclass. **The Plant Journal**, Oxford, v. 35, p. 164-176, 2003.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M.A.; MURAOKA, T.; CARMO, C.A.F.S.; MELO, W.J. Análise química de tecido vegetal. In: SILVA, F.C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap. 2, p. 191-233.

MUCHUWETI, M.; BIRKETT, J.W.; CHINYANGA, E.; ZVAUYA, R.; SCRIMSHAW, M.D.; LESTER, J.N. Heavy metal content of vegetables irrigated with mixture of wastewater and sewage sludge in Zimbabwe: implications for human health. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 112, p. 41–48, 2006.

MURAOKA, T. Avaliação dos teores totais de zinco e manganês do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 8, p. 155-158, 1984.

MURAOKA, T. Uso de técnicas isotópicas em fertilidade do solo. In: OLIVEIRA, A. J.; GARRIDO, W.E.; ARAUJO, J.D. de; LOURENÇO, S. (Coord.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília: EMBRAPA, SEA, 1991, p. 255-273.

MURAOKA, T.; NEPTUNE, A.M.L.; NASCIMENTO FILHO, V.F. Avaliação da disponibilidade de zinco (^{65}Zn) e manganês (^{54}Mn) do solo para o feijoeiro. I. Zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 7, p. 167-175, 1983a.

MURAOKA, T.; NEPTUNE, A.M.L.; NASCIMENTO FILHO, V.F. Avaliação da disponibilidade de zinco (^{65}Zn) e manganês (^{54}Mn) do solo para o feijoeiro. II. Manganês.

Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v. 7, p. 177-182, 1983b.

MUTO, H.; ABE, T.; TAKIZAMA, Y.; KAWABATA, K.; YAMA, G.; SAITOH, K. Simultaneous multi elemental analysis of daily food samples by ICPMS. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 144, p. 231-239, 1994.

NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J.L. Metal pollution of soils and vegetation in an area with petrochemical industry. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 321, p. 59-69, 2004.

NAIDU, R.; BOLAN, N.S.; KOOKANA, R.S.; TILLER, K.G. Ionic-strength and pH effects on the sorption of cadmium and the surface charge of soils. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 45, p. 419-429, 1994.

NAKHONE, L.N.; YOUNG, S.D. The significance of (radio-) labile cadmium pools in soil. **Environmental Pollution**, London, v. 82, p. 73-77, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. (US) SUB-COMMITTEE. **Recommended dietary allowances**. Washington, DC: National Academy Press, 1989. 241 p.

NEPTUNE, A.M.L.; MURAOKA, T. Uso de isótopos em química e fertilidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, Campinas, v. 2, p. 151-163, 1978.

NEPTUNE, A.M.L.; MURAOKA, T.; SFTEWART, J.W.B. Efficiency of fertilizer phosphorus utilization by common bean under different methods of applying phosphatic fertilizer. **Turrialba**, San José, v. 29, p. 29-34, 1979.

NICHOLSON, F.A.; SMITH, S.R.; ALLOWAY, B.J.; CARLTON-SMITH, C.; CHAMBERS, B.J. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 311, p. 205-219, 2003.

OLIVEIRA, F.C. **Disposição de lodo de esgoto e composto de lixo urbano num Latossolo Vermelho Amarelo cultivado com cana-de-açúcar**. 2000. 247 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

OLIVEIRA, S.C. **Solubilidade e disponibilidade de micronutrientes e metais pesados tóxicos em fertilizantes comercializados no Brasil**. 2003. 156 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

OLIVER, M.A. Soil and human health: a review. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 48, p. 573–592, 1997.

OOSTERHUIS, F.H.; BROUWER, F.M.; VIJNANTS, H.J. **A possible EU wide charge on cadmium in phosphate fertilizers**: economic and environmental implications. Amsterdam: European Commission, 2000. 85 p. (EC Report, E-00/02).

PERALTA-VIDEA, J.R.; LOPEZ, M.L.; NARAYAN, M.; SAUPE, G.; GARDEA-TORRESDEY, J. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants:

Implications for the food chain. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, New York, v. 41, p. 1665-1677, 2009.

PEREIRA, J.M.N. **Absorção e distribuição de cádmio e zinco em plantas de alface e cenoura**. 2001. 71 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

PIERANGELI, M.A.P.; GUILHERME, L.R.G.; CURI, N.; SILVA, M.L.N.; LIMA, J.M.; COSTA, E.T.S. Efeito do pH na adsorção e dessorção de cádmio em Latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, p. 523-532, 2005.

PIRES, A.M.M.; MATIAZZO, M.E.; BERTON, R.S. Ácidos orgânicos como extratores de metais pesados fitodisponíveis em solos tratados com lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 671-676, 2004.

PRASAD, M.N.V. Inhibition of maize leaf chlorophylls, carotenoids and gas exchange functions by Cadmium. **Photosynthetica**, Dordrecht, v. 31, n. 4, p. 635-640, 1995.

PRIMAVESI, O.; PIASENTIM, R.M.; ARMELIN, M.J.A.; PRIMAVESI, A.C.P.A.; PEDROSO, A. Caracterização mineral de insumos agrícolas, pelo método de análise por ativação com nêutrons. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA, 2., 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2000. p. 148-153.

RAIJ, B. van. New diagnostic techniques universal soils extractants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 25, p. 799-816, 1994.

RAIJ, B. van. Pesquisa e desenvolvimento em micronutrientes e metais pesados. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; RAIJ, B. van; ABREU, C.A. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq; FAPESP; POTAFOS, 2001. cap. 1, p. 1-12.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2001. 285 p.

RAIJ, B. van; CANTARELA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agronômico, 1997. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RAMALHO, J.F.G.P.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C. Acúmulo de metais pesados em solos cultivados com cana-de-açúcar pelo uso contínuo de adubação fosfatada e água de irrigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 23, p. 971-979, 1999.

RATTAN, R.K.; DATTA, S.P.; CHHONKAR, P.K.; SURIBABU, K.; SINGH, A.K. Long-term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soils, crops and groundwater - a case study. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 109, p. 310–322, 2005.

RAVEN, K.P.; LOEPPERT, R.H. Trace element composition of fertilizers and soil amendments. **Journal of Environment Quality**, Madison, v. 26, p. 551-557, 1997.

ROBSON, M. Methodologies for assessing exposures to metals: human host factors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 56, p. 104-109, 2003.

RODELLA, A.A.; ALCARDE, J.C. Legislação sobre micronutrientes e metais pesados. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; RAIJ, B. van; ABREU, C.A. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq; FAPESP; POTAFOS, 2001. cap. 22, p. 555-576.

RUBY, M.V.; DAVIS, A.; LINK, T.E.; SCHOOF, R.; CHANEY, R.L.; FREEMAN, G.B.; BERGSTROM, P. Development of an in vitro screening test to evaluate the in vivo bioaccessibility of ingested mine-waste lead. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 27, p. 2870–2877, 1993.

RUBY, M.V.; DAVIS, A.; SCHOOF, R.; EBERLE, S.; SELLSTONE, C.M. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 30, p. 422–430, 1996.

RUBY, M.V.; SCHOOF, R.; BRATTIN, W.; GOLDADE, M.; POST, G.; HARNOIS, M.; MOSBY, D.E.; CASTEEL, S.W.; BERTI, W.; CARPENTER, M.; EDWARDS, D; CRAGIN, D.; CHAPPELL, W. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 33, p. 3697-3705, 1999.

SALAM, A.K.; HELMKE, P.A. The pH dependence of free ionic activities and total dissolved concentrations of copper and cadmium in soil solution. **Geoderma**, Amsterdam, v. 83, p. 281-291, 1998.

SANTOS, E.E.; LAURIA, D.C.; PORTO DA SILVEIRA, C.L. Assessment of daily intake of trace elements due to consumption of foodstuffs by adult inhabitants of Rio de Janeiro city. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 327, p. 69-79, 2004.

SCANCAR, J.; MILACIC, R.; HORVAT, M. Comparison of various digestion and extraction procedures in analysis of heavy metals in sediments. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 118, p. 87-99, 2000.

SCHEIFLER, R.; SCHWARTZ, C.; ECHEVARRIA, G.; VAUFLEUTY, A.; BADOT, P.M.; MOREL, J.L. “Nonavailable” soil cadmium is bioavailable to snails: evidence from isotopic dilution experiments. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 37, n. 1, p. 81-86, 2003.

SILVA, M.L.S. **Avaliação do comportamento de elementos traço essenciais e não essenciais em solo contaminado sob cultivo de plantas**. 2006. 112 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola de Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SIMS, J.T. Comparison of Mehlich-1 and Mehlich-3 extractants for P, K, Ca, Mg, Mn, Cu and Zn in Atlantic coastal plain soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 20, p. 1707-1726, 1989.

SMOLDERS, E.; BRANS, K.; FOLDI, A.; MERCKX, R. Cadmium fixation in soil

measured by isotopic dilution. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.63, p.78-85, 1999.

STANHOPE, K.G.; YONG, S.D.; HUTCHINSON, J.J.; KAMATH, R. Use of isotopic dilution techniques to assess the mobilization of nonlabile Cd by chelating agents in phytoremediation. **Environment Science and Technology**, Easton, v. 34, p. 4123-4127, 2000.

STEFFENS, J.C. The heavy metal-binding peptides of plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular**, Palo Alto, v.41, p.553-575, 1990.

STOCIA, L.; GEORGESCU, I.L.; FILIP, D.; BUNUS, F. Determination of valuable elements in natural phosphate. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 216, p. 161-163, 1997.

SYSTAT SOFTWARE Inc – SSI. **Sigmaplot for Windows, version 10.** 2006. Disponível em: <http://www.systat.com/products/sigmaplot/>. Acesso em: 16 set.2009.

TAVARES, T.M.; CARVALHO, F.M. Avaliação da exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do recôncavo baiano. **Química Nova**, São Paulo, v. 5, p. 147-153, 1992.

TAYLOR, R.W.; IBEABUCHI, I.O.; SISTANI, K.R.; SHUFORD, J.W. Heavy metal concentration in forage and extractabilility from some acid mine spoils. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 68, p. 363-372, 1993.

TEIXEIRA, R.S.; CAMBIER, P.; DAVISON DIAS, R.; PINESE, J.P.P.; JAULIN-SOUBELET, A. Mobility of potentially harmful metals in latosols impacted by the municipal solid waste deposit of Londrina, Brazil. **Applied Geochemistry**, Oxford, v.25, p.1-15, 2010.

THORNTON, I.; FARAGO, M.E. Geochemistry of arsenic. In: ABERNATHY, C.O.; CALDERON, R.L.; CHAPPELL, W.R. (Eds.). **Arsenic exposure and health effects**. London: Chapman and Hall, 1997. p. 1-16.

THUY, H.T.T.; VY, N.N.H.; LOAN, T.T.C. Anthropogenic input of selected heavy metals (Cu, Cr, Pb, Zn, and Cd) in the aquatic sediments of Hochiminh City, Vietnam. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 182, p. 73-81, 2007.

TILLER, K.G. Heavy metals in soils and their environmental significance. **Advances in Soil Science**, New York, v. 9, p. 113-142, 1989.

TREVIZAM, A.R.; VILLANUEVA, F.C.A.; MURAOKA, T.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; ABREU JUNIOR, C.H. Aplicação de fósforo para imobilização química do cádmio em solo contaminado. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 6, p. 1235-1241, 2010.

TRICHOPOULOS, D. Epidemiology of cancer. In: DEVITA, V.T. (Ed.). **Cancer, principles and practice of oncology.** Philadelphia: Lippincott Company, 1997. p. 231-258.

TRIPATHI, R.M.; RAGHUNATH, R.; KRISHNAMOORTHY, T.M. Dietary intake of heavy metals in Bombay, India. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 208, p. 149-159, 1997.

TURKDOGAN, M.K.; KILICEL, F.; KARA, K.; TUNCER, I.; UYGAN, I. Heavy metals in soil, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 13, p. 175-179, 2002.

USEPA. **Integrated Risk Information System (IRIS)**. Washington, DC, 2010. Disponível em: <http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/compare.cfm>. Acesso em: 08 jan.2010.

USEPA. **Risk assessment guidance for superfund**. Human Health Evaluation Manual (Part A). Interim Final, v.1. Washington, DC, 1989. (EPA/540/1-89/002).

VENUGOPAL, B.; LUCKEY, T.D. **Metal toxicity in mammals**: Chemical toxicity of metals and metalloids. 2. ed. New York: Plenum Press, 1978. 409 p.

VILLANUEVA, F.C.A.; BOARETTO, A.E.; ABREU JUNIOR, C.H.; MURAOKA, T.; TREVIZAM, A.R.; NASCIMENTO FILHO, V.F. Fitodisponibilidad de Cd en suelo de diferente pH tratado con lodo albañal estimada por método isotópico y extracción química. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, p. 1020-1026, 2008.

VOSE, P.B. **Introduction to nuclear techniques in agronomy and plant biology**. New York: Pergamon Press, 1980. 391 p.

WAGNER, G.J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. **Advances in Agronomy**, New York, v. 51, p. 173-212, 1993.

WANG, X.; SATO, T.; XING, B.; TAO, S.; Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 350, p. 28–37, 2005.

WATANABE, H. Accumulation of chromium from fertilizers in cultivated soils. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 30, p. 543-554, 1984.

WHO. **Evaluation of certain food additives and contaminants**. Forty-first report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. Geneva, 1993. (Technical Series, 837).

WHO. **Evaluation of certain food additives and contaminants**. Sixty-first report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. Geneva, 2004. (Technical Series, 922).

WOLT, J.D. **Soil solution chemistry**: applications to environmental science and agriculture. New York: John Wiley, 1994. 345 p.

YAHNG, D.H.; LEE, Y.J. Determination of cadmium bioaccessibility in herbal medicines and safety assessment by in vitro dissolution and ICP-AES. **Microchimica Acta**, Heidelberg, v. 167, p. 117-122, 2009.

YANG, Y.; ZHANG, F.S.; LI, H.F.; JIANG, R.F. Accumulation of cadmium in the edible parts of six vegetable species grown in Cd-contaminated soils. **Journal of Environmental Management**, New York, v. 90, p. 1117-1122, 2009.

ZHANG, M.K.; LIU, Z.Y.; WANG, H. Use of single extraction methods to predict bioavailability of heavy metals in polluted soils to rice. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 41, p. 820-831, 2010.

ZHENG, N.; WANG, Q.C.; ZHENG, D.M. Health risk of Hg, Pb, Cd, Zn, and Cu to the inhabitants around Huludao Zinc Plant in China via consumption of vegetables. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 383, p. 81-89, 2007.

APÊNDICES

Apêndice A. Doses de 0, 2, 4, 8 e 16 mg kg^{-1} Cd para o Latossolo Vemelho-Amarelo; **a.** alface crespa; **b.** coentro; **c.** espinafre; **d.** rúcula; **e.** salsa.

Apêndice B. Doses de 0, 2, 4, 8 e 16 mg kg^{-1} Cd para o Neossolo Quartzarênico **a.** alface crespa; **b.** coentro; **c.** espinafre; **d.** rúcula; **e.** salsa.