

BIOMONITORAMENTO DE Cr E Pb EM PEIXES DE ÁGUA DOCE

Carolina Marília Martins Repula, Bruna Kaely de Campos, Edgard Moreira Ganzarolli, Mauro Chierici Lopes e Sueli Pércio Quináia*

Departamento de Química, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 3, 85040-080 Guarapuava – PR, Brasil

Recebido em 7/6/11; aceito em 10/11/11; publicado na web em 28/2/12

BIOMONITORING OF Cr AND Pb IN FRESHWATER FISH. Trace metal content of three fish species harvested from a tank located in the City of Guarapuava-PR, Brazil were determined by digestion and voltametry. Trace metal content in fish samples were 0.10-1.30 µg/g (muscle) and 0.45-15.90 µg/g (liver) for chromium, 0.35-2.56 µg/g (muscle) and 2.32-34.30 µg/g (liver) for lead. The levels of lead and chromium in fish samples were higher than the recommended legal limits for human consumption. To assess the dietary intake of Cr and Pb by fish, weekly intake was calculated based on average metals contents and weekly consumption of fish and it compared with PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake). The Cr and Pb have achieved up to 25 and 45%, respectively, of PTWI recommended by WHO/FAO.

Keywords: metals; fish; voltametry.

INTRODUÇÃO

Os elementos Cr e Pb estão presentes na natureza através do intemperismo ou por atividades industriais e de mineração. Esses elementos podem exercer efeitos prejudiciais para a biota, dependendo da concentração.^{1,2} O cromo no estado trivalente é benéfico em pequenas quantidades, participando do metabolismo do corpo humano, mas no estado de oxidação hexavalente possui ação cancerígena. O chumbo é de grande interesse ambiental, pois está presente em concentrações consideráveis no meio urbano. Com relação a sua toxicidade, atua principalmente no sistema nervoso central.

Muitos organismos apresentam um forte potencial para bioconcentrar níveis elevados de metais a partir de seu ambiente. Monitorar ambientes aquáticos através do uso de bioindicadores tem sido objeto de considerável interesse nos últimos anos, devido à preocupação de que os níveis elevados dos metais podem ter efeitos prejudiciais sobre vários organismos e também por criar problemas em relação à sua adequação como alimento para seres humanos.³⁻⁵

Os peixes podem ser usados como indicadores biológicos, pois sofrem bioacumulação e biomagnificação por metais. Esses organismos são capazes de armazenar quantidades de substâncias nocivas, sem sofrer danos e servem como indicadores de contaminação para avaliar a qualidade da água em ambientes aquáticos. Segundo Esser,⁶ a bioacumulação trata da capacidade de acumular uma substância, através do meio circundante ou de seu alimento por um dado organismo, enquanto que a biomagnificação consiste da transferência de uma substância química de um nível trófico inferior para um superior.

Os peixes estão localizados no final da cadeia alimentar aquática, podem acumular metais e passá-los para seres humanos através da alimentação, causando doenças crônicas ou agudas. O tempo de permanência em águas poluídas, a idade e o seu tamanho afetam o acúmulo de metais pesados em seus organismos.^{5,7} Abdel-Baki e colaboradores⁸ avaliaram a bioacumulação de Pb, Cd, Hg, Cu e Cr em vários tecidos de *Tilapia nilotica* coletadas em Wadi Hanifa, na Arábia Saudita, durante o verão de 2010. As concentrações de Pb, Hg e Cr foram maiores nos rins, enquanto que os teores de Cd e Cu foram maiores no fígado dos peixes. Ayandiran e colaboradores⁹

descreveram que a espécie do peixe *Clarias gariepinus* pode bioacumular metais pesados a partir de um ambiente poluído. Observaram que a acumulação de íons metálicos na musculatura corporal e no intestino dos peixes seguiu a ordem: Zn > Fe > Mn > Cu > Pb > Hg > Cd e Fe > Zn > Cu > Pb > Hg > Mn > Cd, respectivamente. Com este estudo, concluíram que o peixe pode bioacumular metais pesados a partir de um ambiente poluído, o que pode resultar em comprometimento do tamanho da população existente, bem como o consumo dos mesmos.

O objetivo deste estudo foi elucidar a extensão da poluição causada por efluente de curtume descartado em um ambiente aquático localizado em Guarapuava - PR, Brasil. Esse efluente, rico em sais de Cr, é liberado no rio sem tratamento prévio há mais de 30 anos. Estudos anteriores mostraram valores elevados de Cr e Pb em sedimentos nas imediações desse curtume.^{10,11} Peixes de água doce de espécies abundantes na região (*Tilapia rendalli*, *Ciprinus carpio Linnaeus* e *Bagre marinus*) foram amostrados no ambiente exposto às emissões da indústria de couro e também em um local de referência não afetado por atividades industriais. Os elementos Cr e Pb foram analisados nos tecidos do músculo e fígado dos peixes, em função das suas concentrações, por voltametria de redissolução utilizando eletrodo de gota pendente de mercúrio. Os fatores de bioconcentração dos íons metálicos nos tecidos, o índice de poluição metálica e a ingestão semanal tolerável provisional também foram calculados. Uma análise de componentes principais foi aplicada para avaliar possíveis correlações entre as concentrações dos metais, os pesos e comprimentos dos peixes.

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudo

O local de estudo para avaliação da poluição ambiental está localizado na cidade de Guarapuava - PR, Brasil, em pontos próximos a descartes de efluentes de um curtume (Figura 1S, material suplementar). O efluente é descartado em um córrego que passa ao lado do curtume e de um tanque de peixes. Esse córrego vem sofrendo um processo contínuo de degradação ambiental, pois recebe efluente sem tratamento proveniente do curtume há mais de 30 anos. O curtume está localizado a 4 km do centro de Guarapuava. A nascente

*e-mail: spquinaia@unicentro.br

Tabela 1. Concentração de Cr em material particulado em suspensão (MPS), em água filtrada (0.45 µm) e em sedimentos coletados no local de estudo¹⁰

Pontos de coleta*	MPS µg Cr _{total} /g	Água µg Cr _{III} /L	Sedimento mg Cr _{total} /kg
Confluência (-25.363349, -51.430636)	2076	36,4	1691
Córrego (-25.362806, -51.431535)	1580	10,3	873
Tanque de peixes (-25.362942, -51.430795)	2877	10,6	1473

*Google Earth.

do córrego situa-se metros acima do curtiúme, sendo que seu curso percorre o meio urbano. Pereira¹⁰ determinou teores de Cr no material particulado em suspensão, na água e nos sedimentos coletados em vários pontos do córrego (Tabela 1).

Os resultados revelaram concentrações elevadas de Cr, muito acima dos estipulados pelo *Canadian Council of Ministers of the Environment* (CCME, 1999).¹² Quinária et al.¹¹ realizaram a especiação química de Cr e Pb em sedimentos do mesmo córrego. Os resultados indicaram concentrações acima dos níveis normalmente encontrados em ambientes não contaminados, variando de 10 a 4400 mg/kg de Cr e 7 a 320 mg/kg para Pb.¹¹

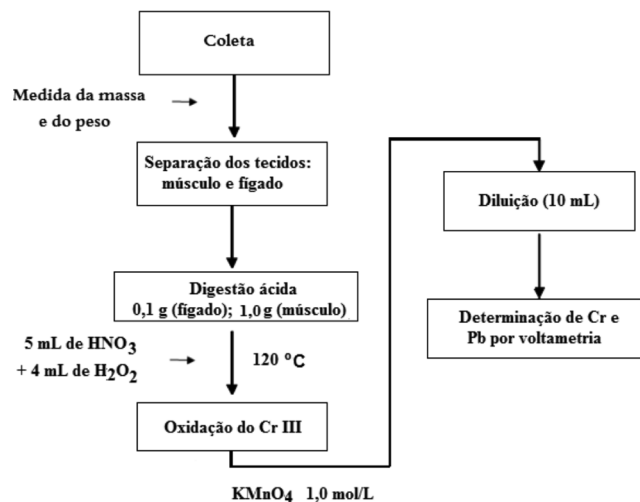
Reagentes e equipamentos

Os reagentes utilizados no trabalho foram de grau analítico. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (Human UP 900[®]). As soluções dos íons metálicos Cr e Pb foram feitas através da diluição de solução padrão estoque 1000 mg/L (Biotec – Reagentes analíticos). Para a digestão das amostras utilizou-se ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio 30% v/v. Para a determinação voltamétrica do Cr utilizou-se o agente complexante ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) 0,05 mol/L, nitrato de sódio 2,5 mol/L e acetato de sódio 0,2 mol/L. Para ajuste de pH do meio reacional acrescentou-se uma solução de hidróxido de sódio 2,0 mol/L e um tampão para pH 6,2 (fosfato monobásico de potássio 0,1 mol/L e hidróxido de sódio 0,1 mol/L). Para a quantificação do Pb utilizou-se o tampão de ácido acético/amônia em pH 4,6. Para a determinação dos íons metálicos utilizou-se um polarógrafo 757 Metrohm, com um sistema contendo três eletrodos. O eletrodo de referência utilizado foi Ag/AgCl com uma solução de KCl 3,0 mol/L; o eletrodo auxiliar foi um fio de platina e o eletrodo de trabalho, um eletrodo de mercúrio. Utilizou-se nitrogênio como gás de purga para retirar o oxigênio presente no meio reacional.

Coleta e preparo das amostras

As amostras de peixes foram coletadas nos tanques no ano de 2009. Também foram coletados peixes de um local distante de possíveis fontes de contaminação (tanque de criação de peixes localizado na zona rural na cidade de Pitanga - PR), para controle e comparação com o local de estudo. As amostras foram coletadas, estocadas em embalagens plásticas e transportadas sob refrigeração até o laboratório. Utilizaram-se protocolos de coleta e limpeza baseados em técnicas limpas validados internacionalmente.¹³ Tais procedimentos visam diminuir possíveis contaminações durante todas as etapas de processamento das amostras, desde a amostragem até a análise final. Os peixes coletados foram das espécies *Tilapia rendalli* (tilápia), *Ciprinus carpio Linnaeus* (carpa) e *Bagre marinus* (bagre bandeira). Antes de serem armazenadas sob refrigeração, as amostras foram pesadas, medidas e dissecadas, separando-se uma porção de aproximadamente 20 g de músculo e o fígado de cada peixe. As amostras foram preparadas por processo de digestão via úmida (Figura 1). As quantidades de amostras utilizadas para as digestões foram de aproximadamente 0,1 g para o fígado e 1,0 g para a musculatura dos peixes. Como as medidas voltamétricas são destinadas à determinação

da espécie de Cr (VI), efetuou-se a oxidação do Cr nas amostras adicionando-se permanganato de potássio 1,0 mol/L após a digestão, ainda em aquecimento, até cor levemente rosa.

**Figura 1.** Procedimento analítico para a preparação das amostras de peixes

Quantificação de crômio e chumbo

A determinação analítica do íon Cr por voltametria catódica adsorvente catalítica (CCSV) foi realizada com a utilização de 30 mL de solução tampão (pH 6,2) e 2,5 mL de eletrólito (DTPA 0,05 mol/L + Na₂NO₃ 2,5 mol/L + CH₃COONa 0,2 mol/L). O pH do meio foi ajustado para aproximadamente 6,2 com solução de NaOH 2,0 mol/L e, finalmente, foi adicionada uma alíquota da amostra digerida (geralmente 0,1 mL).

O procedimento analítico para a quantificação do Pb nas amostras, após a digestão da matéria orgânica, consistiu na adição de 3 mL de tampão ácido acético/amônia com água deionizada (7 mL) na cela polarográfica juntamente com a amostra digerida. A Tabela 2 contém

Tabela 2. Parâmetros instrumentais usados na determinação voltamétrica de Pb e Cr

Parâmetros	Pb	Cr
Eletrodo de trabalho	HMDE	HMDE
Tempo de purga	300 (s)	300 (s)
Tempo de deposição	60 (s)	60 (s)
Amplitude	-50 (mV)	-50 (mV)
Potencial inicial de varredura	-0.8 (V)	-1.0 (V)
Potencial final de varredura	1.0 (V)	-1.45 (V)
Tempo de incremento de voltagem	0.2 (s)	0.3 (s)
Incremento de voltagem	0.006 (V)	0.009 (V)
Velocidade de varredura	30 (mV/s)	33.3 (mV/s)
Tempo de equilíbrio	10 (s)	10 (s)
Potencial de deposição	0.8 (V)	-1 (V)

os parâmetros para determinação de Pb e Cr através da voltametria de redissolução anódica e catódica, respectivamente. Os limites de detecção estabelecidos para esses procedimentos analíticos foram de 0,01 µg/g para o Pb e de 0,03 µg/g para o Cr.

Tratamento estatístico

A análise dos componentes principais (ACP) foi aplicada aos dados experimentais autoescalados, para verificar as possíveis semelhanças e diferenças entre as amostras coletadas e a correlação entre as variáveis. Na interpretação dos dados obtidos com as análises dos peixes, as variáveis foram divididas em peso da amostra, comprimento dos peixes e concentração de Cr e Pb nos tecidos do fígado e da musculatura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A bioacumulação de metais em peixes pode representar um risco à saúde dos indivíduos que os consomem. O músculo constitui a maior massa do peixe que é consumida, então deve ser considerada uma atenção especial a essa parte. Foram avaliadas 13 amostras de peixes, sendo 7 peixes da espécie tilápia, 5 carpas e 1 bagre. Foi verificado que os teores de Cr e Pb, nas amostras coletadas próximo ao curtume, estão mais concentrados nos tecidos do fígado dos peixes (Tabela 3); estes resultados estão de acordo com a literatura, pois este órgão apresenta um poder acumulativo maior. No Brasil, o limite máximo de Cr (0,10 µg/g) e Pb (2,0 µg/g) permitido por lei para alimentos está regulamentado desde 1965 por meio do Decreto Lei 55.871/65 e pelo Ministério da Saúde, Portaria 685-980.¹⁴ Verificou-se que todas as amostras ultrapassaram o limite de Cr estabelecido pela legislação. Com relação ao Pb, somente três amostras estão acima do limite para o músculo e todas acima para o fígado. As amostras coletadas no ambiente isento da fonte antropogênica (área rural) não apresentaram teores de Cr e Pb no músculo acima do estabelecido por lei.¹⁴

Elevadas concentrações de íons metálicos nos músculos dos peixes são detectadas apenas quando há contaminação elevada em órgãos acumuladores, devido à presença de contaminantes nos ambientes aquáticos. Foi calculado o fator de bioconcentração do fígado em relação ao músculo para as espécies avaliadas (Figura 2). Os fatores

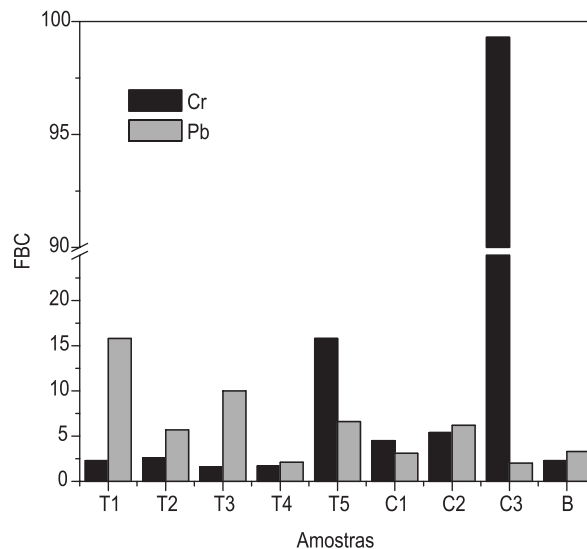


Figura 2. Fatores de bioconcentração (fígado/músculo) para Pb e Cr em peixes (Tilápia: T1, T2, T3, T4, T5; Carpa: C1, C2, C3; Bagre: B)

de bioconcentração (FBC) dos metais pesados nas amostras coletadas próxima ao curtume foram obtidos pela Equação 1.¹⁵

$$FBC = C_{\text{fígado}} / C_{\text{músculo}} \quad (1)$$

O FBC do fígado em relação ao músculo variou de 1,7 a 99,4 para o Cr e de 2 a 15,7 para o Pb. Esses valores confirmam a maior concentração dos metais no fígado. Fatores de bioconcentração elevados, associados a uma maior ingestão de peixe, podem causar aumento na exposição da população em ambientes contaminados.¹⁶

O índice de poluição metálica (IPM) também foi utilizado para comparar o nível de acumulação total de metais nos tecidos dos peixes. Os valores de IPM foram calculados de acordo com a Equação 2:¹⁷

$$IPM = (M_1 \times M_2 \times \dots \times M_n)^{1/n} \quad (2)$$

onde M_n é a concentração do metal n na amostra. Os valores de IPM no fígado de peixe foram maiores que no músculo, mostrando novamente

Tabela 3. Concentração de Pb e Cr em músculo e fígado (µg/g) de peixes

Amostra	Massa (g)	Comprimento (cm)	Cr Músculo	Cr Fígado	Pb Músculo	Pb Fígado
T1	348,19	13,45	0,79 ± 0,01	1,84 ± 0,50	2,17 ± 0,03	34,30 ± 1,90
T2	333,50	14,02	0,33 ± 0,01	0,89 ± 0,13	1,51 ± 0,30	8,75 ± 0,55
T3	138,95	19,50	1,12 ± 0,07	1,86 ± 0,11	1,00 ± 0,20	10,01 ± 0,40
T4	64,00	16,20	1,30 ± 0,16	2,21 ± 0,18	1,91 ± 0,12	4,08 ± 0,06
T5	60,00	16,80	0,22 ± 0,05	3,49 ± 0,40	0,35 ± 0,02	2,32 ± 0,10
C1	60,00	16,80	0,10 ± 0,02	0,45 ± 0,19	2,09 ± 0,10	6,51 ± 0,90
C2	142,00	22,90	0,18 ± 0,01	0,98 ± 0,03	1,25 ± 0,10	7,81 ± 0,20
C3	122,83	20,00	0,16 ± 0,03	15,90 ± 0,30	2,56 ± 0,10	5,18 ± 0,70
B	50,00	18,30	0,57 ± 0,09	1,35 ± 0,20	1,67 ± 0,07	5,55 ± 0,08
T6*	160,00	20,00	< LD	< LD	0,04 ± 0,03	0,76 ± 0,05
T7*	138,00	24,00	0,05 ± 0,04	0,54 ± 0,03	0,33 ± 0,03	1,00 ± 0,04
C4*	248,00	25,00	< LD	< LD	< LD	0,84 ± 0,04
C5*	236,00	24,00	0,03 ± 0,03	0,32 ± 0,06	0,36 ± 0,07	1,35 ± 0,04

Tilápias: T1, T2, T3, T4, T5, T6*, T7*; Carpas: C1, C2, C3, C4*, C5*; Bagre: B. LD = limite de detecção. *Peixes coletados em ambiente isento da fonte antropogênica (área rural).

Tabela 4. Ocorrência dos contaminantes inorgânicos, valores de índice de poluição metálica (IPM), estimativa de ingestão semanal e porcentagem do PTWI (estimada para o consumo de uma porção diária de 50 g de pescado)

Peixe	Concentração Média (µg/g)	IPM Músculo ^c	IPM Fígado ^c	Cr PTWI (µg/kg peso corpóreo ^a)	Pb PTWI (µg/kg peso corpóreo ^a)	% PTWI ^b Cr	% PTWI ^b Pb
<i>Tilapia r.</i>	0,75	1,01	4,94	4,38	8,11	18,8	32,4
<i>Cyprinus c.L.</i>	0,15	0,54	6,12	0,85	11,43	3,6	45,7
<i>Bagre m.</i>	0,57	0,97	2,73	3,32	9,74	14,2	38,9

^a Peso adultos (maiores de 17 anos): 60 kg. ^b PTWI para Pb = 25 µg kg⁻¹ peso corpóreo semana⁻¹, para Cr = 23,3 µg kg⁻¹ peso corpóreo semana⁻¹.^{18,19}. ^c Acúmulo de íons metálicos em diferentes tecidos de peixe (valor médio entre as amostras).

que órgãos distintos têm diferentes habilidades para vincular metais pesados (Tabela 4). A tilápia e o bagre apresentaram IPM parecidos para o músculo, enquanto que para o fígado observaram-se valores maiores para a tilápia e a carpa.

O músculo é a maior porção do peixe que normalmente é consumida, portanto, uma avaliação do risco à saúde humana foi estimada através da comparação da ingestão dos metais presentes no músculo, pela taxa de consumo de peixes com a ingestão semanal tolerável Provisional (PTWI) estabelecida pelo comitê de aditivos em alimentos JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*).¹⁸ Nos cálculos da estimativa de ingestão foi considerado o consumo de 50 g de peixe/dia, peso corpóreo de 60 kg para adultos e os valores da média de cada contaminante inorgânico encontrado nas amostras de uma mesma espécie (Tabela 4). Analisando a Tabela 4, verificou-se que o contaminante que mais contribuiu para alcançar o valor de PTWI foi o Pb na espécie Carpa, atingindo 45,7% do PTWI. No entanto, as estimativas para Cr e Pb nas espécies analisadas não excederam a PTWI.

A Tabela 5 compara os intervalos de concentrações de Cr e Pb obtidos com resultados divulgados na literatura para amostras similares. Embora exista certa variação com relação aos níveis de metais pesados entre os diferentes organismos aquáticos listados na Tabela 5, pode-se observar que, de maneira geral, os resultados estão em acordo com a maioria dos dados divulgados por outros pesquisadores.

Tabela 5. Comparação dos resultados obtidos com literatura específica (µg/g)

Amostra	Pb	Cr	Ref.
músculo	0,04 - 2,54	0,03 - 1,30	Este trabalho
fígado	0,76 - 34,3	0,32 - 15,9	
músculo	< 0,05 - 0,55	< 0,01 - 2,60	20
músculo	0,30 - 0,61	-	21
pele	0,16 - 0,08	-	
brânquias	0,19 - 1,2	-	
brânquias	0,40 - 0,53	0,42 - 0,49	22
estômago	0,35 - 0,40	0,20 - 0,23	
intestino	0,12 - 0,31	0,15 - 0,19	
fígado	0,32 - 0,40	0,19 - 0,26	23
músculo	2,05 - 2,98	1,02 - 1,65	
brânquias	2,67 - 7,3	2,25 - 6,91	
rim	6,22 - 8,97	2,24 - 2,85	
fígado	7,1 - 9,45	2,45 - 3,65	24
músculo	0,20 - 5,81	0,11 - 0,42	
brânquias, fígado, rim, músculo	1400 - 2000	0,79 - 1,08	25
músculo	1,03	1,28	26
pele	4,78	10,90	
gônadas	8,41	10,60	

ESTUDO QUIMIOMÉTRICO

A análise dos componentes principais (ACP) foi aplicada aos dados experimentais autoescalados dos teores de íons metálicos

obtidos nos tecidos dos peixes para verificar as possíveis semelhanças e/ou diferenças entre as amostras e sua correlação entre as variáveis (massa, comprimento do peixe e concentrações de Pb e Cr). O auto-escalamento foi feito para assegurar que todas as análises tivessem igual importância para auxiliar na discriminação das amostras. Foi efetuada a redução da variável Cr-músculo, pois a mesma não foi significativa para a avaliação da ACP. A Figura 3 ilustra os pesos da 1ª (54,83%) e 2ª (45,17%) componentes em relação às variáveis, totalizando 100% da amostragem. Pode ser observado que a variável “comprimento dos peixes” está inversamente correlacionada com as demais variáveis. Todas as amostras (T6, T7, C2, C4, C5) que se encontram no quadrante da variável “comprimento” apresentaram as

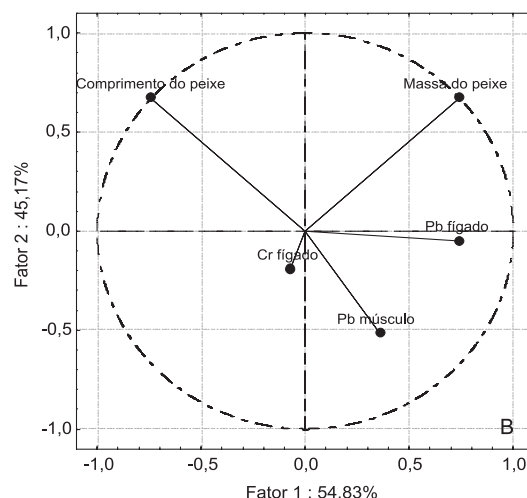
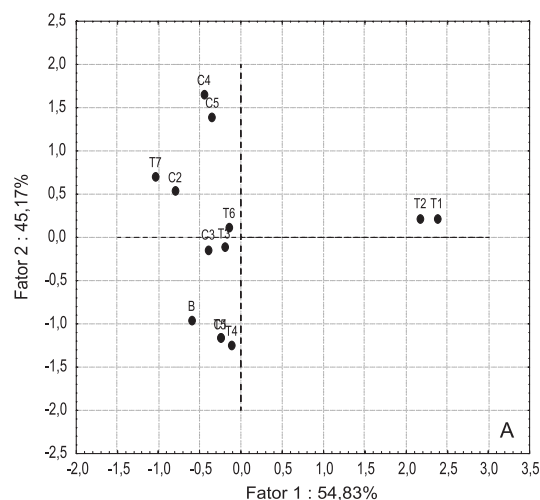


Figura 3. Scores e loadings das amostras (Tilápia: T1, T2, T3, T4, T5, T6*, T7*; Carpa: C1, C2, C3, C4*, C5*; Bagre: B)

menores concentrações dos íons metálicos e maiores comprimentos. Segundo Liang *et al.*,²⁷ o acúmulo é inversamente proporcional ao tamanho do peixe. A energia metabólica é o fator determinante do acúmulo ao comprimento do animal correlacionada à velocidade de sequestração e eliminação. Portanto, peixes menores apresentariam uma velocidade de absorção maior dos metais e se concentrariam nas vísceras. A variável “massa das amostras” apresentou correlação com o teor de Pb no fígado e no músculo dos peixes (fator 1, eixo positivo de x), formando um grupo entre as amostras T2 e T1, indicando que quanto maior a massa do peixe maior o acúmulo de Pb. Pelo Fator 2 (eixo negativo de y) pode ser verificada a correlação entre as variáveis Cr-fígado, Pb-músculo e Pb-fígado com as amostras C1, C3, T3, T4 e T5.

CONCLUSÃO

O estudo forneceu informações sobre a capacidade de bioacumulação de três espécies de peixes de água doce comuns na região, demonstrando que podem ser empregadas como biomonitores para Pb e Cr. Em comparação com o tecido muscular, o tecido do fígado apresentou elevadas concentrações de Cr e Pb. Esta capacidade de sequestro do íon metálico torna o tecido do fígado mais adequado para fins de biomonitorização em relação ao músculo. Comparando-se as amostras coletadas do ambiente isento da contaminação antropogênica com as do ambiente que recebe efluentes do curtume, concluiu-se que os bioindicadores estão com concentrações de Cr e Pb muito acima do nível basal natural, indicando que o córrego e o tanque de peixes, previamente avaliados como contaminado por Pereira¹⁰ estão poluídos.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Está disponível em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo pdf, com acesso livre.

REFERÊNCIAS

1. Paquin, P. R.; Santore, R. C.; Wu, K. B.; Kavvadas, C. D.; Di Toro, D. M.; *Environ. Sci. Policy* **2000**, 3, 175.
2. Esteves, F. A.; *Fundamentos de Limnologia*, 2ª ed., Interciência: Rio de Janeiro, 1998.
3. Hoda, H. H.; Ahdy, A. M.; Aly, A.; Fathy T. T.; *Egypt. J. Aquat. Res.* **2007**, 33, 85.
4. Guimarães, V.; Sígolo, J. B.; *Quim. Nova* **2008**, 31, 1696.
5. Costa, S. C.; Hartz, S. M. M.; *Braz. Arch. Biol. Technol.* **2009**, 52, 241.
6. Esser, H. O.; *Pest. Sci.* **1986**, 17, 265.
7. Al-Yousufa M. H.; El-Shahawi. M. S.; Al-Ghaise, S. M.; *Sci. Total Environ.* **2000**, 87, 94.
8. Abdel-Baki, A. S.; Dkhil, M. A.; Al-Quraishy, S.; *Afr. J. Biotechnol.* **2011**, 10, 2541.
9. Ayandiran, T. A.; Fawole, O. O.; Adewoye, S. O.; Ogundiran, M. A.; *J. Cell Anim. Biol.* **2009**, 3, 113.
10. Pereira, C. D.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil, 2008.
11. Quináia, S. P.; Cavagnoli, A. R.; Martins, V. J.; *RECEN* **2009**, 11, 49.
12. http://www.ccme.ca/assets/pdf/sedqg_summary_table.pdf, acessada em Maio 2011
13. http://www.dep.state.fl.us/water/wqssp/docs/Translator_Doc.pdf, acessada em Março 2009.
14. Brasil, Ministério da Saúde; Portaria no. 685/98, SVS/MS, Diário Oficial da União, 28/8/98, republicado em 29/9/98, e Tabela II, Aditivos Acidentais do Decreto no. 55.871/65, de 26/3/65, referente a alimentos não contemplados na Portaria 685/98.
15. Silvano, J.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2003.
16. Fernandes, H. M.; Bidone, E. D.; Veiga, L. H. S.; Patchineelam, S. R.; *Environ. Pollut.* **1994**, 85, 259.
17. Usero, J.; Gonzales-Regalado, E.; Graica, I.; *Environ. Int.* **1997**, 23, 291.
18. <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/summary73.pdf>, acessada em Maio 2011.
19. Zazouli, M. A.; Shokrzadeh, M.; Mohseni, A.; Bazrafshan, E.; *World Appl. Sci. J.* **2006**, 2, 60.
20. Vasquez, G. F.; Virender, K. S.; *Texas J. Sci.* **2001**, 53.
21. Kuznetsova, A. I.; Zarubina, O. V.; Leonova, G. A.; *Environ. Geochem. Health* **2002**, 24, 205.
22. Dimari, G.; Hati, S. S. A.; *Scientific Res. Essay* **2009**, 4, 894.
23. Begum, A.; Harikrishna, S.; Khan I.; *Int. J. ChemTech Res.* **2009**, 1, 245.
24. Andreji, J.; Stránai, I.; Massanyi, P.; Valent, M.; *J. Environ. Sci. Health, Part A: Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng.* **2005**, 40, 899.
25. Vinodhini, R.; Narayanan, M.; *Int. J. Environ. Sci. Tech.* **2008**, 5, 179.
26. Yilmaz, B. A.; *Environ. Res.* **2003**, 92, 277.
27. Liang, Y.; Chewng, R. Y. H.; Wong, M. H.; *Water Res.* **1999**, 33, 2690.