

# Avaliação de contaminantes inorgânicos (As, Cd, Cr, Hg e Pb) em espécies de peixes

## Inorganic contaminants (As, Cd, Cr, Hg and Pb) in fish species

RIALA6/1404

Marcelo Antonio MORGANO<sup>1\*</sup>, Ana Paula Ferreira de OLIVEIRA<sup>1</sup>, Luana Cristina RABONATO<sup>1</sup>, Raquel Fernanda MILANI<sup>1</sup>, Juliana Parreira VASCONCELLOS<sup>2</sup>, Cassia Neves MARTINS<sup>2</sup>, André Lee CITTI<sup>2</sup>, Evelise Oliveira TELLES<sup>2</sup>, Simone de Carvalho BALIAN<sup>2</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, CP 139, CEP 13070-178, Campinas, SP, Brasil. e-mail: morgano@ital.sp.gov.br.

<sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo/USP

Recebido: 22.02.2011 – Aceito para publicação: 22.11.2011

### RESUMO

O teor dos contaminantes arsênio total, cádmio, cromo, chumbo e mercúrio total, foi avaliado em 240 amostras das espécies de peixes pescada (*Macrodon ancylodon*), tainha (*Mugil liza*), corvina (*Micropogonias furnieri*) e sardinha (*Sardinella brasiliensis*), adquiridas no comércio atacadista da Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), no inverno de 2009 e no verão de 2010. As determinações dos contaminantes inorgânicos foram realizadas por espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo (ICP OES). Os intervalos de concentração obtidos, em mg.kg<sup>-1</sup> (peso úmido), foram de As total (<0,1-8,63); Cd (<0,01-0,287); Cr (<0,02-0,44); Pb (<0,02-2,92) e Hg total (<0,002-0,285). As espécies mais contaminadas foram a sardinha e a corvina, sendo encontrados As e Cr em níveis acima dos limites máximos permitidos pela legislação brasileira (1 e 0,1 mg kg<sup>-1</sup>), em 67% e 7% das amostras analisadas, respectivamente. Este estudo demonstra a ocorrência de contaminação por arsênio, cromo e chumbo nas espécies de pescada, tainha, corvina e sardinha. O maior índice de arsênio foi detectado na espécie sardinha. Na corvina, os contaminantes As, Cr e Pb foram encontrados em teores mais elevados no período de inverno do que na época de verão.

**Palavras-chave.** mercúrio, arsênio, chumbo, cádmio, pescados, estimativa de ingestão.

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the contaminants occurrence as total arsenic, cadmium, chromium, lead and total inorganic mercury content in tissues samples of king weakfish (*Macrodon ancylodon*), mullet (*Mugil liza*), white mouth croaker (*Micropogonias furnieri*) and sardine (*Sardinella brasiliensis*), purchased during winter of 2009 and summer of 2010. The inorganic contaminants determination were performed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). The ranges of elements concentration obtained, in mg. kg<sup>-1</sup> (wet weight), were: total As (<0.1-8.63); Cd (<0.01-0.287); Cr (<0.02-0.44); Pb (<0.02-2.92), and total Hg (<0.002-0.285). The As and Cr contents were above the maximum amounts established by the Brazilian legislation (1 and 0.1 mg kg<sup>-1</sup>) in 67% and 7% of analyzed samples, respectively. The sardine and white mouth croaker species were the mostly contaminated samples. This study showed that the king weakfish, mullet, white mouth croaker and sardine fish species were contaminated by total arsenic, chromium and lead. The highest arsenic contents were found in sardine species. In corvine species, the contaminants As, Cr and Pb were higher in the wintertime than summer season.

**Keywords.** mercury, arsenic, lead, cadmium, fish species, estimated weekly intake.

## INTRODUÇÃO

A principal fonte de exposição ao homem para os contaminantes inorgânicos (metais pesados) ocorre pelo consumo de alimentos, principalmente por pescado, contendo elementos não essenciais tóxicos como o arsênio, o chumbo, o mercúrio, o cádmio e o crômio. Estes podem ser originários de fontes de poluição das águas de superfície decorrente de descargas de efluentes pelas indústrias, deposições atmosféricas de poluentes e acidentes ocasionados por derramamento de compostos químicos tóxicos, entre outros<sup>1</sup>.

Segundo Kevan<sup>2</sup>, os contaminantes arsênio, cádmio, mercúrio e chumbo são elementos largamente distribuídos no ambiente. A ocorrência destes no pescado pode ter influência de vários fatores, como a localização geográfica, espécie e tamanho do pescado, padrões alimentares, solubilidade dos produtos químicos e persistência no ambiente<sup>3</sup>.

No Brasil, alguns autores já constataram a presença de contaminantes inorgânicos na pescada, tainha, corvina e sardinha. Tarley et al.<sup>4</sup> encontraram em amostras de sardinha enlata teores de Cr (0,46 a 1,18 mg.kg<sup>-1</sup>) acima do permitido pela legislação brasileira (0,1 mg.kg<sup>-1</sup>).

Pereira Filho et al.<sup>5</sup> avaliaram a presença de contaminantes inorgânicos em 11 espécies de pescado comercializados na Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo (CEAGESP/SP) e verificaram que em algumas das espécies analisadas os teores de Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb e Zn estavam próximos aos limites máximos permitidos pela legislação brasileira.

Morgano et al.<sup>6</sup> avaliaram o teor de Hg total em amostras de diversas espécies de pescado da cadeia produtiva da Baixada Santista (SP) encontrando níveis entre 0,166 e 0,878 mg.kg<sup>-1</sup>. Quase a totalidade das amostras apresentou concentração de mercúrio total abaixo do permitido pela legislação brasileira que é de 0,5 mg.kg<sup>-1</sup> para peixes não predadores e 1,0 mg.kg<sup>-1</sup> para peixes predadores.

Veado et al.<sup>7</sup> analisaram amostras de tilápia coletadas no Lago da Pampulha (MG) e observaram que o rim foi o órgão que mais concentrou os contaminantes inorgânicos como Al, Ba, Fe, Mn, Pb, Sr, Ti e Zn.

Espécies de peixes procedentes de diferentes níveis tróficos coletados no Rio Paraíba do Sul (RJ) foram estudadas por Terra et al.<sup>8</sup>. Os autores encontraram níveis elevados de Cr e Pb excedendo o valor máximo permitido pela legislação brasileira nas espécies carnívoras (*O. heptesus*), concluindo que estas são mais

propensas a acumular os contaminantes inorgânicos do que as espécies de outros níveis tróficos.

Curcho<sup>9</sup> avaliou a presença de contaminantes inorgânicos em músculos de pescados mais consumidos nas regiões costeiras de Cananéia e Cubatão - SP. Os resultados mostram que na região de Cananéia, a média de As na espécie corvina ficou em 1,85 mg.kg<sup>-1</sup> e a média na pescada em 1,10 mg.kg<sup>-1</sup>. Em Cubatão, obteve média de 1,37 mg.kg<sup>-1</sup> para a corvina e 0,65 mg.kg<sup>-1</sup> para a pescada. A espécie sardinha apresentou média de As de 1,70 mg.kg<sup>-1</sup>, valor esse acima do máximo permitido pela legislação nacional.

Estudos semelhantes foram realizados em outros países. Marcovecchio et al.<sup>10</sup> estudaram os contaminantes Cd, Hg e Zn em espécies de corvina e tainha do estuário de La Plata e encontraram níveis de Cd no fígado variando entre 0,95 a 5,34 mg.kg<sup>-1</sup> (peso seco) para a tainha. Os teores de zinco e mercúrio foram mais elevados no fígado do que no músculo para as duas espécies estudadas.

Burger e Gochfeld<sup>11</sup> estudaram As, Cd, Cr, Hg, Mn, Pb e Se em 11 espécies de pescados procedentes de supermercados e feiras livres em New Jersey, EUA e obtiveram níveis de As, Hg, Pb e Se, para algumas das amostras, em concentração que pode causar efeitos sub-letais em mamíferos e, algumas amostras excederam os limites permitidos pela legislação americana.

Kojadinovic et al.<sup>12</sup> estudaram a bioacumulação de elementos minerais (Cu, Fe, Mn, Se e Zn) e contaminantes inorgânicos (Cd, Hg e Pb) em músculo, fígado e rim de pescado de interesse comercial, do oeste do Oceano Índico e encontraram em algumas das amostras, níveis de concentração para Cd, Hg, Pb e Zn acima do limite permitido para consumo humano.

Fernandes et al.<sup>13</sup> avaliaram a presença de Cr, Cu, Pb e Zn em amostras de tainha (*Mugil liza*) de um lago de Portugal e observaram que Cu e Zn aparecem em maior concentração no fígado (262 mg.kg<sup>-1</sup> para Cu e 89 mg.kg<sup>-1</sup> para Zn) do que no músculo (<3 mg.kg<sup>-1</sup> para Cu e 26 mg.kg<sup>-1</sup> para Zn).

Diante do exposto e devido à ascendência do mercado pesqueiro no Brasil nos últimos anos, a investigação sobre a qualidade do produto a ser consumido é muito importante para garantir a saúde dos consumidores de pescado. Assim, este estudo teve como objetivos: determinar os contaminantes inorgânicos Hg e As total, Cd, Pb e Cr nas espécies de peixe pescada, tainha, corvina e sardinha, peixes de maior representatividade no cenário regional, tanto em volume capturado quanto

consumido, utilizando a técnica de espectrometria de emissão com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP OES); realizar uma avaliação da estimativa de risco pelo consumo de pescado e verificar a provável interferência da época do ano na ocorrência de metais no pescado.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

As amostras de pescado foram adquiridas na CEAGESP/SP e, em seguida, encaminhadas para o Laboratório de Físico-química do setor de Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, onde foi feita a filetagem, retirada do máximo possível de espinhos e homogeneização. Em seguida, 200 gramas de musculatura foram colocados em sacos plástico, identificados e armazenados em freezer (-16 °C) até o momento das análises.

Foram coletadas 120 amostras no período “inverno” (junho a agosto) de 2009, e 120 amostras no período “verão” (dezembro a março) de 2010, totalizando 60 amostras para cada espécie, respectivamente: pescada foguete - *Macrodon ancylodon* (Bloch & Schneider, 1801), tainha - *Mugil liza* (Valenciennes, 1836), corvina - *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) e sardinha verdadeira - *Sardinella brasiliensis* (Steindacher, 1789). A seleção dessas espécies levou em consideração o volume de vendas (t/ano), de acordo com dados da CEAGESP/SP.

A pescada foguete é um cieniêdo demersal marinho com ampla distribuição geográfica, ocorrendo das águas tropicais da Venezuela até as águas subtropicais da Argentina podendo ser encontradas larvas e jovens em águas estuarinas<sup>14</sup>. Os locais de maior abundância são região norte do continente sul americano e região sul do Brasil<sup>15</sup>. A sardinha verdadeira se alimenta de organismos planctônicos e vive em águas costeiras, em grandes cardumes. Já a corvina, peixe de hábitos costeiros, encontrado em fundos de lama e areia, mais comumente em profundidades inferiores a 60 metros, ocorre também em áreas estuarinas, principalmente os exemplares jovens que utilizam esse ambiente para alimentação e crescimento. Ocorre das Antilhas e América Central (Costa Rica) até a Argentina<sup>16</sup>. A tainha é um peixe que tem sua ocorrência da Venezuela à Argentina, sendo a *Mugil liza*, a espécie encontrada na região do Caribe e na costa Atlântica da América do Sul. Peixe costeiro que forma grandes cardumes em ambientes estuarinos,

desova no mar e os jovens, quando adquirem capacidade de nadar ativamente, locomovem-se para águas costeiras, penetrando em estuários, onde se estabelecem algum tempo. Alimenta-se de matéria vegetal retirada do lodo ou areia do substrato onde vivem<sup>17</sup>.

### Metodologia Analítica

Toda a vidraria utilizada neste trabalho, após lavagem, permaneceu previamente em imersão em solução de HNO<sub>3</sub> 20 % por, no mínimo, 2 horas, seguida de enxague com água desmineralizada.

### Determinação de As, Pb, Cd, Cr por digestão ácida aberta em bloco<sup>18,19</sup>

Foi pesado 1,0 g da amostra *in natura* em tubo de vidro e em seguida, adicionados 15 mL de ácido nítrico concentrado, permanecendo em repouso durante a noite. No dia seguinte, adicionaram-se 5 mL de peróxido de hidrogênio 30% (m/v) e os tubos foram colocados no bloco digestor, sendo aquecidos à temperatura máxima de 100 °C por 6 horas. Após a digestão, o conteúdo dos tubos foi transferido quantitativamente para balão volumétrico de 25 mL com solução HCl 5% (v/v).

### Determinação de mercúrio por digestão com mistura sulfonítrica<sup>20,19</sup>

Foi pesado 1,0 g da amostra *in natura* em tubo de vidro, adicionados 10 mL da mistura sulfonítrica 1:1 (v/v) com 0,1 % (m/v) de pentóxido de vanádio e aquecido em banho-maria com agitação à temperatura máxima de 90 °C por 3 horas. Após resfriamento foram adicionados 5 mL de solução aquosa de permanganato de potássio 7% (m/v) e a solução foi aquecida novamente em banho-maria à 90 °C por mais 3 horas. Terminada a digestão foram adicionados 900 µL de solução aquosa de cloridrato de hidroxilamina 20% (m/v) transferindo-se quantitativamente para balão volumétrico de 25 mL com água deionizada.

### Instrumentação

As determinações dos contaminantes inorgânicos foram realizadas em um equipamento ICP OES da marca Varian (Mulgrave Victoria, Austrália), modelo Vista – MPX CCD Simultaneous ICP OES, com visão axial, equipado com uma fonte de radio frequência (RF) de 40 MHz, um detector multielementar simultâneo de estado sólido do tipo CCD (Charge Coupled Device), uma bomba peristáltica, câmara de nebulização e um

nebulizador *sea spray*. O sistema é controlado pelo *software* ICP Expert e utiliza argônio líquido com pureza de 99,996% (Air Liquid, SP, Brasil). As condições experimentais otimizadas de operação do equipamento foram: potência de RF (1000W); vazão do gás de nebulização ( $0,9 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ); vazão de argônio principal ( $15 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ); vazão de argônio auxiliar ( $1,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ); tempo de integração e de leitura (10 s); número de replicatas (3); comprimentos de onda, As (193,696 nm), Cd (214,439 nm), Cr (276,653 nm), Pb (220,353 nm), Hg (194,164 nm). Para a determinação de mercúrio foi usado um gerador de hidretos da marca Varian (Mulgrave Victoria, Austrália), modelo VGA 77 acoplado ao ICP OES, com a seguinte configuração: vazão da amostra ( $9 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ); vazão de HCl  $10 \text{ mol L}^{-1}$  ( $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ); Vazão de SnCl<sub>2</sub> 25 % ( $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ); pressão gás de arraste (Ar) (350 kPa) e fluxo de gás de arraste (Ar) ( $100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

### Curvas Analíticas

As curvas analíticas para As, Cd, Cr e Pb, foram preparadas em solução HCl 5% v/v. A curva analítica para Hg foi preparada em solução sulfonítrica 5% (v/v). A faixa de concentração para a preparação das curvas analíticas para As, Cd, Cr e Pb foi de 0,0025 a 0,5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e para Hg foi de 0,0005 a 0,05  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

### Validação do método e análise estatística

A metodologia de digestão das amostras de pescado foi validada de acordo com INMETRO<sup>21</sup>, sendo avaliados os parâmetros: linearidade; sensibilidade; seletividade; limite de detecção (LOD); exatidão; e precisão.

A precisão do método foi avaliada pelo coeficiente de variação de 7 repetições analíticas. A precisão intermediária foi realizada num espaço de 2 semanas com o mesmo analista.

Para avaliação da exatidão do método foram utilizados os materiais de referência certificados Oyster Tissue (NIST 1566<sup>a</sup>) e Lobster Hepatopancreas (TORT-2), partindo-se de 0,25 g dos MRCs e seguindo-se o mesmo procedimento descrito anteriormente para a preparação das amostras. Também foram realizados ensaios de recuperação para a avaliação da exatidão da metodologia analítica. Foi realizado um teste de recuperação em três níveis de concentração para cada contaminante inorgânico de acordo com a recomendação do MAPA, Instrução Normativa nº 24/2009, utilizando-se o LMR (Limite Máximo de Resíduo). A partir do LMR dos contaminantes estudados na legislação brasileira para

pescados ( $1,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  para As e Cd;  $2,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  para Pb e  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  para Hg), as amostras foram fortificadas em três níveis de concentrações, levando-se em consideração o fator de diluição de 25 para as amostras analisadas e os níveis definidos foram: baixa ( $0,5 \cdot \text{LMR}$ ), média ( $1 \cdot \text{LMR}$ ) e alta ( $1,5 \cdot \text{LMR}$ ). Para o elemento Cr foi usado o mesmo nível de fortificação de As e Cd, pois se fosse usado o seu valor do LMR ( $0,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) não seria atingido o limite de detecção para este elemento.

A estatística descritiva (média, desvio-padrão, mediana, intervalo) e análise de variância (ANOVA) foram conduzidas usando o *software* Excel (versão 2007). Para verificar se as médias obtidas para os contaminantes inorgânicos das diferentes espécies de pescado foram estatisticamente diferentes ao nível de  $p < 0,05$ , foi aplicado o teste de comparações múltiplas de Tukey.

### Estimativa de ingestão dos contaminantes inorgânicos

A estimativa de ingestão semanal do contaminante inorgânico Hg foi calculada e expressa como porcentagem da ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) e para o Cd foi calculada e expressa como porcentagem de ingestão mensal tolerável provisória (PTMI), sendo os cálculos realizados considerando o consumo médio diário de 50 g e 11 g de pescado. Para peso corpóreo foi adotado o valor de 70 kg para adultos. Para os contaminantes As e Pb foram calculadas a estimativa de ingestão diária considerando o consumo de 11 g de pescado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Validação da metodologia analítica

Os resultados obtidos para os parâmetros de validação da metodologia estão apresentados na Tabela 1. Os limites de detecção e de quantificação foram obtidos a partir de 10 medidas das soluções de 10 brancos analíticos fortificadas com soluções padrão dos contaminantes inorgânicos em concentrações correspondentes ao menor ponto da curva analítica. O LOD foi calculado como  $3 \times s$ ; onde:  $s$  = desvio padrão das 10 repetições do branco fortificado. Para expressar o LOD, o valor encontrado foi multiplicado pela diluição da amostra (25x).

A precisão do método foi avaliada pelo coeficiente de variação de 7 repetições analíticas, utilizando-se o mesmo procedimento de medição, análise, equipamento e repetições em curto espaço de tempo. A precisão intermediária foi determinada por ensaios realizados em diferentes ocasiões (intervalo de 2 semanas) e foi expressa

**Tabela 1.** Comprimento de onda ( $\lambda$ ), coeficiente de correlação (r), sensibilidade, valor certificado de As, Cd, Cr e Pb para o material de referência TORT-2 (Lobster Hepatopancreas) e para Hg Oyster Tissue (NIST 1566<sup>a</sup>), valor obtido experimentalmente, limite de detecção (LOD) e precisão

Elemento	$\lambda$ (nm)	r	Sensibilidade (L.mg <sup>-1</sup> )	Valor Certificado (mg/kg)	Valor Obtido (mg/kg)	LOD (mg.L <sup>-1</sup> )	Precisão CV (%)
As	193,696	0,9998	80	21,6 + 1,8	21,10 + 0,00	0,1	0,2
Cd	214,439	0,9999	6819	26,7 + 0,6	23,7 + 0,8	0,01	13
Cr	276,653	0,9992	4139	0,77 + 0,15	0,59 + 0,03	0,02	4
Hg	194,164	0,9998	15639	0,35 + 0,13	0,36 + 0,02	0,002	11
Pb	220,353	0,9998	599	0,037 + 0,001	0,035 + 0,002	0,02	4

LOD = limite de detecção =  $3 \times s \times 25$ ; CV = coeficiente de variação

pelo coeficiente de variação. A precisão do método demonstrou-se satisfatória com os resultados obtidos. Para todos os elementos o valor do coeficiente de variação ficou abaixo de 13% (Tabela 1) estando de acordo com a Instrução Normativa nº 24/2009 do MAPA<sup>22</sup>.

A avaliação da exatidão do método foi realizada por teste de recuperação e comparação com material de referência certificado (MRC). Os resultados obtidos para o ensaio de recuperação, em 3 níveis de fortificação dos contaminantes inorgânicos (0,5; 1,0 e 1,5 mg.kg<sup>-1</sup> para As, Cd, Cr e Pb e 0,002; 0,025 e 0,050 mg.kg<sup>-1</sup> para Hg) foram satisfatórios variando de 98 a 106 % para As; 94 a 98 % para Cd; 97 a 108 % para Cr; 91 a 100 % para Pb e 82 a 98 % para Hg. O uso de material de referência certificado mostrou resultados concordantes para todos os elementos, exceto para o cromo que apresentou uma variação de - 23 % nos valores encontrados experimentalmente (Tabela 1).

### Contaminantes inorgânicos nas amostras de pescado

Os resultados obtidos para os contaminantes inorgânicos As, Cd, Cr, Pb e Hg nas duas épocas de coletas estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. Para a pescada fogueite (*Macrodon ancylodon*) verificou-se que a ocorrência de Cd, Pb e Hg, não atingiu o limite máximo permitido pela legislação brasileira<sup>23</sup> (1,0 mg.kg<sup>-1</sup>, para Cd; 2,0 mg.kg<sup>-1</sup>, para Pb e 0,5 mg.kg<sup>-1</sup> para Hg – espécies não predadoras e 1,0 mg.kg<sup>-1</sup> para espécies predadoras); para As verificou-se que para amostras tanto de inverno quanto de verão, os valores excederam o limite máximo permitido, sendo 6,7% e 50%, respectivamente.

Os efeitos tóxicos do As dependem da forma química que este se encontra no alimento, sendo mais tóxicos os compostos inorgânicos (As<sup>+3</sup>) do que os orgânicos (arsenobetaina). A exposição crônica para esse elemento pode causar dermatites, queratoses de pigmentação da pele, com hiperqueratinização de áreas

expostas, verrugas, e a indução do câncer de pulmão<sup>24</sup>.

Para o elemento Cr verificou-se que no período de inverno (junho a agosto de 2009), 13,3% do total das amostras analisadas apresentaram teores acima do limite máximo estabelecido pela legislação vigente (0,1 mg.kg<sup>-1</sup>). O Cr está presente na natureza em diversas formas, as mais comuns são a forma trivalente (mais estável) presente em plantas e ligadas à complexos orgânicos com função de potencializar a indução da insulina, e a forma hexavalente, mais tóxica e com potencial carcinogênico<sup>25</sup>.

Curcho<sup>9</sup> estudou a presença de As em amostras de pescada fogueite (*Macrodon ancylodon*), coletadas na região de Cananéia e encontrou teores deste contaminante acima do permitido pela legislação nacional (1,0 mg.kg<sup>-1</sup>) em 44% das amostras. Para o Cr, 19 % das amostras excederam o limite máximo permitido (0,1 mg.kg<sup>-1</sup>). Apesar da concordância desses resultados com o presente estudo, os autores não informaram qual época do ano foram coletadas as amostras.

Yusà et al.<sup>26</sup> estudaram várias espécies de peixes provenientes de mercados de Valencia, Espanha, e em 10 amostras de pescada (*Merluccius merluccius*), encontrando valores médios e intervalos de concentração, em mg.kg<sup>-1</sup>, de 0,004 (0,003-0,008) para Cd, de 0,15 (0,12-1,5) para Hg e 0,04 (0,02-0,18) para Pb.

Os resultados do presente estudo foram similares ao trabalho da Espanha, sendo que para o contaminante Hg, foram encontrados teores inferiores nas amostras brasileiras. Para a tainha (*Mugil liza*) os resultados obtidos para Cd, Cr, Pb e Hg, nas duas épocas de coleta, não apresentaram teores acima dos níveis máximos permitidos pela legislação. Já para o contaminante As, foram encontrados valores que excederam os limites máximos permitidos, sendo 23,3 % para as amostras coletadas no período de junho a agosto e 36,6%, para as amostras coletadas entre janeiro a março.

**Tabela 2.** Estatística descritiva dos resultados dos contaminantes inorgânicos presentes nas amostras de pescado coletadas no período de inverno (junho a agosto) de 2009, na CEAGESP/SP

Espécie	N**	Contaminantes Inorgânicos (mg.kg <sup>-1</sup> , peso úmido)					
		Arsênio	Cádmio	Cromo	Chumbo	Mercúrio	
<b>Pescada</b> <i>Macrodon ancylodon</i>	30	Média±DP	0,58±0,40 <sup>a</sup>	0,007±0,006 <sup>a</sup>	0,06±0,03 <sup>a</sup>	0,14±0,10 <sup>a</sup>	0,023±0,099 <sup>a</sup>
		Mediana	0,59	0,003	0,06	0,13	0,023
		Intervalo	<0,1-1,70	<0,01-0,019	0,03-0,12	<0,02-0,44	0,014-0,042
		<b>Amostras acima da legislação* (%)</b>	6,7	-	13,3	-	-
<b>Tainha</b> <i>Mugil liza</i>	30	Média±DP	0,76±0,42 <sup>a</sup>	0,009±0,004 <sup>a</sup>	0,04±0,01 <sup>a</sup>	0,12±0,07 <sup>a</sup>	0,012±0,007 <sup>a</sup>
		Mediana	0,71	0,009	0,03	0,12	0,010
		Intervalo	<0,1-1,67	<0,01-0,019	0,02-0,07	<0,02-0,30	<0,002-0,037
		<b>Amostras acima da legislação* (%)</b>	23,3	-	-	-	-
<b>Corvina</b> <i>Micropogonias furnieri</i>	30	Média±DP	3,98±2,22 <sup>b</sup>	0,097±0,099 <sup>b</sup>	0,15±0,15 <sup>b</sup>	1,12±1,12 <sup>b</sup>	0,042±0,051 <sup>b</sup>
		Mediana	3,85	0,044	0,06	0,36	0,028
		Intervalo	0,63-8,63	<0,01-0,287	<0,02-0,44	0,07-2,92	0,004-0,285
		<b>Amostras acima da legislação* (%)</b>	93,3	-	40	40	-
<b>Sardinha</b> <i>Sardinella brasiliensis</i>	30	Média+DP	2,70±0,58 <sup>c</sup>	0,019±0,006 <sup>a</sup>	<0,02	0,11±0,11 <sup>a</sup>	0,019±0,011 <sup>a</sup>
		Mediana	2,68	0,019	<0,02	0,08	0,017
		Intervalo	1,44-3,74	0,008-0,031	<0,02	<0,02-0,30	0,008-0,056
		<b>Amostras acima da legislação* (%)</b>	100	-	-	-	-
<b>ANVISA</b>		1,0	1,0	0,1	2,0	0,5 e 1	

ANVISA, Portaria nº 685/1998. \* N= número de amostras.

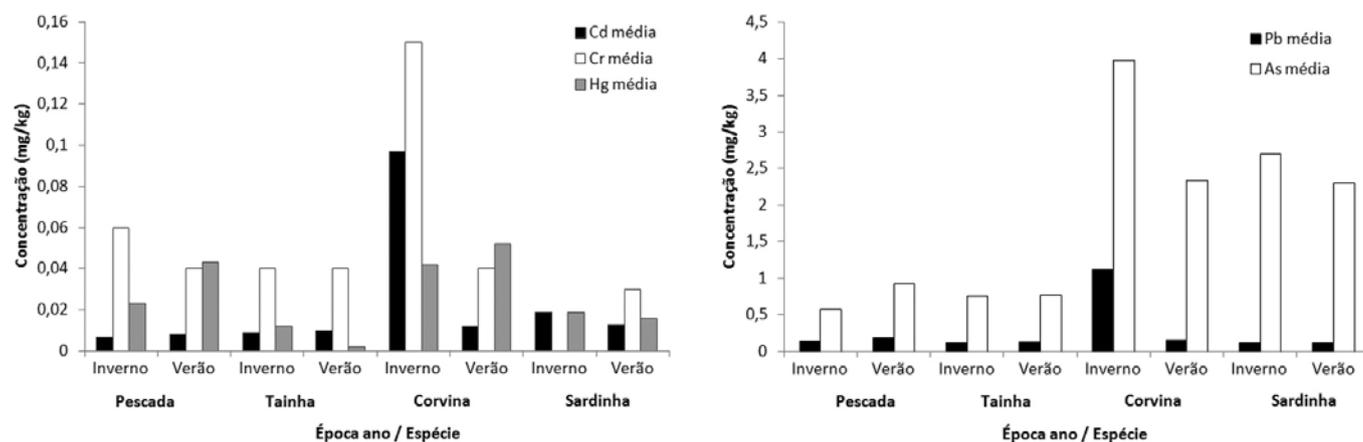
Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ )

**Tabela 3.** Estatística descritiva dos resultados dos contaminantes inorgânicos presentes nas amostras de pescado coletadas no período de verão (dezembro/2009 a março de 2010), na CEAGESP/SP

Espécie	N**	Contaminantes Inorgânicos (mg.kg <sup>-1</sup> , peso úmido)					
		Arsênio	Cádmio	Cromo	Chumbo	Mercúrio	
<b>Pescada</b> <i>Macrodon ancylodon</i>	30	Média±DP	0,92±0,43 <sup>a</sup>	0,008±0,007 <sup>a</sup>	0,04±0,02 <sup>a</sup>	0,19±0,12 <sup>a</sup>	0,043±0,025 <sup>a</sup>
		Mediana	0,99	0,003	0,03	0,19	0,045
		Intervalo	<0,1-1,70	<0,01-0,031	<0,02-0,09	<0,02-0,05	0,002-0,099
		<b>Amostras acima da legislação* (%)</b>	50	-	-	-	-
<b>Tainha</b> <i>Mugil liza</i>	30	Média+DP	0,77±0,61 <sup>a</sup>	0,010±0,007 <sup>a</sup>	0,04±0,03 <sup>a</sup>	0,13±0,08 <sup>a,b</sup>	0,002±0,002 <sup>b</sup>
		Mediana	0,62	0,009	0,03	0,12	0,001
		Intervalo	<0,1-2,92	<0,01-0,029	<0,02-0,10	<0,02-0,28	<0,002-0,008
		<b>Amostras acima da legislação* (%)</b>	36,6	-	-	-	-
<b>Corvina</b> <i>Micropogonias furnieri</i>	30	Média±DP	2,34±1,59 <sup>b</sup>	0,012±0,009 <sup>a</sup>	0,04±0,03 <sup>a</sup>	0,15±0,10 <sup>a,b</sup>	0,052±0,042 <sup>a</sup>
		Mediana	2,37	0,009	0,03	0,13	0,031
		Intervalo	0,23-5,84	<0,01-0,033	<0,02-0,13	<0,02-0,43	0,014-0,139
		<b>Amostras acima da legislação* (%)</b>	70	-	3,33	-	-
<b>Sardinha</b> <i>Sardinella brasiliensis</i>	30	Média±DP	2,30±0,51 <sup>b</sup>	0,013±0,009 <sup>a</sup>	0,03±0,02 <sup>a</sup>	0,12±0,09 <sup>b</sup>	0,016±0,008 <sup>b</sup>
		Mediana	2,30	0,013	0,03	0,13	0,015
		Intervalo	1,31-3,64	<0,01-0,029	<0,02-0,12	<0,02-0,29	<0,002-0,031
		<b>Amostras acima da legislação* (%)</b>	100	-	-	-	-
<b>ANVISA</b>		1,0	1,0	0,1	2,0	0,5 e 1	

ANVISA, Portaria nº 685/1998. \* N= número de amostras.

Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ )



**Figura 1.** Teores dos contaminantes inorgânicos As, Cd, Cr, Hg e Pb, nas espécies pescada, tainha, corvina e sardinha obtidas na CEAGESP/SP, no inverno de 2009 e verão de 2010

Para a corvina (*Micropogonias furnieri*) o contaminante As foi encontrado acima do limite máximo permitido ( $1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) em 93,3% das amostras no inverno, com valor máximo de até  $8,63 \text{ mg.kg}^{-1}$  e para as amostras coletadas no verão, em 70% das amostras. Os níveis elevados de As podem estar relacionados às características de habitat da espécie corvina que vive em regiões costeiras e estuarinas, possivelmente contaminadas com despejos químicos antrópicos.

Os resultados obtidos para os contaminantes Cd e Hg total para todas as espécies estudadas não apresentaram valores superiores aos máximos estabelecidos pela legislação nacional. Contudo, para a corvina, verificou-se que para Cr e Pb houve diferença de resultados entre as épocas verão e inverno, sendo encontrado o elemento Cr acima do permitido em 40% das amostras, enquanto que no verão em apenas 3% das amostras. O mesmo ocorreu para o elemento Pb que excedeu o limite permitido em 40% das amostras no inverno e não foi detectado nas amostras coletadas no verão.

O chumbo apresenta toxicidade sobre vários órgãos, sendo o sistema nervoso particularmente o mais sensível. Em crianças e bebês expostos a altas concentrações, desenvolvem encefalopatias, com sintomas iniciais de letargia, vômito, irritabilidade, perda de apetite e tontura, progredindo para a ataxia e perda de consciência, levando ao coma e à morte<sup>26</sup>.

Curcho<sup>9</sup> ao investigar espécies de corvina proveniente de Cananéia, verificou que para As, de 11 amostras, 7 (54%) ultrapassaram o limite máximo permitido. Já para as amostras coletadas em Cubatão, o elemento As excedeu o limite em 83% do total de 12 amostras analisadas. Para os elementos Cr e Pb, 40% das

amostras excederam o valor máximo permitido. O valor máximo encontrado para o Cr foi de  $0,441 \text{ mg.kg}^{-1}$ , sendo o limite máximo da legislação  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ . O autor, ainda analisando a espécie corvina, encontrou teores de Pb com valores máximos de  $2,920 \text{ mg.kg}^{-1}$ , sendo o limite máximo permitido pela legislação brasileira  $2,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Os contaminantes Cd e Hg para a espécie não apresentaram níveis acima do permitido.

No presente estudo, as amostras analisadas da espécie sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) não apresentaram teores dos contaminantes acima do permitido pela legislação brasileira para os contaminantes Cd, Cr, Pb e Hg. Entretanto, para o elemento As, 100% das amostras coletadas tanto no inverno quanto no verão apresentaram níveis acima do limite permitido pela legislação. O valor da mediana e intervalo de concentração encontrado para o elemento As nas amostras não teve grande variação comparando os períodos de coleta, sendo que o valor encontrado para as amostras coletadas no inverno foi de  $2,68 \text{ mg.kg}^{-1}$  ( $1,44 - 3,74 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e para as amostras coletadas no verão de  $2,30 \text{ mg.kg}^{-1}$  ( $1,31 - 3,64 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Num estudo realizado com amostras de sardinha de Cubatão<sup>3</sup> - SP, 100% das amostras (16 amostras) apresentaram teores de arsênio acima do limite permitido pela legislação brasileira ( $1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ).

Na Figura 1 são apresentados os valores médios dos contaminantes inorgânicos presentes nas 240 amostras de pescado, coletadas nas épocas de inverno de 2009 e verão de 2010. Para as espécies que vivem em águas de superfície como pescada e sardinha foram observados teores mais elevados de As e Hg nas amostras coletadas no verão de 2010 e para as amostras da espécie sardinha do contaminante Cr. Para as amostras de tainha

**Tabela 4.** Concentrações médias de contaminantes inorgânicos Cd e Hg (n = 60); estimativa de ingestão semanal para Hg; estimativa de ingestão mensal para Cd; porcentagem atingida do PTWI para Hg e do PTMI para Cd em dois níveis de consumo

	Hg <sup>a</sup> (mg.kg <sup>-1</sup> )	Mercúrio				Cd <sup>a</sup> (mg.kg <sup>-1</sup> )	Cádmio			
		Consumo de 340 g pescado/semana		Consumo de 80 g pescado/semana			Consumo de 1500 g pescado/mês		Consumo de 330 g pescado/mês	
		Estimativa de Ingestão <sup>b</sup> semanal	% PTWI <sup>c</sup>	Estimativa de Ingestão semanal	% PTWI <sup>c</sup>		Estimativa de Ingestão <sup>b</sup> mensal	% PTMI <sup>d</sup>	Estimativa de Ingestão mensal	% PTMI <sup>d</sup>
Pescada	0,033	1,12	28	0,26	6	0,01	6,43	26	1,41	6
Corvina	0,05	1,70	42	0,40	1,4	0,01	6,43	26	1,41	6
Tainha	0,01	0,34	8	0,08	2	0,01	6,43	26	1,41	6
Sardinha	0,02	0,68	17	0,16	4	0,02	12,86	52	2,82	12

<sup>a</sup> concentração média para 60 amostras.

<sup>b</sup> ug kg<sup>-1</sup> peso corpóreo<sup>-1</sup>; peso corpóreo adultos (maiores de 17 anos) = 70 kg.

<sup>c</sup> PTWI= provisional tolerable weekly intake para Hg = 4 µg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo semana<sup>-1</sup>.

<sup>d</sup> PTMI= provisional tolerable monthly intake para Cd = 25 µg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo mês<sup>-1</sup>.

Cálculos baseados nas porções diárias recomendadas pela US EPA<sup>28</sup> (50g/dia) e dados de consumo de pescado do IBGE<sup>29</sup> (11g/dia) para região sudeste

os teores médios dos contaminantes foram constantes nas duas épocas de coleta. Já para a corvina, os maiores teores foram identificados no inverno, para As, Cd, Cr e Pb.

#### Estimativa da ingestão dos contaminantes inorgânicos

Para os elementos Cd e Hg foi realizado o cálculo de contribuição do consumo das espécies de pescado na estimativa de ingestão mensal e semanal desses contaminantes com base nos valores de PTMI (*provisional tolerable monthly intake*) e PTWI (*provisional tolerable weekly intake*), respectivamente, estabelecidos pelo JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*)<sup>27</sup>. Em 2010, o JECFA<sup>27</sup> retirou os valores de PTWI para os elementos As e Pb, portanto, não foram realizados os cálculos de contribuição do consumo do pescado na estimativa desses elementos, apenas foi calculada a estimativa de ingestão diária. Foram usados dois valores para estimar a contribuição do consumo dos contaminantes presentes no pescado: 340 g de peixe/semana, baseado na recomendação da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) que estabelece como adequado o consumo de 340 g/semana para humanos<sup>28</sup> e o consumo de 80 g de peixe, baseado na Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) do IBGE<sup>29</sup> que traz dados de consumo alimentar médio de peixes frescos para a região Sudeste (11,4 g/dia). Os valores da estimativa de ingestão semanal, para o Hg, e mensal, para o Cd (Tabela 4) foram calculados para cada espécie usando os resultados médios obtidos de cada contaminante inorgânico encontrado nas 60 amostras de uma mesma espécie.

O PTWI e o PTMI são expressos em base semanal e mensal, e enfatizam os riscos de exposição de longo

período para contaminantes que possam ser acumulados no corpo humano. Analisando a Tabela 4 verifica-se que o consumo das espécies corvina e pescada foram as que mais contribuíram para atingir o valor de PTWI para o contaminante Hg, considerando a estimativa de consumo de pescado recomendada pela US EPA<sup>28</sup>. Para o contaminante Cd, a espécie sardinha foi a que apresentou o maior valor para a estimativa de ingestão mensal (52% da PTMI) considerando o consumo de pescado recomendado pela US EPA<sup>28</sup> e, também, quando consideramos o consumo de pescado baseado nos dados de consumo da região Sudeste da tabela POF do IBGE<sup>29</sup> (26% da PTMI).

As espécies que mais contribuíram na estimativa de ingestão diária do contaminante As, considerando os dados de consumo de pescado pela população da região sudeste<sup>29</sup> de 11 g/dia, foram a corvina (34,8 µg/dia), seguida da sardinha (27,5 µg/dia), tainha (8,5 µg/dia) e pescada (8,2 µg/dia). Para o contaminante chumbo, as espécies que mais contribuíram para a estimativa da ingestão deste contaminante foram corvina e tainha (6,9 µg/dia), seguida da pescada (1,8 µg/dia) e sardinha (1,2 µg/dia).

#### CONCLUSÃO

Os dados obtidos nesse estudo permitem concluir que as espécies de peixe pescada (*Macrodon Ancylodon*), tainha (*Mugil liza*), corvina (*Micropogonias furnieri*), e sardinha (*Sardinella brasiliensis*), comercializadas na cidade de São Paulo, apresentam contaminação por metais pesados. O arsênio foi o elemento que apareceu em maior número de amostras e acima do limite máximo permitido pela legislação nacional em 100% das amostras

da espécie sardinha e em menor quantidade nas espécies corvina, tainha e pescada. Os contaminantes arsênio, crômio e chumbo foram encontrados em níveis mais elevados no período de inverno do que no período de verão para a corvina, indicando provável acúmulo desses contaminantes no período de inverno.

Os resultados obtidos para os contaminantes inorgânicos neste estudo apontam para a necessidade de monitoramento constante da contaminação do pescado nacional, exigindo também uma investigação para identificação das origens da contaminação, a partir de suas respectivas áreas de captura e, também, para o estudo das espécies químicas de arsênio e mercúrio que predominam no pescado estudado.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq/MAPA-SDA (Edital 64/2008 processos nº. 578.096/2008 e 578.535/2008) e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- Ikem A, Egiebor NO. Assesment of trace elements in canned fishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America). *J Food Comp Anal*. 2005;18:771-87.
- Kevan PG. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agr Ecosyst Environ*. 1999;74: 373-93.
- Huss HH. Garantia da qualidade dos produtos da pesca: FAO - Documento Técnico Sobre as Pescas n. 334. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, Roma, p.176.
- Tarley CRT, Coltro WKT, Matsushita M, Souza NE. Characteristic levels of some heavy metals from Brazilian canned sardines (*Sardinella brasiliensis*). *J Food Comp Anal*. 2001;14: 611-7.
- Pereira Filho WR, Ribeiro EF, Lizarte Neto FS. Elementos metálicos em pescados comercializados na cidade de São Paulo. *ConScientiae Saúde*. 2003;2:61-5.
- Morgano MA, Perez ACA, Milani RF, Mantovani DMB, Neiva CRP, Furlan EF et al. Mercúrio total em pescado da cadeia produtiva da Baixada Santista, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2007;66(2):165-72.
- Veado MARV, Heeren AO, Severo MI, Grenier-Loustalot ME, Arantes IA, Cabaleiro HL et al. INAA and ICP-MSHS: Metal pollutants in fish tissues Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Pampulha Lake, Belo Horizonte city, Minas Gerais State, Brazil. *J Radioanal Nuc Chem*. 2007;272(3): 511-4.
- Terra BF, Araújo FG, Calza CF, Lopes RT, Teixeira TP. Heavy metal in tissue of three fish species from diferents trophics levels in a Tropical Brazilian River. *Water Air Soil Pollut*. 2008;187: 275-84.
- Curcho MRS. Avaliação de Micro e Macroelementos, Elementos Tóxicos (Cd, Hg e Pb) e Ácidos Graxos, em Peixes Disponíveis Comercialmente para consumo em Cananéia e Cubatão, Estado de São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, autarquia associada à Universidade de São Paulo; 2009.
- Marcovecchio JE. The use of *Micropogonias furnieri* and *Mugil liza* as bioindicators of heavy metals pollution in La Plata river estuary, Argentina. *Sci Total Environ*. 2004;323:219-26.
- Burger J, Gochfeld M. Heavy metals in commercial fish in New Jersey. *Environ Res*. 2005;99:403-12.
- Kojadinovic J, Potier M, Le Corre M, Cosson RP, Bustamante P. Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environ Pollut*. 2007;146:548-66.
- Fernandes C, Fontainhas-Fernandes A, Cabral D, Salgado MA. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Liza saliens* from Esmoriz-Paramos lagoon, Portugal. *Environ Monit Assess*. 2008;136: 267-75.
- Lowel-McConnell RH. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. Tradução Anna Emília A. de M. Vazzoler; Angelo A. Agostinho & Patrícia T.M. Cunningham. São Paulo: EDUSP; 2006. 534p.
- Yamaguti N. Diferenciação geográfica de *Macrodon ancylodon* (Bloch & Schneider, 1789) na costa Brasileira, entre as latitudes 18°36'S e 32°10'S, etapa I, Boletim do Instituto Oceanográfico. 1979;16(1):101-6.
- Menezes NA, Figueiredo JL. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil: Teleostei (3). São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 1980. p.96.
- Burger J, Gochfeld M. Heavy metals in commercial fish in New Jersey. *Environ Res*. 2005;99:403-12.
- Bordajandi LR, Gómez G, Abad E, Rivera J, Fernández-Bastón MM, Blasco J, et al MJ. Survey of Persistent Organochlorine Contaminants (PCBs, PCDD/Fs, and PAHs), Heavy Metals (Cu, Cd, Zn, Pb, and Hg), and Arsenic in Food Samples From Huelva (Spain): Levels and Health Implications. *J Agric Food Chem*. 2004;52: 992-1001.
- Morgano MA, Rabonato LC, Milani RF, Miyagusku L, Balian SC. Assesment of trace elements in fishes of Japanese foods marketed in São Paulo (Brazil). *Food Control*. 2011;22:778-85.
- Morgano MA, Gomes PC, Mantovani DMB, Perrone AAM, Santos TF. Níveis de mercúrio total em peixes de água doce de pisciculturas paulistas. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2005;25(2):250-3.
- Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO. Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos. DOQ-CGCRE-008. Revisão 03 - fev./2010. p.1-20.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 24, de 14 de julho de 2009. Define os requisitos e critérios específicos para funcionamento dos laboratórios de análises de resíduos e contaminantes em alimentos integrantes da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 22 jul 2009. Seção I, nº 138. p.7.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Aprova o Regulamento Técnico e princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 24 set. 1998. Seção 1.

24. Occupational Safety and Health Administration. Toxic Metals, Occupational Safety and Health Administration. Washington, DC: US Depart of Labor; 2004. [acesso 2010 Mar 18]. Disponível em: [<http://www.osha.gov>].
25. Institute of Medicine of the National Academies. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington, DC: The National Academy Press, 2001. p. 773.
26. Yusa V, Suelves T, Ruiz-Atienza L, Cervera ML, Benedito V, Pastor A. Monitoring programme on cadmium, lead, and mercury in fish and seafood from Valencia, Spain: levels and estimated weekly intake. *Food Addit Contam: Part B*. 2008;1(1): 22-31.
27. World Health Organization - WHO. Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX Committee on Contaminants in Foods. Fifth Session. [acesso 2011 Out 27]. Disponível em: [[http://www.cclac.org/documentos/CCCF/2011/3%20Documentos/Documentos%20Ingles/cf05\\_INE.pdf](http://www.cclac.org/documentos/CCCF/2011/3%20Documentos/Documentos%20Ingles/cf05_INE.pdf)].
28. United States Environmental Protection Agency - US EPA. What you need to know about mercury in fish and shellfish. EPA-823-F-04-009, 2pp; 2004. [acesso 2010 Mar 18]. Disponível em: [<http://www.epa.gov/waterscience/fish/MethylmercuryBrochure.pdf>].
29. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. IBGE, Coordenação de Trabalho e rendimento. Rio de Janeiro: IBGE; 2011. p.150.