

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
CAMPUS UFRJ DUQUE DE CAXIAS PROFESSOR GERALDO CIDADE  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: BIOTECNOLOGIA**

**ALEXANDRE MENDES RAMOS FILHO**

**QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS TÓXICOS E POTENCIALMENTE TÓXICOS  
EM PESCADOS DA REGIÃO DE ITAIPU, NITERÓI/RJ E O POTENCIAL RISCO À  
SAÚDE HUMANA**

**DUQUE DE CAXIAS**

**2023**

ALEXANDRE MENDES RAMOS FILHO

QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS TÓXICOS E POTENCIALMENTE TÓXICOS EM  
PESCADOS DA REGIÃO DE ITAIPU, NITERÓI/RJ E O POTENCIAL RISCO À SAÚDE

Monografia apresentada ao Curso de  
Graduação em Ciências Biológicas:  
Biotecnologia da Universidade Federal  
do Rio de Janeiro, como requisito para a  
obtenção do título de Bacharel em  
Ciências Biológicas - Biotecnologia

Orientadora:

Dra. Paloma de Almeida Rodrigues

Duque de Caxias

2023

## CIP - Catalogação na Publicação

M538q Mendes Ramos Filho, Alexandre  
QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS TÓXICOS E  
POTENCIALMENTE TÓXICOS EM PESCADOS DA REGIÃO DE  
ITAIPU, NITERÓI/RJ E O POTENCIAL RISCO À SAÚDE HUMANA  
/ Alexandre Mendes Ramos Filho. -- Rio de Janeiro,  
2023.  
56 f.

Orientadora: Paloma de Almeida Rodrigues de  
Almeida Rodrigues.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus  
Duque de Caxias Professor Geraldo Cidade, Bacharel  
em Ciências Biológicas: Biotecnologia, 2023.

1. Toxicologia ambiental. I. de Almeida  
Rodrigues, Paloma de Almeida Rodrigues, orient. II.  
Título.

ALEXANDRE MENDES RAMOS FILHO

QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS TÓXICOS E POTENCIALMENTE TÓXICOS EM  
PESCADOS DA REGIÃO DE ITAIPU, NITERÓI/RJ E O POTENCIAL RISCO À SAÚDE  
HUMANA

Monografia apresentada ao Curso de  
Graduação em Ciências Biológicas:  
Biotecnologia da Universidade Federal  
do Rio de Janeiro, como requisito para a  
obtenção do título de Bacharel em  
Ciências Biológicas - Biotecnologia.

Aprovado em : 09 / 08 / 2023

BANCA EXAMINADORA

*Paloma de Almeida Rodrigues*

---

Dr<sup>a</sup>. Paloma de Almeida Rodrigues - UFRJ

Orientadora

*Ana Paula S.S. Oliveira*

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Santos da Silva - UFRJ

Avaliador interno

*Cristine Couto de Almeida*

---

Dr<sup>a</sup>. Cristine Couto de Almeida - UFRJ

Avaliador externo

  
Prof. Dr. Adriano T. de Oliveira  
Curso de Lic. em Ciências Biológicas  
IFAM-CMC

---

Prof. Dr. Adriano Teixeira de Oliveira - IFAM

Revisor

Duque de Caxias

2023

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus pais Marcela e Alexandre por todo apoio que me deram durante a graduação e toda a minha vida, sei que sem vocês não teria chegado tão longe, todas as noites mal dormidas e todas as brigas e discussões durante a adolescência, tudo isso para me ensinar como ser o melhor de mim, e agora chegando ao final da graduação só consigo agradecer por tudo que me ensinaram, por mais que a gente não concorde em tudo, sei que sempre estarão ao meu lado, e sou muito grato por isso.

Também preciso agradecer a mulher da minha vida, Mayara, por sempre estar comigo, nos melhores e piores momentos, por passar os últimos 4 anos sendo minha parceira não só na vida, mas também nos estudos, sei que sem o apoio dela a graduação teria sido bem mais difícil e que sem ela não seria quem sou hoje.

À adição mais nova e que se tornou uma das mais importantes na minha vida muito rápido, minha família de axé, o Kwê Bàba Omin, e principalmente aos meus pais de santo, Mácia D'Oxum e Roni D'Oxalufan, sem vocês eu nunca teria descoberto o quão importante a espiritualidade é na minha vida, todo dia eu agradeço a Exu por ter me levado até vocês.

Aos meus amigos, Arthur, João Pedro, Kelvin, Luana, Alana e José Pedro, por todos os bons momentos e companheirismo que me ajudaram a seguir na graduação, sempre pude contar com vocês, não é de sempre, mas é para sempre.

À minha orientadora, Paloma, muito obrigado por tudo que me ensinou durante esse período, espero continuar trabalhando com você por mais tempo, também agradeço à Júlia, que nos adotou no laboratório e nos acompanhou por um bom tempo, ao último a chegar na equipe mas que rapidamente se tornou meu companheiro na bancada e no DMA, Adriano, muito obrigado por todas as dicas e ensinamentos que me passou, espero que consiga ficar mais tempo na equipe.

Também ao LADETEC, pelo suporte na realização do projeto, a toda equipe do NAL, pelo apoio na execução dos experimentos, principalmente ao Dr. Carlos, pelos ensinamentos e aprendizados, e por sempre se preocupar se estamos felizes.

Agradeço a todos que me ajudaram no caminho até aqui, sei que sem vocês teria sido bem mais difícil.

## RESUMO

O ambiente marinho é altamente propenso à contaminação pela ação antropogênica, essa interferência não só apresenta risco para os organismos marinhos e a biodiversidade local, mas também a população humana consumidora de pescado. Dentre os contaminantes estão os metais tóxicos e potencialmente tóxicos, emitidos por atividades como a mineração, queima de combustível fóssil, uso de agrotóxicos e despejo de esgoto doméstico e industrial no ambiente aquático. Neste sentido, o presente trabalho tem por objetivo quantificar as concentrações de contaminantes tais como o mercúrio (Hg), cromo (Cr) e o zinco (Zn). Amostras de siri *Achelous spinimanus*, do peixe corvina *Micropogonias* e de mexilhão *Perna perna* foram obtidas a partir de pescarias tradicionais na região de Itaipú, Niterói, Rio de Janeiro. Amostras de músculos foram removidas dos animais que serviu de base para a determinação dos níveis de Hg que ocorreu por espectrometria por absorção atômica, DMA-80. Os níveis de Cr e Zn ocorreram por espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Também foi realizada avaliação de risco de consumo seguindo metodologia previamente descrita. Foi realizado teste t de Student ou similar não paramétrico para avaliar o efeito do dimorfismo sexual e da estação do ano (inverno ou verão). O teste de Análise de Variância (ANOVA) seguido de teste de Tukey foi aplicado para comparar as médias entre os três grupos de animais avaliados. Os valores encontrados para o Hg, Cr e Zn foram inferiores aos limites estipulados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ou por outras agências reguladoras internacionais. No entanto, ao fazer a análise de risco para população foi observado alguns valores de HQ acima de 1, sendo o maior valor para mercúrio em siris 4,4 e 2,6 para cromo em peixes. Todos esses valores foram vistos para o grupo de crianças até 12 anos, o que reforça o risco apresentado. Esses achados demonstram a importância de rever legislações e limites máximos destes contaminantes nos organismos, além de uma maior fiscalização em áreas de pesca para que o risco à saúde humana e animal seja reduzido e impactos da ação antropogênica sejam mediados.

**Palavras-chave:** Toxicologia marinha, elementos traço, metais essenciais, risco ao consumidor.

## ABSTRACT

The marine environment is highly prone to contamination by anthropogenic action, this interference not only poses a risk to marine organisms and local biodiversity, but also to the human population that consumes fish. Among the contaminants are toxic and potentially toxic metals, emitted by activities such as mining, fossil fuel burning, use of pesticides and discharge of domestic and industrial sewage into the aquatic environment. In this sense, the present work aims to quantify the concentrations of contaminants such as mercury (Hg), chromium (Cr) and zinc (Zn). Samples of the crab *Achelous spinimanus*, the corvina fish *Micropogonias* and the mussel *Perna perna* were obtained from traditional fisheries in the region of Itaipú, Niterói, Rio de Janeiro. Muscle samples were removed from the animals which served as the basis for the determination of Hg levels which occurred by atomic absorption spectrometry, DMA-80. Cr and Zn levels were measured by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Consumption risk assessment was also carried out following the previously described methodology. Student's t test or similar non-parametric test was performed to assess the effect of sexual dimorphism and season of the year (winter or summer). The Analysis of Variance test (ANOVA) followed by Tukey's test was applied to compare the means between the three groups of evaluated animals. The values found for Hg, Cr and Zn were lower than the limits stipulated by the National Health Surveillance Agency (ANVISA) or by other international regulatory agencies. However, when performing the risk analysis for the population, some HQ values above 1 were observed, with the highest value for mercury in crabs 4.4 and 2.6 for chromium in fish. All these values were seen for the group of children up to 12 years old, which reinforces the risk presented. These findings demonstrate the importance of reviewing legislation and maximum limits of these contaminants in organisms, in addition to greater inspection in fishing areas so that the risk to human and animal health is reduced and impacts of anthropogenic action are mediated.

**Keywords:** Marine toxicology, Consumer risk, Trace elements, essential metals.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - No canto inferior esquerdo da imagem é demonstrada a contaminação do solo por cromo trivalente e sulfeto de zinco pelo uso de fertilizantes. Na porção central da imagem, na parte inferior é possível observar a contaminação do solo por mercúrio metálico proveniente de operações de mineração. À direita é possível observar a contaminação da água marinha de forma direta pela liberação de Cr hexavalente e óxido de zinco da pintura anti-incrustantes e biocidas navais. Logo abaixo é demonstrada a conversão de mercúrio metálico ou inorgânico em metilmercúrio por fitoplâncton e outros microrganismos marinhos. Na parte superior da imagem é representado a liberação de cromo hexavalente, óxido de zinco e mercúrio na atmosfera, provenientes principalmente de indústrias metalúrgicas, estes metais então são precipitados novamente, acabando nas águas marinhas onde contaminam a biota aquática..... 14
- Figura 2** - Mapa da Baía de Guanabara e entorno, com destaque para a Praia de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil... 20
- Figura 3** - Níveis de mercúrio em siris *Achelous spinimanus*, corvina *Micropogonias furnieri* e mexilhão *Perna perna* oriundos de Itaipu, Rio de Janeiro, Brasil. Cor azul indicam machos, cor vermelha indicam fêmeas e cor verde indicam sexo indeterminado. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre machos e fêmeas e asteriscos em quantidades diferentes indicam diferenças entre as estações. .... 34
- Figura 4** - Níveis de Cromo em siris *Achelous spinimanus*, corvina *Micropogonias furnieri* e mexilhão *Perna perna* oriundos de Itaipu, Rio de Janeiro, Brasil. Cor azul indicam machos, cor vermelha indicam fêmeas e cor verde indicam sexo indeterminado. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre machos e fêmeas e asteriscos em quantidades diferentes indicam diferenças entre as estações... 35
- Figura 5.** Níveis de Zinco em siris *Achelous spinimanus*, corvina *Micropogonias furnieri* e mexilhão *Perna perna* oriundos de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. Cor azul indicam machos, cor vermelha indicam fêmeas e cor verde indicam sexo indeterminado. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre machos e fêmeas e asteriscos em quantidades diferentes indicam diferenças entre as estações... 37



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Limite de Hg e Cr a nível nacional e internacional em pescados.....	23
<b>Tabela 2.</b> Variação dos parâmetros de tempo e temperatura de aquecimento para cada tipo de pescado estudado de acordo com o protocolo do fabricante ( <i>Milestone application note for mercury determination, Milestone, Bergamo, Italy</i> ). .....	29
<b>Tabela 3.</b> Idades e seus respectivos pesos em quilos utilizados na avaliação da análise de risco... ..	31
<b>Tabela 4.</b> Concentrações encontradas nos animais nas diferentes estações do ano, representadas em mg/kg. ....	32
<b>Tabela 5.</b> Média dos valores das concentrações de cromo encontrados para cada espécie nas diferentes estações do ano dispostas em mg/kg.....	34
<b>Tabela 6.</b> Média dos valores das concentrações de zinco encontrados para cada espécie nas diferentes estações do ano dispostas em mg/kg.....	26
<b>Tabela 7.</b> Valores máximos permitidos para o Hg, Cr e Zn em níveis diários, semanais e mensais... ..	38
<b>Tabela 8.</b> Tabela representativa do EMI do consumidor final de cada metal, separado por sexo, faixa etária e data de coleta dos animais. Valores marcados com * demonstram valores acima do PTMI. Os valores representam a ingestão mensal em mg/kg.....	40
<b>Tabela 9.</b> Representação dos coeficientes de risco de cada Hg, Cr e Zn para as diferentes faixas etárias e sexos. O * representa um valor de $HQ > 1$ , que aponta os animais não seguros para consumo.....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>ACAS</b>	Águas centrais do Atlântico Sul
<b>ANOVA</b>	<i>Analysis of Variance test</i>
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>C</b>	Concentração
<b>CCT</b>	<i>Cell Collision technology</i>
<b>CFS</b>	<i>Center for Food Safety</i>
<b>CMLCF</b>	<i>China's Maximum Levels for Contamination in Foods</i>
<b>Cr</b>	Cromo
<b>Cr (III)</b>	Cromo trivalente
<b>Cr(IV)</b>	Cromo tetravalente
<b>Cr(V)</b>	Cromo pentavalente
<b>Cr(VI)</b>	Cromo hexavalente
<b>DMA</b>	<i>Direct Mercury Analyser</i>
<b>DNA</b>	Ácido DesoxiRibonucleico
<b>EDI</b>	<i>Estimated daily ingestion</i>
<b>EWI</b>	<i>Estimated weekly ingestion</i>
<b>EMI</b>	<i>Estimated monthly ingestion</i>
<b>EU</b>	União Européia
<b>FAO</b>	<i>Food and Agriculture Organization</i>
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FSANZ</b>	<i>Food Standards Australia New Zealand</i>
<b>Hg</b>	Mercúrio
<b>Hg<sup>0</sup></b>	Mercúrio elementar
<b>HgCl<sup>2</sup></b>	Cloreto de mercúrio
<b>HgS</b>	Sulfeto de mercúrio
<b>HQ</b>	<i>Hazard Quoefficient</i>
<b>ICP-MS</b>	Espectômetro de massa com plasma indutivamente acoplado
<b>LADETEC</b>	Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico
<b>LOD</b>	<i>Limit of detection</i>
<b>LOQ</b>	<i>Limit of quantification</i>
<b>MeHg</b>	Metilmercúrio
<b>mg</b>	miligrama

<b>mg/kg</b>	miligrama por quilo
<b>mg/l</b>	miligrama por litro
<b>ml</b>	mililitro
<b>NAL</b>	Nucleo de Analise de Alimentos
<b>ng/g</b>	nanograma por grama
<b>nm</b>	nanometros
<b>PC</b>	Peso Corporal
<b>pH</b>	potencial hidrogenionico
<b>PPB</b>	Partes por bilhão
<b>PTMI</b>	Provisional Tolerable Monthly Intake
<b>PTWI</b>	Provisional Tolerable Weekly Intake
<b>RfD</b>	Dose oral de referência
<b>TE</b>	Tempo de exposição
<b>TIA</b>	Taxa de ingestão alimentar
<b>TME</b>	Tempo médio de exposição
<b>USEPA</b>	<i>U.S. Enviromental Protection Agency</i>
<b>WHO</b>	<i>World Health Oragnization</i>
<b>Zn</b>	Zinco
<b>ZnO</b>	Oxido de zinco
<b>ZnSO<sub>4</sub></b>	Sulfato de zinco
<b>µl</b>	microlitro
<b>%</b>	porcento
<b>±</b>	Desvio padrão

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	6
<b>ABSTRACT</b> .....	7
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	8
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	9
<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS</b> .....	10
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1 OBJETIVO GERAL.....	16
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
2.1 DINÂMICA DOS METAIS NO AMBIENTE AQUÁTICO E RELEVÂNCIA DA ÁREA DE ESTUDO.....	17
2.2 ANIMAIS AQUÁTICOS COMO BIOINDICADORES DE CONTAMINAÇÃO POR METAIS.....	20
2.3 EFEITOS DOS METAIS NA SAÚDE HUMANA VIA CONSUMO DE PESCADO E A ABORDAGEM DA AVALIAÇÃO DE RISCO.....	23
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	27
3.1 ÁREA DE ESTUDO.....	27
3.2 DISSECÇÃO E BIOMETRIA.....	27
3.3 QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO.....	28
3.4 QUANTIFICAÇÃO DE CROMO E ZINCO.....	30
3.5 AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA.....	31
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	32
4.1 CONCENTRAÇÃO DOS METAIS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS.....	32
4.1.1 Mercúrio.....	32
4.1.2 Cromo.....	34
4.1.3 Zinco.....	36
4.2 AVALIAÇÃO DE RISCO.....	37
4.2.1 Limite de ingestão mensal tolerado.....	37
4.2.2 Coeficiente de risco.....	39
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	43
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	44

## 1. INTRODUÇÃO

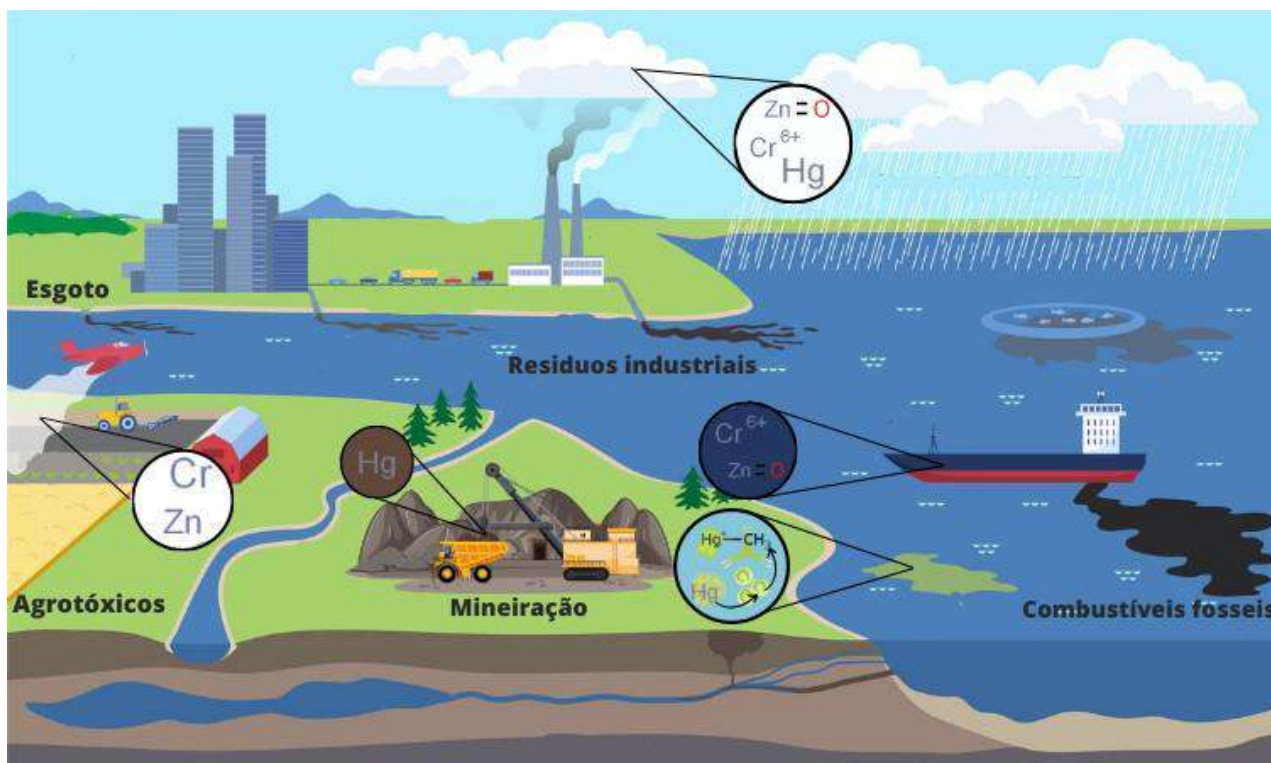
O ambiente marinho está constantemente exposto a contaminantes de várias fontes, incluindo a indústria metalúrgica, a extração de petróleo, as operações de mineração, os fertilizantes, os pesticidas e outros que podem causar poluição do meio ambiente (FIRTH et al., 2019). Dentre os contaminantes estão os elementos tóxicos e potencialmente tóxicos como mercúrio (Hg), o Cromo (Cr) e o Zinco (Zn). A presença do Hg no ambiente aquático pode causar danos à saúde animal e humana, via consumo de pescados, na qual é amplamente estudada pela comunidade científica (RODRIGUES et al., 2019). O Hg é um metal não essencial, ou seja, sem função biológica, que ao longo dos anos foi inúmeras vezes relacionado a casos de óbito devido a intoxicação aguda causada por acidentes, como da baía de Minamata (EKINO et al., 2007).

Além dos casos agudos, os eventos de intoxicação crônica também são descritos e associados principalmente com a ingestão de alimentos, como o pescado (RODRIGUES et al., 2019). O Hg apesar de possuir fontes de emissão natural, é principalmente eliminado por meio das atividades antrópicas, em especial da mineração, da atividade petrolífera e do despejo irregular de esgoto doméstico e industrial (AVELLAN et al., 2018, JAN et al., 2015). Tal metal possui diferentes espécies químicas, como mercúrio elementar ou  $Hg^0$ , mercúrio inorgânico (ex.  $HgCl_2$ ,  $HgS$ ) e as espécies orgânicas (ex.  $[(CH_3Hg)^+]$ ), sendo esta última a que apresenta maior toxicidade devido a sua lipossolubilidade, o que facilita sua absorção pelos sistemas biológicos (RODRIGUES et al., 2019).

Devido ao efeito tóxico do Hg, diferentes organizações mundiais, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Brasil e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO em inglês) estabelecem limites permitidos para as concentrações de Hg em produtos pesqueiros, água e outros alimentos, bem como também estabelece os limites de ingestão diária (ANVISA, 2013, FAO, 2003) afim de evitar futuros danos à saúde humana, sendo estes principalmente associados ao sistema neurológico (BJORKLUND et al., 2017, EKINO et al., 2007).

Diferente do Hg que é predominantemente tóxico, os elementos essenciais, como o Zn e o Cr, estão presentes nos organismos vivos e são necessários para vários bioprocessos. Sua deficiência causa diversos efeitos negativos, mas, apesar de seu papel preponderante no funcionamento da grande maioria das espécies, se houver uma concentração acima do necessário desses, haverá efeitos colaterais que, dependendo da gravidade, pode inclusive levar ao óbito (ZORODUU et al., 2019). Esses metais podem ser encontrados tanto em resíduos de agrotóxicos quanto em efluentes industriais de siderúrgicas, podendo contaminar

o ambiente aquático. Quando atingem os oceanos e grandes massas de água, existe o risco da contaminação da biota residente, assim como acontece com o Hg e, eventualmente, da população humana que consome esses animais (AOUN et al., 2015). A Figura 1 demonstra o processo de contaminação por Hg, Cr e Zn em ambientes aquáticos.



**Figura 1.** Processo de contaminação de mercúrio, cromo e zinco em ambientes aquáticos. No canto inferior esquerdo é demonstrado a contaminação do solo por cromo trivalente e sulfeto de zinco pelo uso de fertilizantes. No centro e na porção inferior é possível visualizar a contaminação do solo por mercúrio metálico proveniente de operações de mineração. À direita é possível observar a contaminação da água marinha de forma direta pela liberação de Cr hexavalente e óxido de zinco da pintura anti-incrustantes e biocidas navais. Abaixo é demonstrada a conversão de mercúrio metálico ou inorgânico em metilmercúrio por fitoplâncton e outros microrganismos marinhos. Na parte superior é representado a liberação de cromo hexavalente, óxido de zinco e mercúrio na atmosfera, provenientes principalmente de indústrias metalúrgicas, estes metais então são precipitados novamente, acabando nas águas marinhas onde contaminam a biota.

O zinco é essencial para a maioria dos organismos e está presente em vários processos metabólicos animais. Cerca de quatro gramas desse metal estão presentes no corpo humano, sendo 90% encontrados em ossos e músculos. Além disso, é um componente de mais de 300 enzimas e inúmeras outras proteínas (PLUM et al., 2010). No entanto, a ingestão excessiva de zinco pode causar efeitos adversos, como náuseas e vômitos, cólicas abdominais, cólicas epigástricas e diarreia. Além dos sintomas gastrointestinais, o consumo prolongado de níveis

tóxicos de zinco pode causar deficiência e desativação de células T e pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento do câncer (PLUM et al., 2010).

O cromo está presente em todos os organismos e, apesar de sua baixa concentração no corpo, foi identificado como um componente chave na ação da insulina e na regulação da glicose no sangue. Além disso, desempenha um papel importante na quebra e absorção de carboidratos, proteínas e gorduras (PAVESI; MOREIRA, 2020). A espécie química natural mais comum de cromo é o Cr(III), essa espécie está presente em bioprocessos e é considerada menos tóxica. No entanto, as espécies de Cr(VI) são comumente associadas a atividades antrópicas, principalmente nas indústrias de galvanoplastia, têxtil e construção civil (PAVESI; MOREIRA, 2020). A maior parte do Cr presente nos animais marinhos é o Cr(III), que é natural e considerado um micronutriente.

No entanto, a interferência antrópica tem levado ao aumento da presença de Cr(VI), que está relacionado a diversas patologias (PAVESI; MOREIRA, 2020). Ambos os tipos de Cr, quando absorvidos, podem sofrer alquilação e ter seus estados oxidativos alterados para tipos mais reativos, como o Cr(VI) sendo convertido em Cr(V) e Cr(IV). O Cr(VI) entra na célula através de transportadores gerais de sulfato. Essa forma específica de cromo tem vários efeitos genotóxicos, que incluem a quebra de ligações no DNA de fita dupla, e também causa uma diminuição do ascorbato e dos tióis biológicos, como a glutathiona (GSH) (PAVESI; MOREIRA, 2020).

Dentre os animais aquáticos alvo destes contaminantes destacam-se os siris, mexilhões e peixes. Os siris são crustáceos, que habitam a região bentônica e que possuem hábito alimentar generalista ou oportunista (PINHEIRO et al., 2016), tais como a espécie *Achelous spinimanus* (Latreille, 1819). Estes animais são descritos como excelentes bioindicadores de contaminação por metais (RODRIGUES et al., 2020a, 2020b, 2021a, 2022), isso porque uma vez que os metais chegam na água, estes tendem em sua maioria a depositar no sedimento, local onde os siris habitam.

Quanto aos peixes, espécies piscívoras, como as Corvinas *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) que se alimentam de outros peixes, além de pequenos crustáceos, destacam-se devido ao efeito da biomagnificação, ou seja, o aumento da concentração do contaminante, conforme eleva-se o nível trófico (COSTA et al., 2016, SAADATI et al., 2019), adquirindo grande parte de sua contaminação via predação.

Quanto aos mexilhões, tais como a espécie *Perna perna* (Linnaeus, 1758), são moluscos bivalves, que além de viverem fixo, são filtradores, concentrando contaminantes em quantidades significativas em seu organismo (SHEN et al., 2018, KHAN, 2019). Assim, estes

animais estão diretamente expostos a absorção dos elementos via respiração e alimentação (RAKNUZZAMAN; AHMED; ISLAM, 2016), acumulando ao longo dos anos em seus diferentes tecidos, como musculatura, hepatopancreas/fígado e brânquias (ÇOĞUN et al., 2017; JACOBO et al., 2016; MAHARANJAN et al., 2011). Alguns estudos apontam ainda concentrações expressivas de metais tóxicos e potencialmente tóxicos nesses animais (MAULVAULT et al., 2015; AOUN et al., 2015.), o que gera um alerta sobre os potenciais risco à saúde da população consumidora (ANDRADE et al., 2014, RODRIGUES et al., 2022).

Com o intuito de avaliar o potencial risco à saúde humana, modelos matemáticos se apresentam como aliados para estimar se a concentração ingerida dos metais, presentes no pescado e outras fontes alimentares, serão capazes de ocasionar danos à população consumidora. Os cálculos da estimativa mensal de ingestão (EMI) e o Hazard quotient (HQ), são exemplos dessas abordagens matemáticas. No primeiro é possível verificar se a ingestão mensal do contaminante presente no alimento, está acima ou abaixo dos limites de ingestão estipulados por agências reguladoras. O segundo cálculo é responsável por indicar se baseado na concentração do contaminante, frequência de ingestão do alimento e quantidade ingerida, tempo de exposição, peso corporal, e dose limite de ingestão diária do metal, será possível identificar a longo prazo, risco à saúde dos consumidores.

Cabe ressaltar ainda que, o presente trabalho retrata além dos impactos na saúde humana que envolve também as questões biotecnológicas, uma vez que qualquer processo de biorremediação de uma área atingida pela poluição, necessita que seja identificado previamente a extensão da contaminação, os contaminantes presentes na área, para que tal processo possa ser realizado da forma mais eficiente e com aplicação para a realidade do local que se deseja recuperar. Sendo este trabalho então, um passo anterior a uma possível atividade de biorremediação que é rotineiramente empregada no setor biotecnológico.

Assim, levando em consideração os efeitos colaterais apresentados pela ingestão de altos níveis desses elementos no corpo humano e o crescente nível de resíduos tóxicos que os contêm sendo lançados no meio ambiente, é importante analisar os níveis presentes nos produtos pesqueiros consumidos, a fim de estimar o risco à saúde do consumidor.

## 1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a concentração de um metal tóxico (Hg) e de dois metais essenciais potencialmente tóxicos (Zn e Cr) em amostras de pescados (siri *Achelous spinimanus*, peixe



*Micropogonias furnieira* e mexilhão *Perna perna*) de uma importante área pesqueira em Niterói, Rio de Janeiro e avaliar o potencial risco à saúde do consumidor.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar Hg, Cr e Zn na musculatura de siris, mexilhões e peixes coletados na praia de Itaipu, Niterói, RJ;
- Avaliar o efeito do dimorfismo sexual nas concentrações dos metais avaliados;
- Avaliar o efeito da sazonalidade (estações inverno e verão) nas concentrações dos metais nos animais;
- Verificar o risco à saúde da população consumidora do pescado através de modelo matemático pré-determinado.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 DINÂMICA DOS METAIS NO AMBIENTE AQUÁTICO E RELEVÂNCIA DA ÁREA DE ESTUDO

Os metais, mercúrio (Hg), zinco (Zn) e cromo (Cr) podem ser lançados no oceano a partir de diversas fontes. Assim, o Zn não é encontrado em sua forma natural, a grande maioria das reservas de Zn se encontram unidas principalmente ao chumbo, mas pode também ser encontrado unidas ao cobre e a prata (RUSSEL; THARMANATHAN, 2003). O Zn pode ser liberado também por meio de ações antropogênicas, estando principalmente presente em resíduos de indústrias metalúrgicas, fertilizantes agrícolas e tintas navais biocidas e para proteção contra corrosão (SARAVI; SHOKRZADEH, 2013).

O Zn é comumente encontrado na natureza na forma de óxidos, principalmente ZnO, em forma de sulfatos, como ZnSO<sub>4</sub>, e em sua forma elementar. Na indústria é principalmente utilizado o óxido de zinco em sua forma natural e na forma de nanopartículas, além de sulfato de zinco, utilizado em fertilizantes agrícolas, e piritionato de zinco, este sendo utilizado como algicida em tintas navais (MILLER et al., 2020). Embora este último seja menos utilizado, esses compostos de Zn são facilmente absorvidos tanto por animais marinhos quanto por humanos e normalmente não sofrem decomposição antes de serem absorvidos. No ambiente o Zn tende a se concentrar nas regiões mais rasas do oceano, em torno de 0,5 metros de profundidade, sendo que em outras profundidades não há variação expressiva na concentração do metal. Além da coluna de água, outros fatores como a salinidade e a temperatura não interferem na biodisponibilidade do Zn, como observado em *Mytilus edulis* por Phillips (1976), porém salinidades elevadas podem gerar maior formação de sais de zinco.

O Cr tem sua origem natural na crosta terrestre, rochas e no solo e tem um ciclo de reciclagem bem estabelecido, entre a litosfera, a hidrosfera e a atmosfera. No entanto, o mesmo também é liberado por fontes antropogênicas, sendo encontrado em resíduos de indústrias de pintura, revestimento de eletrônicos, curtimento do couro, indústria têxtil e como anti-incrustante em tintas marítimas (ANANDKUMAR et al., 2017, ÇİFTÇİ et al., 2011, OLIVEIRA, 2012, SARAVI; SHOKRZADEH, 2013). Embora Cr e o zinco sejam encontrados em uma variedade de fontes de contaminação separadas, eles são encontrados em abundância e usados juntos em galvanoplastia, fertilizantes fosfatados e resíduos de combustíveis fósseis (PAVESI; MOREIRA, 2020). É importante ressaltar que tanto o Zn quanto o Cr presentes nessas fontes de contaminação são constantemente lançados ao mar pela degradação causada pela interação da água salgada com as embarcações (FRANCO-FUENTES et al., 2021).

O Cr é normalmente encontrado na forma de Cr (III) ou  $\text{CrO}_4$  na composição das tintas anti-incrustantes. O Cr(III) é considerado de baixa toxicidade devido a sua insolubilidade em meio líquido, baixa mobilidade e por estar normalmente complexado principalmente a matéria orgânica ou hidróxidos de ferro, tornando-o indisponível para absorção pela biota. No entanto, em meios onde as concentrações de  $\text{O}_2$  são altas, esta espécie química pode ser oxidada a Cr(VI), esse O Cr (VI), uma vez absorvido pelos organismos, é convertido em Cr(V) e Cr(IV), sendo essas três espécies mais tóxicas, devido ao seu alto potencial oxidante, alta solubilidade e mobilidade entre membranas, podendo também interagir mais facilmente com proteínas e moléculas de DNA (ELDERFIELD, 1970, OLIVEIRA, 2012, PAVESI; MOREIRA, 2020). Este elemento também pode ser encontrado em combustíveis fósseis e nas indústrias geralmente em sua forma metálica ( $\text{Cr}^0$ ) que podem reagir com o ambiente marinho para serem convertidos em óxidos ou sulfetos, aumentando sua capacidade de serem absorvidos pelos organismos (PAVESI; MOREIRA, 2020).

Assim, estes compostos têm uma densidade elevada quando comparados com a água oceânica, fazendo com que se acumulem nos sedimentos marinhos, embora alguns compostos também possam ser encontrados dissolvidos na água oceânica (ELDERFIELD, 1970). Um fator abiótico importante na dinâmica deste metal na água é o pH. Enquanto o Cr(III) tem maior solubilidade em faixas ácidas e facilidade em precipitar em pH neutro e básico, o Cr (VI) tem eficiente solubilidade em todas as faixas de pH (KARAR et al., 2019). Outro parâmetro apontado pela literatura científica é a salinidade, em baixas é observada uma maior absorção do cromo, devido ao aumento da atividade regulatória iônica (SUTEJA; DIRGAYUSA, 2018).

Quanto ao mercúrio (Hg), este pode ocorrer naturalmente devido a liberação de gases vulcânicos na atmosfera, ao intemperismo, a desgasificação continental e o escape de Hg nos oceanos. Apesar deste metal ocorrer naturalmente, a maior fonte de contaminação do ambiente é antropogênica, principalmente por atividades como a mineração ilegal, a indústria de cloro, a indústria metalúrgica e a fabricação de tintas (RODRIGUES et al., 2019). O Hg pode ser encontrados em três diferentes formas na natureza, na forma metálica ( $\text{Hg}^0$ ), inorgânica, na forma de compostos ( $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{HgS}$ ) e sais de mercúrio ( $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ), e pôr fim a forma que apresenta maior toxicidade a organismos vivos, compostos orgânicos de mercúrio como o etil ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$ ) e o metilmercúrio [ $(\text{CH}_3\text{Hg})^+$ ], este último apresenta maior risco já que é de mais fácil absorção e é metabolizado de forma lenta. Devido a este metabolismo lento, o mercúrio bioacumula e biomagnifica, o que causa um acréscimo na contaminação de acordo com o aumento do nível trófico, fazendo com que animais de topo de cadeia possuam concentrações do metal exponencialmente maiores que animais da base (RODRIGUES et al., 2019).

O mercúrio inorgânico é principalmente adsorvido por partículas de matéria suspensas na coluna de água e depositado em níveis bentônicos, até o momento que são ressuspendidas pelo movimento de marés ou por épocas chuvosas onde são ingeridos pelos animais marinhos, ou absorvido pelas brânquias. Adicionalmente, a forma inorgânica do metal pode interagir com micropartículas suspensas ou ser metilada por bactérias redutoras de sulfato gerando a forma orgânica de metilmercúrio, se tornando mais biodisponível (RODRIGUES et al., 2019). Neste âmbito tanto a toxicidade, quanto a absorção e a biodisponibilidade são reguladas por fatores abióticos como a salinidade. Em ambientes de alta salinidade haverá uma redução da disponibilidade Hg e também do processo de metilação. Isso porque o sulfeto presente na água do ambiente marinho irá se complexar ao Hg inorgânico e o tornará indisponível para a biota (REINHART et al., 2018). Além disso, haverá um aumento de espécies de Hg inorgânico carregadas, com relação às espécies não carregadas, desfavorecendo a passagem pela membrana plasmática das bactérias sulfato-redutoras responsáveis pela metilação (BOYD et al., 2017). Quanto ao pH, quanto mais ácido, maior será a biodisponibilidade deste metal e conseqüentemente favorecerá que em condições adequadas ocorra maior taxa de metilação (DONG et al., 2016). Na coluna d'água o Hg, em sua espécie orgânica, é encontrado em maior abundância na zona basal e média devido a menores índices de oxigenação e maior índice de decomposição (SADHU et al., 2015).

Baseado na importância das condições abióticas e do impacto da atividade humana na contaminação do ambiente aquático, a região da praia de Itaipu, no município de Niterói, Rio

de Janeiro (Figura 2) é um local de interesse para análises de quantificação de metais e biomonitoramento. Isso se deve primeiramente ao grande descarte de efluentes não tratados na área (PREFEITURA DE NITERÓI, 2018). Além disso, sua localização geográfica na saída da Baía de Guanabara, favorece que tal ambiente seja impactado negativamente por contaminantes. Tais contaminantes, como os metais abordados neste estudo, são emitidos devido ao constante fluxo de embarcações que liberam combustíveis fósseis e diversos compostos presentes nas tintas destas embarcações. Também a proximidade com plataformas de petróleo, onde são liberados diversos metais tóxicos que podem afetar a biodiversidade marinha do local, além de comprometer a saúde dos consumidores.



**Figura 2.** Mapa representando a Baía de Guanabara e entorno, com destaque para a região de coleta na Praia de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro.

## 2.2 ANIMAIS AQUÁTICOS COMO BIOINDICADORES DE CONTAMINAÇÃO POR METAIS

A diversidade de organismos residentes no ambiente aquático, em especial na região de Itaipu, Niterói, onde o estudo foi executado, abrange inúmeras espécies que são destinadas ao consumo humano e a constante poluição local, principalmente por metais tóxicos e de potencial tóxico, fazem com que o estudo da biota seja fundamental tanto para entender a contaminação ambiental, quanto animal e o risco à saúde da população consumidora.

Dentre as espécies de importância comercial utilizadas como bioindicadores estão os peixes, mexilhões e siris. Os peixes além de serem amplamente consumidos, alguns possuem a característica de serem predadores, como a Corvina *Micropogonias furnieri*. Como alguns metais têm a capacidade de biomagnificar ao longo da cadeia trófica, sendo encontradas concentrações maiores em organismos predadores e topo de cadeia, são esperados valores significativos de metais acumulados nesses animais (MARQUES et al., 2019).

*Micropogonias furnieri* é um peixe que depende de estuários, tanto durante o seu desenvolvimento, quanto como local de alimentação, o que mostra uma grande adaptação a diferentes profundidades e variações de salinidade. Durante o seu desenvolvimento se alimenta principalmente de bivalves na região bentônica, porém também pode se alimentar de moluscos e crustáceos. Este hábito alimentar faz com que estes fiquem expostos aos sedimentos localizados na região onde se desenvolvem (MARQUES et al., 2019).

Quanto aos moluscos bivalves, estes se destacam como importantes bioacumuladores devido a capacidade de filtração, concentrando contaminantes em altas magnitudes (BAKI et al., 2018; RAKNUZZAMAN et al., 2016; RODRIGUES et al., 2019; RODRIGUES et al., 2020a). Estes animais também são um componente essencial do ecossistema marinho de encostas rochosas, onde são considerados uma espécie engenheira, que sustenta grande diversidade de organismos, sendo base da teia alimentar, além de participarem da formação de corais, servirem como berços da biodiversidade e berçário de diversas espécies, serem remediadores de nutrientes e filtradores de microrganismos. Também é importante notar que esses organismos são utilizados como forma de remoção de nitrogênio e filtração da água e apresentam grande importância econômica, visto que este processo gera entre 8.5 a 469 milhões de dólares em renda apenas nos EUA (SANTOS et al., 2022).

O mexilhão *Perna perna* é um mexilhão intertidal presente em regiões de temperatura mais quente do oceano atlântico e índico e no mar mediterrâneo. Estes animais possuem grande importância comercial, sendo sua coleta feita em encostas rochosas, onde crescem naturalmente, ou sendo cultivados por meio da aquicultura. Além da importância econômica desse mexilhão, ele também apresenta todas as características desejáveis para o biomonitoramento, já que são filtradores, sendo que em seu estado adulto ficam imóveis e são

resistentes a diversos fatores ambientais e contaminantes, podendo acumular diversos poluentes e mostrando um panorama geral da biodisponibilidade destes (SILVA et al., 2022).

Por fim, os siris são crustáceos que devido ao seu íntimo contato com o sedimento, local de acúmulo dos contaminantes, conseguem absorver grandes concentrações de metais quando o sedimento foi ressuspensão, por meio da movimentação e correntes marinhas, por exemplo, tornando estes elementos disponíveis para a absorção (DAS et al., 2019; RAKNUZZAMAN et al., 2016; TANG et al., 2020). Seu hábito alimentar é generalista e conseqüentemente o mesmo se alimenta tanto do sedimento contaminado quanto de peixes, algas e outros invertebrados pequenos (PINHEIRO et al., 2016). Assim a alimentação é uma importante rota de exposição aos metais. Além disso, o metabolismo, a capacidade de osmorregulação, o hábito alimentar e comportamento desses animais contribuem para uma aquisição expressiva de metais tóxicos (DAS et al., 2019; EVANS et al., 2000; LIU et al., 2019a).

Dentre as espécies de siris destaca-se o *Achelous spinimanus*, pertencente à família Portunidae, sendo um gênero nativo Brasileiro. Esta espécie é normalmente encontrada em águas frias como as águas centrais do Atlântico Sul (ACAS), que atingem a costa sudeste Brasileira durante a primavera, ocasionando o fenômeno da ressurgência. Tal evento é responsável por promover a inversão das águas profundas que são frias e ricas em nutrientes para a superfície. Além disso, são encontrados associados a sedimentos de alta granulação e possuem excelente resistência para sobreviver a variações de pH, salinidade, temperatura e concentrações de oxigênio dissolvido (BRAGA et al., 2005; MELO, 1996; PINHEIRO et al., 2016).

Na área de Itaipu foram demonstrados valores elevados de mercúrio e cromo em mexilhões e siris (PEREIRA et al., 2012; RODRIGUES et al., 2020). Também foi observado valores elevados para zinco, no litoral do Mar Mediterrâneo, Líbano, em siris que apresentaram concentração em torno de 2.715 mg/kg, em mexilhões, *Mytilus edulis*, foi observado valores em média de 2.384 mg/kg e em peixes 841 mg/kg, este último foi obtido a partir da média de 5 espécies, *Diplodus sargus*, *Oblada melanura*, *Pagellus erythrinus*, *Siganus rivulatus* e *argocentron rubrum* (AOUN et al., 2015). Para o cromo, os maiores níveis de contaminação foram observados em Karachi, Paquistão, onde foram encontradas concentrações de até 24.20 mg/kg em peixes, *Macrophthalmus depressus* (SIDDIQUI et al., 2021).

As concentrações de metais podem variar não apenas por conta dos fatores abióticos, como também por fatores biológicos, dentre eles destacam-se o peso, o comprimento, o sexo

e o metabolismo. Em relação ao sexo dos animais, as fêmeas tendem a acumular maiores quantidades de contaminantes, já que durante o período reprodutivo o consumo de alimentos aumenta, conseqüentemente fica mais propensa a absorver contaminantes via alimentação (MURPHY et al., 2007). Outro fator que afeta essa absorção de contaminantes é o metabolismo do animal, que pode ser afetado por fatores abióticos como a temperatura da água. Animais com o metabolismo mais lento, e por consequência com um crescimento mais lento, tendem a bioacumular uma maior quantidade de contaminantes, já que acumulam os contaminantes num ritmo similar, se não maior, ao que se desenvolvem (ARCAGNI et al., 2018, DONG et al., 2016).

Outro ponto importante para a contaminação é a sazonalidade, com a mudança das estações, períodos de chuvas removem os sedimentos que estavam assentados no fundo do mar, fazendo com que os contaminantes sejam ressuspensos na água, também ocorrem mudanças de temperatura na água que ocasiona na alteração do conteúdo protéico dos animais, o qual tem grande afinidade, principalmente com formas orgânicas dos contaminantes, como metilmercúrio, fazendo com que ocorram variações na concentração destes nos animais (MURPHY et al., 2018).

Cabe ressaltar ainda que esses metais possuem uma concentração limite para ser identificada nas amostras de alimentos, como o pescado. A Tabela 1 abaixo apresenta os limites de Hg, Cr e Zn em pescado.

### 2.3 EFEITOS DOS METAIS NA SAÚDE HUMANA VIA CONSUMO E A ABORDAGEM DA AVALIAÇÃO DE RISCO

O Zn é um metal de grande importância para o corpo humano, pois, além de estar presente em mais de 200 enzimas essenciais para o funcionamento do organismo, também participa de bioprocessos como o metabolismo de proteínas, ser necessário para o sistema imune, também compõe os *zinc fingers*, que estão presentes em diversos ligantes do DNA e RNA (JAMOVA et al., 2022). Apesar de ser essencial ao ser humano, o Zn pode apresentar diversos efeitos adversos quando ingerido em abundância. De acordo com o Painel de Micronutrientes do Instituto de Medicina de Washington (DC), a ingestão diária recomendada de zinco para adultos é de 11 mg por dia para homens e 8 mg por dia para mulheres (IM, 2001). Embora haja efeitos colaterais na ingestão de valores abaixo do limite recomendado de 8 mg de zinco por dia, como distúrbios neurológicos, infertilidade, problemas de pele, disfunção imunológica e retardo de crescimento (PLUM et al., 2003), os efeitos da ingestão de quantidades tóxicas deste elemento, acima de 40 mg por dia, para a intoxicação crônica, e

**Tabela 1.** Limite de Hg, Cr e Zn a nível nacional e internacional em pescado.

<b>Metal</b>	<b>País ou organização reguladora</b>	<b>Limite em mg/kg</b>	<b>Referência</b>
Hg	Brasil	0,5 para espécies não predadoras e 1,0 para espécies predadoras	ANVISA (2013)
	Austrália, União Européia, China, FAO, Hong Kong, Reino Unido, África do Sul	0,5	FSANZ (2000), UE (2005), CMLCF(2014), FAO(2003), CFS(2018), FSA(2020), DOH(1972).
	FDA	1,0	FDA (2001)
Cr	China	2,0	CMLCF(2014)
	FDA	12	FDA (1993)
	Hong Kong	1,0	CFS(2018)
Zn	FAO	40	FAO/WHO (1989)

entre 225 e 450 mg para a intoxicação aguda são abundantes e potencialmente mais perigosos (FOSMIRE, 1990).

A superexposição ao Zn via consumo pode causar efeitos gastrointestinais, que incluem diarreia, vômito e cólicas abdominais (BROWN et al., 1964). Também afeta o sistema nervoso, causando letargia e déficit neuronal focal (PLUM et al., 2003). No entanto, apesar da gravidade que esses sintomas podem alcançar, não são os mais alarmantes. A intoxicação por Zn pode afetar a função de todas as células e algumas centenas de enzimas dependentes de Zn. Quando presente em abundância, irá competir com o cobre pela absorção pelos enterócitos, causando a deficiência de cobre, que pode levar a anemia, mau funcionamento cardíaco, desequilíbrio nos níveis de colesterol e sintomas neurológicos (WILLIS et al., 2006). Em estudos *in vitro*, o excesso de zinco na cultura celular induziu os monócitos a secretar drogas pró-inflamatórias, mas também causou uma inibição da função das células T, o que causaria uma redução da resposta imune à infecção (USEPA, 2007).

Com relação ao Cr, existem duas principais espécies químicas estáveis de Cr, conforme mencionado anteriormente, o Cr (III) que é considerado um micronutriente essencial importante para o metabolismo da glicose dependente de insulina e é encontrado no



ambiente, por outro lado existe o Cr (VI) que geralmente está relacionado a processos antrópicos é considerado tóxico. Esta diferença das espécies químicas resultou em diferentes valores de ingestão dietética recomendada por parte da legislação internacional, sendo para o Cr (III) de 1,5mg por dia e 0,003 mg por dia para Cr (VI) de acordo com a US EPA (2007). Quando ingerido em quantidades excessivas, o cromo (III) é capaz de reagir com o DNA e outras biomoléculas e pode se acumular no interior da célula, fazendo com que ela reaja com diversos componentes da matriz intracelular, porém é considerado menos tóxico devido a sua menor mobilidade e sua insolubilidade em água. Essas características fazem com que o Cr (III) seja absorvido pela célula apenas por fagocitose ou difusão passiva, tornando sua absorção muito lenta e difícil de acumular no interior da célula (LEVINA et al., 2016).

O cromo (VI) possui maior estado de oxidação e, portanto, é mais móvel, facilitando sua capacidade de atravessar as membranas celulares (RODRIGUES et al., 2022), podendo penetrar no núcleo por estar ligado a histonas (PAVESI; MOREIRA, 2020). Apesar de sua maior capacidade de atravessar membranas, é considerado menos genotóxico e capaz de interagir com menos biomoléculas (SARAVI; SHOKRZADEH, 2013). No entanto, a razão pela qual é considerado mais tóxico é que este pode ser reduzido ao Cr(III), e espécies intermediárias que são altamente reativas, Cr (IV) e Cr(V), e que tem capacidade de afetar o DNA (PAVESI; MOREIRA 2020). Chegando então ao núcleo, o Cr (VI) pode ser reduzido ligando-se ao DNA e sendo convertido em Cr (III), sendo a via de redução mais comum a que envolve a GSH que reduz o Cr (VI) removendo um elétron e gerando a forma química mais reativa, o Cr (V), mas a mesma via também pode remover dois elétrons ao mesmo tempo, gerando Cr (IV) que também é um composto altamente genotóxico. Outras vias de conversão podem ser baseadas na NADPH redutase, mas que ainda carecem de mais evidências para sua elucidação (PAVESI; MOREIRA 2020). Apesar de todos os efeitos negativos aos órgãos e células do corpo ocasionados pela intoxicação por cromo, não há sintomas relatados pela literatura até o momento.

Ao contrário do Cr e do Zn, o mercúrio não é um metal essencial, e sim um elemento altamente tóxico para o organismo humano, que se ingerido em qualquer quantidade gera danos à saúde do indivíduo e sozinho ocasionou a morte de milhares de indivíduos (EKINO et al., 2007). O mercúrio metálico tem como porta de entrada no organismo principalmente pelas vias aéreas, através da inalação de vapores de Hg, mas em casos mais raros pode ser ingerido ou absorvido pela pele (RODRIGUES et al., 2019). A exposição à forma inorgânica do Hg ocorre por meio da abrasão de implantes dentários feitos com amálgama deste metal, pela ingestão de alimentos contaminados e também pode ser absorvido via epiderme, glândulas

sudoríparas e folículos quando são utilizados cosméticos contendo sais de Hg, pelo uso de medicamentos tópicos ou a manipulação de produtos agrícolas (RODRIGUES et al., 2019).

A intoxicação por estas formas do metal Hg podem ser classificada como aguda, quando ocorre a ingestão de uma grande quantidade do metal em um curto período de tempo o que ocasiona dores abdominais, queda de pressão, vômitos, síndrome respiratória aguda grave, queimação no peito, gastrite cáustica, estomatite causada pelo mercúrio e falência renal, quando é absorvido pela pele causa dermatite e corrosão de membranas mucosas (RODRIGUES et al., 2019). Também pode ocorrer a intoxicação crônica, quando é ingerida uma carga menor do material por um longo período de tempo, são observados primeiramente sintomas renais, mas também são observados sintomas neurológicos (RODRIGUES et al., 2019).

Já a intoxicação pelo metilmercúrio, a forma mais comum e tóxica de Hg orgânico se dá principalmente pela ingestão de alimentos contaminados, principalmente o pescado, sendo a absorção deste tipo de mercúrio de 17 a 35 vezes mais rápida que do mercúrio inorgânico e quase 100% do total ingerido é absorvido pelo organismo (HONG; KIM; LEE, 2012). As formas de mercúrio orgânico são altamente lipossolúveis e são capazes de atravessar a barreira placentária e a barreira hematoencefálica, gerando condições neurológicas que podem ser fatais, além de afetarem o desenvolvimento do feto, interferir no sistema imunológico e causar problemas cardíacos (EKINO et al., 2007, RODRIGUES et al., 2019).

Durante o metabolismo do metal, este é convertido em mercúrio inorgânico bivalente e sofre oxidação e redução, liberando radicais de oxigênio causando a ativação da via de peroxidação de lipídios na parede celular causando danos à célula, além de também comprometer a homeostase de cálcio e glutamato no interior da célula (RODRIGUES et al., 2019). A exposição aguda a essa espécie química do Hg pode causar visão turva, redução da capacidade auditiva, alterações olfatórias e gustatórias, andar atáxico, desordens psiquiátricas e em casos extremos pode levar à morte (Citação, ano?). Já a exposição crônica, pode levar a parestesia das extremidades e lábios, transtornos somatossensoriais, transtornos reprodutivos e ataxia cerebral (EKINO et al., 2007)

Nesse sentido, é possível identificar pescados são potencialmente perigosos para a saúde humana quando apresentam grandes concentrações de contaminantes (RODRIGUES et al., 2019). Principalmente se a população consumidora local tiver uma cultura alimentar de consumo de produtos pesqueiros com alta frequência e/ou quantidade. Nesse sentido, alguns trabalhos buscam realizar uma avaliação de risco para a saúde humana, essa avaliação é baseada em equações como, Ingestão Diária/Semanal/Mensal Estimada (EDI/EWI/EMI) e

Quociente de Risco (HQ) (ANTOINE et al., 2017), entre outras. Na primeira equação, o objetivo é verificar, a partir da concentração do contaminante encontrado na amostra, o peso médio da população consumidora e a taxa de consumo alimentar (quanto é consumido em g), se a ingestão do contaminante presente no alimento está ultrapassando os limites de consumo estabelecidos pelos órgãos reguladores como a FAO (FAO/WHO, 2007). Na segunda equação, o objetivo é identificar se há risco à saúde humana. Nesse caso, os valores maiores que um indicam risco à saúde da população (US EPA, 2000). A execução da abordagem de risco ainda é pouco utilizada nos trabalhos que abordam metais essenciais como o Cr e Zn, no entanto para o Hg esta avaliação é comumente realizada pela comunidade científica.

Para o mercúrio, já foram registrados valores de  $HQ > 1$  em siris e peixes na área de Itaipu (RODRIGUES et al., 2023), já para o Cr, o quociente de risco encontrado na região da Baía de Guanabara (RODRIGUES et al., 2022) foi menor que 1, porém levando em conta o risco da carcinogênese, os riscos apresentados ao consumidor podem ser maiores que o aparentado (HOSSAIN et al., 2018). Para o zinco não foi encontrado na literatura análises de HQ próximo a região de Itaipu ou dentro do país, mas Kumar et al. (2021) observaram na costa de Ennore, Índia, coeficientes de risco alcançando até 4.493.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 ÁREA DE ESTUDO**

Amostras de siris, mexilhões e peixes foram coletadas em uma importante zona de atividade pesqueira, a praia de Itaipu (-22.9739645, -43.0462926), localizada na cidade de Niterói, estado do Rio de Janeiro, Brasil, conforme ilustrado anteriormente na Figura 2. Tal região é alvo de contaminantes há anos, devido ao processo de ocupação territorial desordenada, que propiciou o surgimento de moradias com infraestrutura inadequada e precariedade no sistema de saneamento básico, sendo uma das consequências desse processo o despejo de esgoto bruto nas águas de Itaipu (PREFEITURA DE NITERÓI, 2018). Além disso, as atividades petrolíferas desenvolvidas tanto na cidade de Niterói quanto na cidade do Rio de Janeiro contribuem para a contaminação por metais na região, uma vez que por ação das correntes marinhas e por meio da passagem de embarcações relacionadas a tal atividade, os contaminantes emitidos por essa fonte conseguem atingir as diferentes praias de Niterói.

Os animais foram adquiridos por meio da compra dos mesmos nas barracas de venda na colônia de pescadores local. As amostras foram adquiridas ao final do mês de setembro de 2021 e março de 2022, com objetivo de obter-se um retrato do comportamento dos animais ao

final do inverno e ao final do verão e identificar possíveis diferenças entre as concentrações de Hg, Cr e Zn de acordo com a estação, bem como uma avaliação sobre a possível influência do dimorfismo sexua sobre o nível dos metais avaliados.

### 3.2 DISSECÇÃO E BIOMETRIA

Os animais foram acondicionados em gelo e transportados até o Núcleo de Análise de Alimentos (NAL), do laboratório de apoio ao desenvolvimento tecnológico (LADETEC) localizado na Universidade Federal do Rio de Janeiro. Neste, os animais foram medidos (cm) com paquímetro e pesados (g) em balança analítica, foi feita a identificação do gênero e espécie conforme os dados da literatura a respeito das características fenotípicas das espécies (CRAB DATABASE, 2016, FAO, 2016, FAO, 2018, FIGUEIREDO, 1977) e por fim a identificação do sexo dos siris e peixes com base nas características morfológicas que distinguem os machos das fêmeas, não foi possível determinar o dimorfismo sexual nos mexilhões. Os siris então tiveram sua carapaça retirada para coleta do tecido muscular. Os mexilhões tiveram suas conchas retiradas e todo o conteúdo foi extraído para análise posterior. Por fim, foi feita a dissecação dos peixes com retirada também da musculatura. Tal tecido foi escolhido, pois, representa o principal tecido consumido pela população nesta espécie. O material foi então identificado e guardado em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises. Ao todo foram analisadas 100 amostras, sendo 50 obtidas no inverno e 50 no verão, com um quantitativo por estação de 20 amostras da espécie *Achelous spinimanus*, 20 mexilhões da espécie *Perna perna* e 10 peixes da espécie *Micropogonias furnieri*.

### 3.3 QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO

A quantificação de Hg total foi realizada no *Direct Mercury Analyser* (DMA-80, Milestone, Bergamo, Itália) que é um equipamento de espectrometria de absorção atômica. O processo consiste na introdução das amostras em um recipiente chamado de barquinha, feita de quartzo e ideal para amostras líquidas ou sólidas com umidade, como as amostras envolvidas nesse estudo, sem necessidade de qualquer preparação prévia. Em seguida as amostras são aquecidas a três temperaturas diferentes, fazendo com que haja a queima do material e volatilização do Hg, que é retido em um amalgamador de ouro. Quando o mesmo é aquecido o metal é despreendido e sua detecção é realizada no comprimento de onda de 253,7 nm. As especificações sobre tempo e temperatura de aquecimento podem ser identificadas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Variação dos parâmetros de tempo e temperatura de aquecimento para cada tipo de pescado estudado de acordo com o protocolo do fabricante (*Milestone application note for mercury determination, Milestone, Bergamo, Italy*).

<b>Amostras de pescado</b>	<b>Temperatura aquecimento</b>	<b>Tempo</b>
Peixe	1º passo: 160°C	1 minuto
	2º passo: 650°C	2 minutos
	3º passo: 650°C	1 minuto
Mexilhão e siri	1º passo: 200°C	1 minuto
	2º passo: 650°C	2 minutos
	3º passo: 650°C	1 minuto

Antes do início das análises o equipamento foi calibrado com solução padronizada de Hg (Sigma-Aldrich, São Paulo). Uma curva de calibração de dez pontos foi construída variando de 0, 0,5, 1, 2, 3, 5, 10, 20, 50, 100 ng g<sup>-1</sup> ( $R^2=0,9999$ ) de 1000 mg L<sup>-1</sup> solução estoque de Hg. Os controles de qualidade para Hg foram garantidos por meio dos brancos, réplicas e o uso de material de referência (músculo ERM-BB422-Fish). A otimização dos parâmetros analíticos foi realizada pelo limite de quantificação (LOQ=0,0023), o limite de detecção (LOD=0,014), e o valor de recuperação do material de referência certificado foi de 95% (Valor observado:  $0,57 \pm 0,01$  e valor certificado:  $0,60 \pm 0,03$ ). A análise seguiu as recomendações do fabricante (*Milestone application note for mercury determination, Milestone, Bergamo, Itália*). Antes de cada rodada de análise, foi feita uma leitura com os 100 microlitros de Hg padrão a 30 ppb, seguida das amostras de frutos do mar testados.

As amostras foram pesadas na balança analítica dentro do barco de quartzo, 0,25g ( $\pm 10\%$ ) para amostras de mexilhão e caranguejo e 0,27g ( $\pm 10\%$ ) para amostras de peixes. Após as análises, as barcas foram lavadas com água e detergente neutro e secas em mufla a 650°C por 5 minutos para eliminação de resíduos de análises anteriores. Os resultados foram registrados em mg/kg de peso úmido (p.u.).

### 3.4 QUANTIFICAÇÃO DE CROMO E ZINCO

A quantificação de Cr total e Zn foi feita através do equipamento de espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Alíquotas de 100 mg da musculatura

dos animais foram pesados em tubos de polipropileno com tampa de rosca de 15 mL. Em seguida, o ácido nítrico bidestilado subfervido concentrado (Merck, Rio de Janeiro, Brasil), foi adicionado a cada amostra (1,0 mL), e as misturas foram deixadas em repouso nos tubos fechados por uma hora à temperatura ambiente. Em seguida, após período de digestão, foi adicionado 500µl de peróxido de hidrogênio (Merck, Rio de Janeiro, Brasil).

As amostras foram vertidas em frascos de plástico perfluorado (TFM-PTFE) e depois aquecidas em microondas analítico (Speedwave 4 ambos, Berghof, Eningen, Alemanha) à 200°C por 20 minutos, sendo o equipamento programado para rampa de 5 min a 175 °C e mantido por 15 min a 175 °C. Após o equilíbrio da temperatura, o forno foi aberto, e as amostras transferidas ao tubo de polipropileno, e por fim acrescidas de água ultrapura (10 mL) (resistividade >18.2MΩcm). A solução foi armazenada em temperatura ambiente até a análise. O material então foi lido no ICP-MS de modelo iCAP Qc (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha) equipado com um micronebulizador pneumático Meinhard, câmara de nebulização ciclônica refrigerada por Peltier, tecnologia de células de colisão (CCT) e um amostrador automático ASX-520 (CETAC, Omaha, EUA) foi empregado. As soluções estoque (1000 mg L<sup>-1</sup>) de Cr e Zn, e os elementos utilizados como padrões internos (45Sc, 73Ge, 103Rh and 205Tl), foram fornecidos pela Specsol (Quimlab, Jacareí, Brasil) e diluídos antes do uso em solução de calibração analítica ICP- MS. Além disso, no ICP-MS foram utilizados os gases Argônio (99,998%), Hélio e Hidrogênio (99,9999%), os quais foram adquiridos da White Martins Gases Industriais (Rio de Janeiro, Brasil). Cada amostra foi lida cinco vezes no equipamento e os resultados foram dados em mg/kg.

Branco e materiais de referência certificados ERMBB422 (tecido muscular de peixe) e BCR668 (tecido de mexilhão) também foram analisados, em triplicado, para garantir a precisão do método. A otimização dos parâmetros analíticos foi realizada pelo limite de detecção (LOD= 7,3E<sup>-05</sup> mg/kg para Cr e 0,0005 mg/kg para Zn), e o valor de recuperação do material de referência certificado foi de 97,8% para Cr e 98,1% para Zn (Valor observado: 0,362 ± 0,03 mg/kg para Cr e 15,7 ± 0,9 mg/kg para Zn; valor certificado: 0,37 ± 0,06 mg/kg para Cr e 16,0 ± 1,1 mg/kg para Zn). Os resultados foram dados em ppb e transformados em mg/kg p.u.

### 3.5 AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA

A avaliação do risco foi realizada através do cálculo da estimativa mensal de ingestão (EMI) (Equação 1) e o quociente de perigo (Hazard quotient ou HQ) (Equação 2) (ANTOINE

et al., 2017) de acordo com as diretrizes da Agência de Proteção Ambiental (US-EPA, 1989, 2000). Enquanto o EMI é comparado com os limites determinados no PTMI (Provisional Tolerable Monthly Intake) para cada metal, estabelecido pelo JECFA (FAO/WHO2007), para o HQ, valores acima de 1 representam risco potencial à saúde humana, enquanto valores abaixo de 1 indicam nenhum risco.

Equação (1)  $EMI = (C \times TIA) / PC$

C: Concentração do metal estudado; TIA: Taxa de ingestão alimentar (272, 372, 354 g de mexilhão, caranguejo e peixe por mês, respectivamente, baseado nos dados de Costa et al. (2021) e Bauer et al. (2021), convertidos para valor mensal; PC: Peso Corporal (kg).

Equação (2)  $HQ = (FE \times TE \times C \times TIA) / (RfD \times PC \times TME) \times 10^{-3}$

FE: Frequência de exposição (uma vez por semana, 48 vezes por ano); TE: tempo de exposição (12, 34 ou 75 anos); C: concentração de Hg ou Cr ou Zn (mg/kg); TIA: Taxa de ingestão alimentar (68, 93, 88,5 g de mexilhão, caranguejo e peixe por semana, respectivamente) [Costa et al. (2021) e Bauer et al. (2021)]; RfD: Dose oral de referência por IRIS-EPA (1998, 2001, 2005) ( $1 \times 10^{-4}$  mg/kg/dia para Hg,  $3 \times 10^{-3}$  mg/kg/dia para Cr(VI),  $3 \times 10^{-1}$  mg/kg/dia para Zn); PC: Peso corporal (kg); TME: tempo médio de exposição (FE $\times$ TE);  $10^{-3}$  é o fator de conversão da unidade.

Os cálculos do EMI, consideraram os limites estipulados de PTMI de 0,09 para Cr (USEPA, 1998), 0,0064 para Hg (FAO/WHO, 2007), 30 para Zn (FAO/WHO, 1982), sendo estes valores, quando fornecidos em limites diários ou semanais, convertidos em mensais. Ambas as equações foram realizadas considerando a diferença entre os pesos de homens e mulheres de três faixas etárias (criança, adulto, idoso) conforme a Tabela 3, baseada nas informações da Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017–2018: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2020). Além disso, com relação ao Hg, deve-se notar que os valores de RfD são estimados para concentrações da espécie química orgânica do mercúrio, o metilmercúrio (MeHg). Porém, mesmo tendo quantificado o mercúrio total, a literatura relata que aproximadamente 100% da espécie química do Hg encontrada na biota e no organismo humano é como MeHg (COPAT et al.,

2018, MALLORY et al., 2018, TAYLOR; CALABRESE, 2018), o que possibilita o uso desses dados.

**Tabela 3.** Idades e seus respectivos pesos em kg utilizados na avaliação de risco.

<b>Idade</b>	<b>Peso da população masculina (kg)</b>	<b>Peso da população feminina (kg)</b>
12 anos	42,1	46,4
34 anos	78,8	64,3
75 anos	68,8	61,3

Informações baseadas na Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017–2018: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2020)

A respeito da quantidade e frequências de consumo de cada pescado estudado, deve-se ressaltar que a literatura científica e técnica carece dessa informação aplicada à nossa população carioca. Nesse sentido, utilizamos dados do trabalho de Costa et al. (2021), onde os mesmos utilizam cerca de 68g e 93g por semana para consumo bivalves e crustáceos, respectivamente, envolvidos em seu estudo. Quanto ao consumo de peixe, de acordo com Bauer et al. (2021), o consumo médio semanal de peixe é de 88,5 g. Quanto à frequência de consumo, segundo Maciel et al. (2016), a maior parte da população brasileira estudada consumia peixe uma vez por semana, frequência utilizada neste estudo. Deve-se considerar também que devido a falta de dados mais precisos para aplicação na população de estudo, foram consideradas quantidades de consumo iguais entre as diferentes faixas, o que pode não corresponder a realidade, uma vez que a tendência é que as crianças consumam quantidades inferiores aos adultos.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados em pacote estatístico R® em seguida o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para verificação da normalidade dos dados. Em caso de normalidade, o teste t Student foi aplicado para verificação da influência sexual sobre os níveis de Hg, Cr e Zn, exceto para mexilhão devido à impossibilidade de diferenciação sexual. Também foi realizado o mesmo teste para observação de possíveis



interferências da sazonalidade (inverno e verão) sobre os valores de Hg, Cr e Zn. Em caso de não normalidade dos dados, o teste não paramétrico Mann Whitney, admitindo-se 95% de confiabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 CONCENTRAÇÃO DOS METAIS NAS ESPÉCIES ESTUDADAS

#### 4.1.1 Mercúrio

Os valores encontrados para o mercúrio nos organismos foram dispostos na Tabela 4, sendo os maiores valores observados no siri *A. spinimanus*.

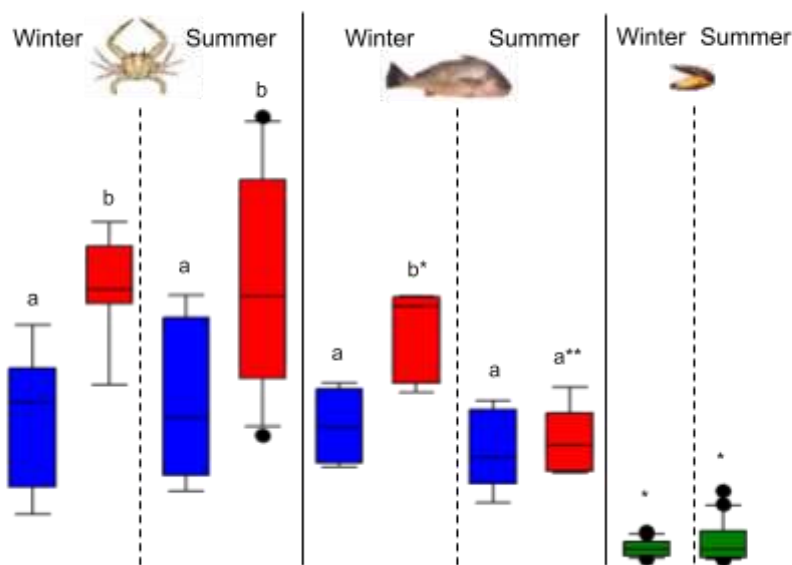
**Tabela 4.** Concentrações encontradas nos animais nas diferentes estações do ano, representadas em mg/kg p.u.

Estação	<i>Perna perna</i>	<i>Achelous spinimanus</i>	<i>Micropogonias furnieri</i>
Inverno	0,016 ± 0,007	0,205 ± 0,077	0,173 ± 0,057
Verão	0,022 ± 0,01	0,207 ± 0,097	0,108 ± 0,032

Para os peixes, *Micropogonias furnieri*, que são predadores, os valores mais altos observados não ultrapassaram o máximo previsto pela ANVISA em 2013, 1,0 mg/kg de mercúrio no animal. A média das concentrações para machos e fêmeas encontradas no verão foi de  $0,10 \pm 0,03$  mg/kg, já no inverno foi de  $0,17 \pm 0,05$  mg/kg, sendo que esses valores não apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ). Considerando o sexo, foi observado diferença entre machos e fêmeas no inverno, os machos apresentando uma média de  $0,1262 \pm 0,0348$  e as fêmeas  $0,2104 \pm 0,0417$ , e entre estações para as fêmeas entre o inverno e o verão, sendo neste primeiro a média foi de  $0,21 \pm 0,04$  mg/kg, já no verão foi de  $0,11 \pm 0,03$  mg/kg. Essa diferença entre as fêmeas nas estações pode ser explicada pela migração realizada por esses animais para a desova, observado por Silvano et al. (2006) que relatam que o período migratório de *Micropogonias furnieri* coincide com o período de desova do mesmo, o qual se estende por todo inverno e parte da primavera, mês de setembro, o que também explica a diferença entre machos e fêmeas considerando apenas o inverno. Isto somado ao fato de que os peixes em desenvolvimento se alimentam nas áreas estuarinas mais rasas próximo aos sedimentos (MARQUES et al., 2019), pode indicar que durante a fase da desova estas fêmeas fiquem expostas aos sedimentos com concentrações maiores de Hg aumentando a contaminação destes espécimes.

Os siris também apresentaram concentrações abaixo do limite nacional e internacional citado na Tabela 1. A espécie estudada *Achelous spinimanus*, não apresentou diferença estatística entre as estações do ano, sendo a concentração sem distinção de sexo do inverno de  $0,20 \pm 0,07$  mg/kg e a do verão de  $0,207 \pm 0,09$  mg/kg. Considerando o sexo dos animais, não foi identificada diferença entre as concentrações de Hg entre fêmeas e machos quando comparado as duas estações. Porém foi possível observar diferença estatística entre machos e fêmeas durante o verão e durante o inverno, apresentando uma concentração média no inverno, para fêmeas de  $0,2531 \pm 0,0436$  mg/kg e nos machos de  $0,1345 \pm 0,0616$  mg/kg, e no verão para fêmeas  $0,2529 \pm 0,0954$  mg/kg e para os machos  $0,1511 \pm 0,0954$  mg/kg. O motivo para essa diferença na concentração entre os sexos se deve principalmente ao metabolismo, já que as fêmeas aumentam a ingestão de alimentos durante o período reprodutivo, o que pode levar a maior aquisição de contaminantes (MURPHY et al., 2007).

Em relação aos mexilhões não foi observada diferença estatística entre as estações e estes não foram divididos por sexo. Ademais, esses animais foram os que apresentaram as menores concentrações de Hg entre os organismos estudados, apresentando uma média de  $0,016 \pm 0,007$  mg/kg no inverno e  $0,022 \pm 0,01$  mg/kg. Esses dados se devem ao fato de que esses mexilhões capturados habitam águas mais rasas, fixados em pedras, e principalmente ao fato de serem filtradores, ou seja, absorvem todos os nutrientes necessários da água, que como dito antes apresenta uma concentração menor de contaminantes que os sedimentos e a faixa d'água mais próxima do mesmo, onde as duas espécies anteriores passam grande parte de suas vidas. A Figura 3 apresenta os níveis de mercúrios das três espécies de pescados avaliadas, considerado o dimorfismo sexual e a estação.



**Figura 3.** Níveis de mercúrio em siris *Achelous spinimanus*, corvina *Micropogonias furnieri* e mexilhão *Perna perna* oriundos de Itaipu, Rio de Janeiro, Brasil. Cor azul indicam machos, cor vermelha indicam fêmeas e cor verde indicam sexo indeterminado. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre machos e fêmeas e asteriscos em quantidades diferentes indicam diferenças entre as estações.

#### 4.1.2 Cromo

Os valores encontrados para cromo podem ser observados na Tabela 5, na qual foram encontrados os maiores valores no peixe *M. furnieri* na estação de inverno.

**Tabela 5.** Média dos valores das concentrações de cromo encontrados para cada espécie nas diferentes estações do ano dispostas em mg/kg p.u.

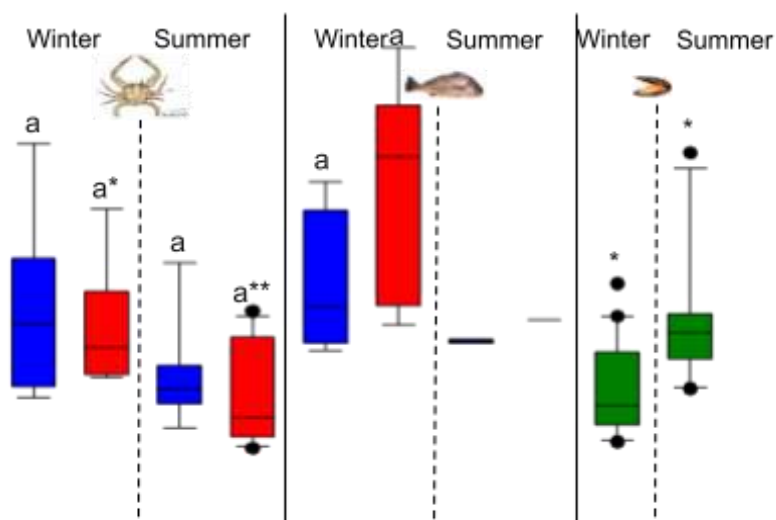
Estação	<i>Perna perna</i>	<i>Achelous spinimanus</i>	<i>Micropogonias furnieri</i>
Inverno	0,42 ± 0,14	0,81 ± 0,72	0,93 ± 0,32
Verão	0,63 ± 0,20	0,42 ± 0,15	0,59 ± 0,03

A Figura 4 apresenta os níveis de Cr nas espécies estudadas. Para os peixes não foi possível observar diferenças estatísticas entre as estações e entre machos e fêmeas. Os maiores valores para esses organismos foram observados em fêmeas no inverno, uma média de  $1,06 \pm 0,33$  mg/kg.

Avaliando os siris foi possível observar diferença estatística entre as fêmeas das duas estações, onde no inverno a média destes animais foi de  $0,91 \pm 0,92$  mg/kg e no verão de  $0,39 \pm 0,15$  mg/kg, vale também ressaltar que foram encontrados valores até 3,33 mg/kg de cromo

nestes animais. Essa diferença dos valores pode ser explicada pelos hábitos reprodutivos da espécie, demonstrados por Sousa et al. (2020), afetem as concentrações de Cr. Isso se deve ao fato de as fêmeas carregando ovos serem encontradas mais abundantemente em áreas mais profundas, entre 15 e 20 metros de profundidade, sendo que a maior parte dos espécimes, machos e fêmeas sem ovos, são encontrados em profundidades em torno de 7,5 metros. Isto aliado ao fato de as maiores concentrações de cromo dissolvido na coluna d'água serem observados entre 8 e 11 metros de profundidade, o metal presente nos sedimentos ser menos biodisponível para absorção pelos animais (ABDALLAH, 2014), e o período reprodutivo de *Achelous spinimanus* ser entre o verão e o outono, também a pode explicar as menores concentrações observadas nas fêmeas da espécie durante este período.

Observando os mexilhões, não foi visto diferença estatística entre os animais durante as estações. Estes apresentaram uma média de  $0,42 \pm 0,14$  mg/kg durante o inverno e  $0,63 \pm 0,20$  mg/kg durante o verão. Cabe ressaltar que para as três espécies estudadas, nenhuma excedeu o limite internacional estabelecido para o Cr, conforme apresentado na Tabela 5.



**Figura 4.** Níveis de Cromo em siris *Achelous spinimanus*, corvina *Micropogonias furnieri* e mexilhão *Perna perna* oriundos de Itaipu, Rio de Janeiro, Brasil. Cor azul indicam machos, cor vermelha indicam fêmeas e cor verde indicam sexo indeterminado. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre machos e fêmeas e asteriscos em quantidades diferentes indicam diferenças entre as estações.

#### 4.1.3 Zinco

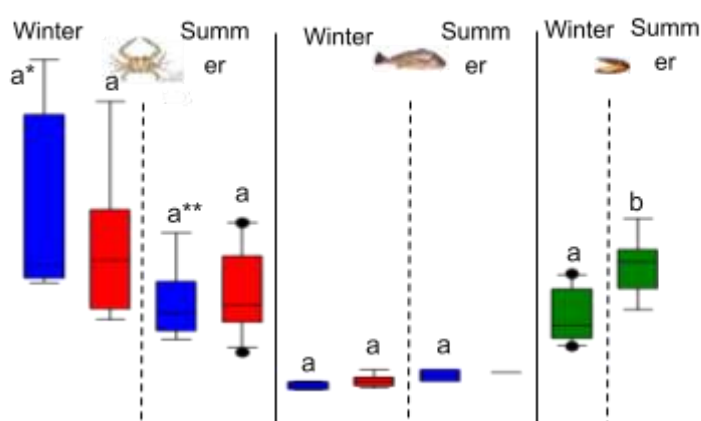
Os valores encontrados para zinco estão dispostos na Tabela 6, onde foi observado valores maiores de *A spinimanus* no período de inverno, quando comparado aos outros pescados.

**Tabela 6.** Média dos valores das concentrações de zinco encontrados para cada espécie nas diferentes estações do ano dispostas em mg/kg p.u.

Estação	<i>Perna perna</i>	<i>Achelous spinimanus</i>	<i>Micropogonias furnieri</i>
Inverno	23,73 ± 18,65	41,36 ± 31,79	3,73 ± 1,14
Verão	32,32 ± 12,23	21,36 ± 7,92	5,44 ± 1,22

Em relação aos níveis de Zn (Figura 5), para os peixes foi observado uma média de  $3,73 \pm 1,14$  mg/kg no inverno e de  $5,44 \pm 1,22$  mg/kg no verão. Esses animais foram os que apresentaram os menores valores de concentração para esse metal e não houve diferença entre sexos e entre estações. Valores mais baixos para zinco em peixes, quando comparado aos outros é comum em outros estudos, Aoun et al. (2015) observou em múltiplas espécies de peixes uma média de 841 mg/kg, já para mexilhões, *Mytilus edulis* sp., foi visto uma média de 2384 mg/kg e em siris, *Portunus trituberculatus*, foi observado 2700 mg/kg.

Nos siris não foi possível identificar diferenças entre as estações, as médias no inverno foram de  $41,36 \pm 31,79$  mg/kg e de  $21,36 \pm 7,92$  mg/kg no verão. A concentração dos siris no inverno foi a única, entre todas as espécies, que ultrapassou o limite estabelecido pela FAO em 1989 de 40 mg/kg de Zn em pescado. Não foram observados estudos para Zn em *Achelous spinimanus*, porém na Península da Califórnia, México em *Pleuroncodes planipes* De Anda- Montañez et al. (2023) observaram valores um pouco mais altos, apresentando médias entre  $71,34 \pm 3,04$  mg/kg e  $56,88 \pm 1,03$  mg/kg, na literatura valores elevados como estes e até maiores são comuns. Para os mexilhões também não foi observada variação entre as concentrações de Zn entre as estações. A média no verão foi de  $32,32 \pm 12,23$  mg/kg e de  $23,73 \pm 18,65$  mg/kg no inverno. Firth et al. (2019) observaram para *Mytilus galloprovincialis* uma média de  $25.9 \pm 0.52$  mg/kg, valores esses aproximados aos observados no presente estudo.



**Figura 5.** Níveis de Zinco em siris *Achelous spinimanus*, corvina *Micropogonias furnieri* e mexilhão *Perna perna* oriundos de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. Cor azul indicam machos, cor vermelha indicam fêmeas e cor verde indicam sexo indeterminado. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre machos e fêmeas e asteriscos em quantidades diferentes indicam diferenças entre as estações.

## 4.2 AVALIAÇÃO DE RISCO

Após a quantificação dos metais foram feitos os cálculos para as análises de risco. Estas análises de risco fizeram analisar tanto a estimativa de ingestão mensal, do inglês *Estimated Monthly Intake* (EMI), quanto o coeficiente de risco, *Hazard Quotient* (HQ) em inglês.

### 4.2.1 LIMITE DE INGESTÃO MENSAL TOLERADO

Os valores de EMI foram comparados ao limite de ingestão mensal tolerado, do inglês *Permitted monthly tolerable intake* (PMTI), de cada metal para observar valores que apresentassem risco ao consumidor, estes valores juntos também à dose de referência diária (RfD) e o limite de ingestão semanal estão dispostos na Tabela 7, os valores encontrados para EMI estão dispostos na Tabela 8.

**Tabela 7.** Valores máximos em mg/kg permitidos para cada metal, diários, semanais e mensais.

Metal	PTWI	PTMI	RfD
Cr	0,021	0,09	0,003
Hg	0,0016	0,0064	0,0001
Zn	7	30	0,3

PTWI: Provisional Tolerable Weekly Intake; PTMI: Provisional Tolerable Monthly Intake; RfD: Dose de referência oral para Cr (IRIS-EPA, 1998), Hg IRIS-EPA, 2001), Zn (IRIS-EPA, 2005).

Ao observarmos os resultados é possível notar que para o mercúrio todos os grupos superaram o PTMI, com valores atingindo até 1,7672 mg/kg por mês, valores estes que superam em diversas magnitudes o limite estipulado de 0,0064 mg/kg. Análises anteriores realizadas no mesmo local por Rodrigues et al. (2023) foram observados valores de EMI inferiores, sendo o maior valor observado foi 0,002, também observado em *Achelous spinimanus*, seguido de 0,0009 para *Micropogonias furnieri* e 0,0001 para *Perna perna*, todos os valores foram observados em crianças durante o verão, como é possível observar os valores deste estudo são muito menores que os valores do estudo atual, o que pode indicar um aumento na contaminação local.

Para o cromo também não foi observado nenhum grupo dentro do limite do PTMI, onde foi possível observar EMI de até 31,3639 mg/kg, sendo o limite de 0,09 mg/kg. Não foram encontrados estudos nacionais que realizassem estes cálculos, porém, Copat et al. (2012) relatou na Sicília, Itália uma média de consumo mensal, em múltiplas espécies de peixes, entre 0,002 mg/kg e  $8,4 \cdot 10^{-5}$  mg/kg, esses valores são substancialmente mais baixos que os observados no estudo atual, isso pode ser explicado por um ambiente menos contaminado que o do estudo atual.

Já para o zinco foi possível notar valores dentro dos valores máximos, exclusivamente em peixes, em ambas as estações, excluindo os grupos de crianças de até 12 anos e mulheres de até 76 anos, estes apresentaram valores superiores ao PTMI deste metal, o maior valor observado foi de 267,2190 mg/Kg no mês para mexilhões em crianças de até 12 anos. Kumar et al. em 2020 observou na Costa de Ennore, Índia, para peixes, *Scylla serrate*, um EMI de 5,04 mg/kg, esse valor é magnitudes menor que os observados no estudo atual, isso pode ser devido ao fato de serem diferentes espécies, ou as diferentes condições do local de coleta.

#### 4.2.2 Coeficiente de Risco

O HQ é calculado a fim de observar se as concentrações encontradas durante a quantificação apresentam algum risco real ao consumidor final. Valores de  $HQ < 1$  indicam que não há risco à saúde humana, quando os valores de  $HQ > 1$  e indicam risco, e quanto maior este valor, maior será risco apresentado para cada grupo. Os valores do coeficiente de risco estão dispostos na Tabela 9.

O mercúrio excedeu o limite do HQ durante o inverno, sendo o único metal que ultrapassou o valor de 1 durante esta estação e também durante o verão para as três faixas etárias em siris e peixes. O maior valor encontrados foi observado no inverno, em siris e para crianças do sexo masculino, o HQ encontrado foi de 4,41, este valor também foi o mais alto encontrado entre todos os grupos, animais e metais. Para mexilhões, nenhum dos grupos ultrapassou o valor limite, sendo o maior de 0,3. Por fim, para os peixes o maior valor foi de 3,6, mais uma vez para crianças de até 12 anos, durante o inverno. Esses valores próximos dos vistos anteriormente por Rodrigues et al. 2023, também em Itaipu, que observou

**Tabela 8.** Tabela representativa do EMI do consumidor final de cada metal, separado por sexo, faixa etária e data de coleta dos animais. Valores marcados com \* demonstram valores acima do PTMI. Os valores representam a ingestão mensal em mg/kg.

Idade	Metal	Setembro 2022						Março 2023					
		Mexilhão		Siri		Peixe		Mexilhão		Siri		Peixe	
		H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M
12 anos	Cr	2,7781*	2,5207*	7,2456*	6,5741*	7,8200*	7,0953*	4,0703*	3,6931*	3,7995*	3,4474*	31,3639*	28,4573*
	Hg	0,0646*	0,0586*	1,7672*	1,6034*	1,4463*	1,3122*	0,1292*	0,1172*	1,7407*	1,5794*	0,9249*	0,8392*
	Zn	267,2190*	242,4552*	209,6808*	190,2491*	5,0451	4,5776	208,8133*	208,8133*	188,7392*	171,2483*	45,7425*	41,5034*
34 anos	Cr	1,4843*	1,8190*	3,8711*	4,7440*	4,1779*	5,1201*	2,1746*	2,6650*	2,0299*	2,4877*	16,7566*	20,5353*
	Hg	0,0345*	0,0423*	0,9442*	1,1571*	0,7727*	0,9469*	0,0690*	0,0846*	0,9300*	1,1397*	0,4942*	0,6056*
	Zn	142,7655*	174,9599*	112,0249*	137,2871*	2,6954	3,3033	111,5614*	136,7191*	100,8365*	123,5757*	24,4386	29,9496
76 anos	Cr	1,7000*	1,9080*	4,4337*	4,9762*	4,7852*	5,3706*	2,4907*	2,7954*	2,3250*	2,6095*	19,1922*	21,5403*
	Hg	0,0395*	0,0444*	1,0814*	1,2137*	0,8850*	0,9933*	0,0791*	0,0887*	1,0652*	1,1955*	0,5660*	0,6352*
	Zn	163,5163*	183,5223*	128,3076*	144,0059*	3,0872	3,4649	127,7767*	143,4101*	115,4930*	129,6235*	27,9907	31,4153*

H-Homem; M-Mulher



valores máximos de HQ para *Micropogonias furnieri*, de 2.3, para *Achelous spinimanus*, de 4.6 e 0.3 em *Perna perna*, todos também observado em crianças de até 12 anos. Todos os maiores valores de HQ observados ocorreram em crianças de até 12 anos, isso ocorre por dois fatores, primeiramente o organismo em desenvolvimento apresenta um sistema imunológico mais fraco, e por consequência é mais suscetível a alterações causadas por contaminantes, e além disso, o menor peso também interfere, já que este é utilizado nos cálculos (RODRIGUES et al., 2023).

Observando o cromo, apenas durante o verão foi observado valores maiores que 1 para homens e mulheres consumidores de peixe nas três faixas etárias, novamente o maior valor foi para crianças de até 12 anos, apresentando um coeficiente de risco de 2,6. Os valores observados na literatura para os animais são menores que os nossos valores máximos, porém compatíveis com os resultados em geral. Lima et al. (2022) observou em peixes, no Pará, em uma área de preservação, valores de HQ entre e 0,747, observado em *Colossoma macropomum*, e 0,198, observado em *Geophagus sp.*, em siris foi obtido o valor máximo de 0.05 por Rodrigues et al. em 2022. Em mexilhões, Liu et al. em 2021 observou na Baía de Xiangshan, China valores de HQ de 0,01, este valor foi obtido analisando múltiplas espécies.

Já para o zinco, todos os valores foram inferiores a 1. Para o Zn, Kumar et al. (2021) encontrou valores de HQ bem superiores aos observados no estudo atual, na faixa de 4.493 e 1.86, para mexilhões foi encontrado por Akkajit et al. em 2018 no canal Bang Yai na Tailândia um valor de 0.0136, já para siris Gao et al. (2016) observou valores de HQ entre 0.3621 para crianças e 0.6237 para adultos.

É importante lembrar que estes cálculos para o coeficiente de risco foram realizados levando em conta o consumo da população no geral, ou seja, partes da população que consomem quantidades maiores de pescado, como a comunidade pesqueira presente na área de Itaipu, os riscos intrínsecos ao consumo destes animais contaminados seriam ainda maiores. Ademais, estes valores foram calculados utilizando as concentrações obtidas no músculo cru destes animais, podendo ser alterados pelo método utilizado na cocção dos alimentos, levando à precipitação ou volatilização dos metais no músculo (MAULVAULT et al., 2011), o que pode reduzir o risco associado ao consumo.

**Tabela 9.** A tabela apresenta os coeficientes de risco de cada metal para as diferentes faixas etárias e sexos. O \* representa um valor de HQ>1, que aponta os animais não seguros para consumo.

Idade	Metal	Setembro 2022						Março 2023					
		Mexilhão		Siri		Peixe		Mexi hão		Siri		Peixe	
		H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M
12 anos	Cr	0,23	0,21	0,60	0,54	0,65	0,59	0,33	0,30	0,31	0,28	2,61*	2,37*
	Hg	0,16	0,14	4,41*	4,00*	3,61*	3,28*	0,32	0,29	4,35*	3,94*	2,31*	2,09*
	Zn	0,22	0,20	0,17	0,15	0,004	0,003	0,17	0,15	0,15	0,14	0,03	0,03
34 anos	Cr	0,12	0,15	0,32	0,39	0,34	0,42	0,18	0,22	0,16	0,20	1,39*	1,71*
	Hg	0,08	0,10	2,36*	2,89*	1,93*	2,36*	0,17	0,21	2,32*	2,84*	1,23*	1,51*
	Zn	0,11	0,14	0,09	0,11	0,002	0,002	0,09	0,11	0,08	0,10	0,02	0,02
76 anos	Cr	0,14	0,15	0,36	0,41	0,02	0,03	0,20	0,23	0,19	0,21	1,59*	1,79*
	Hg	0,09	0,11	2,70*	3,03*	2,21*	2,4*	0,19	0,22	2,66*	2,98*	1,41*	1,58*
	Zn	0,13	0,15	0,10	0,12	0,002	0,002	0,10	0,11	0,09	0,10	0,02	0,02

H- Homem; M-Mulher

## 5 CONCLUSÃO

Após as análises realizadas foi possível observar que os valores obtidos para cromo e mercúrio estavam dentro dos limites máximos definidos, apenas para o zinco foi possível observar um valor superior ao limite, exclusivamente em siris no verão, apesar de este ser um metal essencial para o organismo, valores tão elevados podem levar a intoxicação crônica, gerando mais complicações que os benefícios que poderiam ser obtidos da ingestão apropriada do metal. Apesar destes valores estarem dentro dos limites definidos, ou não ultrapassarem estes por uma margem muito ampla, ao analisarmos o coeficiente de risco fica claro que alguns valores apresentam risco para a população em geral, principalmente em crianças, que apresentam um sistema imune mais fraco e peso menor. Estes achados mostram a necessidade não só de aumentar a fiscalização no local para controlar os níveis de contaminantes, mas também ajustar os limites máximos de presença para estes metais, para o cromo e mercúrio, e criar limites máximos para o zinco nos animais observados, já que valores inferiores a estes limites já apresentam risco iminente tanto para os animais analisados, quanto para a população consumidora. Os valores elevados de concentração dos metais representam um risco para os consumidores finais de pescado, porém a parcela da população mais afetada é a comunidade pesqueira, já que esta população consome quantidades maiores de pescado, isto aumenta o risco associado ao consumo. Devido à importância desta área para a população consumidora de pescado e para a comunidade pesqueira, é essencial que o local seja preservado.

## 6 REFERÊNCIAS

ABDALLAH, M.A.M. Chromium geochemistry in coastal environment of the Western Harbour, Egypt: water column, suspended matter and sediments. *J Coast Conserv* v.18, p.1–10, 2014.

ANANDKUMAR, A.; NAGARAJAN, R.; PRABAKARAN, K.; RAJARAM, R. Trace metal dynamics and risk assessment in the commercially important marine shrimp species collected from the Miri coast Sarawak, East Malaysia. *Reg Stud Mar Sci*, v.16, p.79–88, 2017.

ANDRADE, L.S.; FRAMESCHI, I.F.; COSTA, R.C.; CASTILHO, A.L.; FRANSOZO, A. The assemblage composition and structure of swimming crabs (Portunoidea) in continental shelf waters of southeastern Brazil. *Continental Shelf Research*, v. 94, p.8-16, 2014.

ANTOINE, J.M.R.; FUNG, L.A.H.; GRANT, C.N. Assessment of the potential health risks associated with the aluminium, arsenic, cadmium and lead content in selected fruits and vegetables grown in Jamaica. *Toxicol Rep*, v.4, p.181-187, 2017.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 28 de agosto de 1998

AOUN, M.; ARNAUDGUILHEM, C.; EL SAMAD, O.; KHOZAM, R.B.; LOBINSKI, R. Impact of phosphate fertilizer plant on the contamination of marine biota by heavy elements. *Environ Sci Pollut Res*, v.22, n.19, p.14940–14949, 2015.

ARCAGNI, M.; JUNCOS, R.; RIZZO, A.; PAVLIN, M.; FAJON, V.; ARRIBÉRE, M.A., et al. Species- and habitat-specific bioaccumulation of total mercury and methylmercury in the food web of a deep oligotrophic lake. *Sci Total Environ*. v. 612, p.1311–1319, 2018.

ARUNKUMAR, R.I.; RAJASEKARAN, P.; MICHAEL, R.D. Differential effect of chromium compounds on the immune response of the African mouth breeder *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Fish Shellfish Immunol.*, v.10, n.8, p. 667-76, 2000.

AVELLAN, A.; STEGEMEIER, J.P.; GAL, K.; DALE, J.; HSU-KIM, H.; LEVARD, C.; O'REAR, D.; HOELEN, T.P.; LOWRY, G.V. Spaciation of mercury in Selected Areas of the Petroleum value Chain. *Environ Sci Technol*, v.52, n.3, p. 1655-16664, 2018.

BAKI, M.A.; HOSSAIN, M.M.; AKTER, J.; QURAIISHI, S.B.; HAQUE, SHOJIB, M.F.; ATIQUÉ- ULLAH, A.K.M.; KHAN, M.F. Concentration of heavy metals in seafood (fishes, shrimp, lobster and crabs) and human health assessment in Saint Martin Island, Bangladesh. *Ecotoxicol Environ Saf*, v.159, p.153–163, 2018.

BAUER, A.B.; PAIVA, T.C.; DE BARBOZA, C.A.M.; MALM, O.; FISCHER, L.G. Mercury Concentrations in Four Marine Fishery Resources from Rio de Janeiro Coast, SW Atlantic, and Potential Human Health Risk Via Fish Consumption. *Biol Trace Element Res*, v.199, n.12, p.4772–4781, 2021.

Bjerregaard P, Jensen LBE, Pedersen KL. Effect of size on concentrations and cadmium inducibility of metallothionein in the shore crab *Carcinus maenas*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2021 Nov;249:109146. doi: 10.1016/j.cbpc.2021.109146. Epub 2021 Jul 20. PMID: 34293485.

BJORKLUND, G.; DADAR, M.; MUTTER, J.; AASETH, J. The toxicology of mercury: current research and emerging trends. *Environ Res*, v.159, p.545-554, 2017.

BOYD, E.S.; YU, R.Q.; BARKAY, T.; HAMILTON, T.L.; BAXTER, B.K.; NAFTAZ, D.L.; et al..Effect of salinity on mercury methylating benthic microbes and their activities in great salt Lake, Utah. *Sci. Total Environ*, v.581–582, p.495-506, 2017.

BRAGA, A.A.; FRANSOZO, A.; BERTINI, G.; FUMIS, P.B. Composição e abundância dos caranguejos (Decapoda, Brachyura) nas regiões de Ubatuba e Caraguatatuba, Litoral Norte Paulista, Brasil. *Biota Neotrópica*, v.5, n. 2, p. 1-34, 2005.

BROWN, M.A.; THOM, J.V.; ORTH, G.L.; COVA, P.; JUAREZ, J. Food poisoning involving zinc contamination. *Arch Environ Health*, v.8, p. 657-60, 1964.

ÇİFTÇİ, N.; CİCIK, B.; ERDEM, C.; AY, O.; KARAYAKAR, F.; KARAYTUG, S. Accumulation of chromium in hepatopancreas, gill and muscle tissues of *Callinectes sapidus*. Fresenius Environ Bull, v.20, n.4, p.1089–1092, 2011.

ÇOĞUN, H.Y.; FIRAT, O.; AYTEKIN, T.; FIRIDIN, G.; FIRAT, O.; VARKAL, H.; TEMİZ, O.; KARGIN, F. Heavy metals in the blue crab (*Callinectes sapidus*) in Mersin Bay, Turkey, Bull Environ Contam Toxicol, v.98, p.824-829, 2017.

Copat, C., Bella, F., Castaing, M. et al. Heavy Metals Concentrations in Fish from Sicily (Mediterranean Sea) and Evaluation of Possible Health Risks to Consumers. Bull Environ Contam Toxicol 88, 78–83 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0433-6>

COPAT, C.; GRASSO, A.; FIORES, M.; CRISTALDI, A.; ZUCCARELLO, P.; SIGNORELLI, S.S.; CONTI, G.O.; FERRANTE, M. Trace elements in seafood from the Mediterranean sea: An exposure risk assessment. Food Chem Toxicol, v.115, p.13–19, 2018.

COSTA, F.N.; KORN, M.G.A.; BRITO, G.B.; FERLIN, S.; FOSTIER, A.H. Preliminary results of mercury levels in raw and cooked seafood and their public health impact. Food Chem, v.192, p.837–841, 2016.

COSTA, B.S.; CUSTÓDIO, F.B.; DEUS, V.L.; HOYOS, D.C.M.; GLORIA, M.B.A. Mercury in raw and cooked shrimp and mussels and dietary Brazilian exposure. Food Control, v.121, p.107669, 2021

CRAB DATABASE. Taxon Tree of Crabs, 2016. Disponível em:<https://www.crabdatabase.info/en/crabs>. Acesso em: 16 de julho de 2023.

DAS, S.; TSENG, L.C.; CHOU, C.; WANG, L.; SOUISSI, S.; HWANG, J.S. Effects of cadmium exposure on antioxidant enzymes and histological changes in the mud shrimp *Austinoergia edulis* (Crustacea:Decapoda). Environ Sci Pollut Res, v.26, p.7752–7762, 2019.

DE ANDA-MONTAÑEZ, J.A.; ZENTENO-SAVÍN, T.; BALART, E.F.; ACOSTA-VARGAS, B.; GAXIOLA-ROBLES, R.; MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, L.C. Spatial and Temporal

Variability of Trace and Macro Elements in the Red Crab *Pleuroncodes planipes* in the Pacific Coast of the Baja California Peninsula, Mexico. *Animals (Basel)*, v.13, n.5, p.822, 2023.

DONG, W.; LIU, J.; WEI, L.; JINGFENG, Y.; CHERNICK, M.; HINTON, D.E.. Developmental toxicity from exposure to various forms of mercury compounds in medaka fish (*Oryzias latipes*)embryos. *Peer J*, v. 4, p.e2282, 2016.

EKINO, S.; SUSA, M.; NINOMIYA, T.; IMAMURA, K.; KITAMURA, T. Minamata disease revisited: an update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. *J Neurol Sci*, v.262, n.1–2, p.131–144, 2007.

ELDERFIELD, H. Chromium speciation in sea water, *Earth and Planetary Science Letters*, v.9, n.1, p.1-10, 1970.

EVANS, D.; KATHMAN, R.; WALKER, W. Trophic accumulation and depuration of mercury by blue crabs (*Callinectes sapidus*) and Pink shrimp (*Penaeus duorarum*). *Marine Environmental Research*, v. 49, n. 5, p. 419-434, 2000.

FIGUEIREDO, J.L. Manual of marine fishes from southeastern Brazil. USP, São Paulo, p.111, 1977. Disponível em [:https://ia801308.us.archive.org/12/items/Manualdepeixesm1Figu/Manualdepeixesm1Figu.pdf](https://ia801308.us.archive.org/12/items/Manualdepeixesm1Figu/Manualdepeixesm1Figu.pdf). Acesso em Junho de 2023.

FOSMIRE, G.J. Zinc toxicity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.51, n.2, p.225–227, 1990.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Food andAgriculture Organization (FAO) Heavy metal regulations—Faolex. Legal Notice No.66/2003, 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Safety evaluations of Certain Food Additives and Contaminants: Sixty-seventhy Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Roma: Food and Agriculture Organization/WHO), 48p, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. The living marine resources of the Eastern Central Atlantic. Volume4: Bony fishes. Rome, Italy, p.820, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). FishFinder. Species Fact Sheets, 2018. Disponível em:<http://www.fao.org/fshery/species/2632/en>. Acesso em: 21 de junho de 2023

FIRTH, D.C.; SALIE, K.; O'NEILL, B.; HOFFMAN, L.C. Monitoring of trace metal accumulation in two South African farmed mussel species, *Mytilus galloprovincialis* and *Choromytilus meridionalis*. Mar Pollut Bull., v.141, p.529-534, 2019.

FRANCO-FUENTES, E.; MOITY, N.; RAMÍREZ-GONZÁLEZ, J.; ANDRADE-VERA, S.; HARDISSON, A.; GONZÁLEZ-WELLER, D.; PAZ, S.; RUBIO, C.; GUTIÉRREZ, Á.J. Metals in commercial fish in the Galapagos Marine Reserve: Contribution to food security and toxic risk assessment. J Environ Manage., v.15, n.286, p.112188, 2021.

Gao M, Klerks PL, Wu X, Chen H, Xie L. Metal Concentrations in Sediment And Biota of the Huludao Coast in Liaodong Bay and Associated Human and Ecological Health Risks. Arch Environ Contam Toxicol. 2016 Jul;71(1):87-96. doi: 10.1007/s00244-016-0274-8. Epub 2016 Mar 16. PMID: 26979742.

HONG, Y.S.; KIM, Y.M.; LEE, K.E. Methylmercury exposure and health effects. J Prev Med Public Health, v.45, n.6, p. 353-363, 2012.

HOSSAIN, M.B.; AHMED, A.S.S.; SARKER, M.S.I. Human health risks of Hg, As, Mn, and Cr through consumption of fish, Ticto barb (*Puntius ticto*) from a tropical river, Bangladesh. Environmental Science and Pollution Research, v.25, p.31727–31736, 2018.

INSTITUTE OF MEDICINE (IM). Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press, Washington, DC, 2001.



INTEGRATED RISK INFORMATION SYSTEM (IRIS)–United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2005). Zinc and compounds. Disponível em: [https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance\\_nمبر=426](https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nمبر=426). Acesso em junho de 2023.

INTEGRATED RISK INFORMATION SYSTEM (IRIS)–United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1998). Chromium(VI). Disponível em: [https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicallanding.cfm?substance\\_nمبر=144](https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicallanding.cfm?substance_nمبر=144). Acesso em junho de 2023

INTEGRATED RISK INFORMATION SYSTEM (IRIS)–United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2001). Methylmercury (MeHg). Disponível em: [https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance\\_nمبر=7](https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nمبر=7). Acesso em julho de 2023.

JACOBO, L.L.; DÍAZ, F.; RE, A.D.; GALINDO-SANCHEZ, C.E.; SANCHEZ-LIZARRAGA, A.L.; NUÑEZ-MORENO, L.A.; MORENO-SIERRA, D. Physiological responses of the red rocky crab *Cancer antennarius* exposed to different concentrations of copper sulfate. *Rev Biol Mar Oceano*, v. 51, n.2, p.327–336, 2016.

JAN, A.T.; AZAM, M.; SIDDIQUI, K.; ALI, A.; CHOI, I.; HAQ, Q.M. Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. *Int J Mol Sci*, v.16, n.12, p.29592–29630, 2015.

KARAR, S.; HAZRA, S.; DAS, S. Assessment of the heavy metal accumulation in the Blue Swimmer Crab (*Portunus pelagicus*), northern Bay of Bengal: role of salinity. *Mar Pollut Bull* v.143, p.101–108, 2019.

KHAN, M.I.; ZAHOOR, M.; KHAN, A.; GULFAM, N.; KHRISROON, M. Bioaccumulation of heavy metals and their genotoxic effect on freshwater mussel, *Bull Environ Contam Toxicol*, v.102, n.1, p. 52-58, 2019.

KUMAR, P.; SIVAPERUMAL, P.; MANIGANDAN, V.; RAJARAM, R.; HUSSAIN, M. Assessment of potential human health risk due to heavy metal contamination in edible finfish and shellfish collected around Ennore coast, India. *Environ Sci Pollut Res Int.*, v.28, n.7, p.8151-8167. 2021.

JOMOVA, K.; MAKOVA, M.; ALOMAR, S.Y.; ALWASEL, S.H.; NEPOVIMOVA, E.; KUCA, K.; RHODES, C.J.; VALKO, M. Essential metals in health and disease, *Chemico-Biological Interactions*, v.367, p.110173, 2022.

LEVINA, A.; PHAM, T.H.; LAY, PA. Binding of Chromium(III) to Transferrin Could BeInvolved in Detoxification of Dietary Chromium(III) Rather than Transport of an EssentialTrace Element. *Angew Chem Int Ed Engl.*, v.55, n.28, p.8104-8107, 2016.

LIMA, M.W.; PEREIRA, W.V.D.S.; SOUZA, E.S.; TEIXEIRA, R.A.; PALHETA, D.D.C.; FAIAL, K.D.C.F.; COSTA, H.F.; FERNANDES, A.R. Bioaccumulation and human health risks of potentially toxic elements in fish species from the southeastern Carajás Mineral Province, Brazil. *Environ Res.*, v.204, n.Pt B, p.112024, 2022.

LIU, Q.; XU, X.; ZENG, J.; SHI, X.; LIAO, Y.; DU, P.; TANG, Y.; HUANG, W.; CHEN, Q.; SHOU, L. Heavy metal concentrations in commercial marine organisms from Xiangshan Bay, China, and the potential health risks. *Mar Pollut Bull*, v.141, p.215–226, 2019.

MACIEL, E.S., SONATI, J.G., LIMA, L.K.F., SAVAY-DA-SILVA, L.K., GALVÃO, J.A., OETTERER, M. Similarities and distinctions of fish consumption in Brazil and Portugal measured through electronic survey. *Int Food Res J*, v.23, n.1, p.404–411, 2016.

MAHARAJAN, A.; RAJALAKSHMI, S.; VIJAYAKUMARAN, M.; KUMARASAMY, P. Sublethal effect of copper toxicity against histopathological changes in the spiny lobster, *Panulirus homarus*(Linnaeus,1758). *Biol Trace Elem Res*, v.145, n.2, p.201–210, 2011.

MALLORY, M.L.; O'DRISCOLL, N.J.; KLAPSTEIN, S.; VARELA, J.L.; CEAPA, C.; STOKES-BURY, M.J. Methylmercury in tissues of Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus*) from the Saint John River, New Brunswick, Canada. *Mar Pollut Bull*, v.126, p.250–254, 2018.

MARQUES, D.S.; COSTA, P.G.; SOUZA, G.M.M; CARDOZO, J.G.; BARCAROLLI, I.F.; BIANCHINI, A. Selection of biochemical and physiological parameters in the croaker *Micropogonias furnieri* as biomarkers of chemical contamination in estuaries using a

generalized additive model (GAM). *Science of The Total Environment*, v.647, p.1456–1467, 2019.

MAULVAULT AL, MACHADO R, AFONSO C, LOURENÇO HM, NUNES ML, COELHO I, LANGERHOLC T, MARQUES A. Bioaccessibility of Hg, Cd and As in cooked black scabbard fish and edible crab. *Food Chem Toxicol.* 2011 Nov;49(11):2808-15. doi: 10.1016/j.fct.2011.07.059. Epub 2011 Aug 12. PMID: 21856365.

MAULVAULT, A.L.; ANACLETO, P.; BARBOSA, V.; SLOTH, J.J.; RASMUSSEN, R.R.; TEDIOSI, A.; FERNANDEZ-TEJEDOR, M.; VAN DEN HEUVEL, F.H.M.; KOTTERMAN, M.; MARQUES, A. Toxic elements and speciation in seafood samples from different contaminated sites in Europe. *Environ. Res.*, v.143, n. part B, p.71-81, 2015.

MELO, G.A.S. Manual de identificação dos Brachyura (Caranguejos e siris) do litoral Brasileiro. São Paulo: Plêiade, 604p.

MILLER, R.J.; ADELEYE, A.S.; PAGE, H.M.; KUI, L.; LENIHAN H.S.; KELLER, A.A. Nano and traditional copper and zinc antifouling coatings: metal release and impact on marine sessile invertebrate communities. *J Nanopart Res*, v.22, p. 129, 2020.

MURPHY, G.W.; NEWCOMB, T.J.; ORTH, D.J. Sexual and seasonal variations of mercury in smallmouth Bass. *J. Freshwater Ecol.*, v.22, n.1, p.135–143, 2007.

OLIVEIRA, H. Chromium as an environmental pollutant: in-sights on induced plant toxicity. *J Bot* 8p, Article ID 375843, 2012.

PAVESI, T.; MOREIRA, J.C. Mechanisms and individuality in chromium toxicity in humans. *J Appl Toxicol*, v.40, n.9, p.1183-1197, 2020.

PEREIRA, C.D.S., MARTÍN-DÍAZ, M.L., CATHARINO, M.G.M., CESAR, A., CHOUERI, R.B., TANIGUCHI, S., ABESSA, D.M.S., BÍCEGO, M.C., VASCONCELLOS, M.B.A., BAINY, A.C.D., SOUSA, E.C.P.M., DELVALLS, T.A. Chronic contamination assessment integrating biomarkers' responses in transplanted mussels—A seasonal monitoring. *Environmental Toxicology*, v.27, n.5, p. 257–267, 2012..

PINHEIRO, M.A.A., BOOS, H., REIGADA, A.L.D., RODRIGUES, E.S., ROCHA, S.S., HEREMAN, M.J., SOUZA, M.R. Avaliação dos caranguejos Portunídeos (Decapoda: Portunoidea: Ovalipidae, Polybiidae e Portunidae). In book: Livro vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014. Chapter 26, Edition 1, Sociedade Brasileira de Carcinologia, pp29, 2016.

PLUM, L.M.; RINK, L.; HAASE, H. The essential toxin: impact of zinc on human health. *Int J Environ Res Public Health*, v.7, n.4, p.1342-65, 2010.

PHILLIPS, D.J.H. The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I. Effects of environmental variables on uptake of metals. *Marine Biology*, v.38, p.59–69, 1976.

PREFEITURA DE NITERÓI (2018). Historical evolution of the uses of the lagoon system and its surroundings: elaboration of a study to analyze the environmental condition of the Piratininga-Itaipu-Niteroiperi-lagunar system. Hidrosience Consulting and Environmental Restoration. Eireli, Porto Alegre-RS, 46p.. Disponível em :[http://www.prosustentavel.niteroi.rj.gov.br/pdf/RE\\_P4\\_EVO.HIST%C3%93RICA\\_V02.pdf](http://www.prosustentavel.niteroi.rj.gov.br/pdf/RE_P4_EVO.HIST%C3%93RICA_V02.pdf). Acessado em junho de 2022.

QIN, L.Y.; ZHANG, R.C.; LIANG, Y.D.; WU, L.C.; ZHANG, Y.J.; MU, Z.L.; DENG, P.; YANG, L.L.; ZHOU, Z.; YU, Z.P. Concentrations and health risks of heavy metals in five major marketed marine bivalves from three coastal cities in Guangxi, China. *Ecotoxicol Environ Saf*, v.15, n.223, p.112562, 2021.

RAKNUZZAMAN, M.; AHMED, M.K.; ISLAM, M.S.; HABIBULLAH-AL-MAMUN, M.; TOKUMURA, M.; SEKINE, M.; MASUNAGA, S. Trace metal contamination in commercial fish and crustaceans collected from coastal area of Bangladesh and health risk assessment. *Environ Sci Pollut Res*, v. 23, p.17298–17310, 2016.

RAZA'I, T.S.; THAMRIN, N.; AMRIFO, V.; PARDI, H.; PANGESTIANSYAH, P.I, FEBRIANTO, T.; FADHLI, I.A. Accumulation of essential (copper, iron, zinc) and

non-essential (lead, cadmium) heavy metals in *Caulerpa racemosa*, sea water, and marine sediments of Bintan Island, Indonesia. *F1000Res.*, v.10, p.699, 2022.

REINHART, B.L.; KIDD, K.A.; CURRY, R.A.; O'DRISCOLL, N.J.; PAVEY, S.A. Mercury bioaccumulation in aquatic biota along a salinity gradient in the Saint John River estuary. *J. Environ. Sci.*, v.68, p.41–56, 2018.

RODRIGUES, P.A.; FERRARI, R.G.; SANTOS, L.N.; CONTE-JUNIOR, C.A. Mercury in aquatic fauna contamination: a systematic review on its dynamics and potential health risks. *J Environ Sci* v.84, p.205–218, 2019.

RODRIGUES, P.A.; FERRARI, R.G.; HAUSER-DAVIS, R.A.; SANTOS, L.N.; CONTE-JUNIOR, C.A. Seasonal influences on swimming crab mercury levels in an eutrophic estuary located in southeastern Brazil. *Environ Sci Pollut Res*, v. 27, p.3473–3482, 2020a.

RODRIGUES, P.A.; FERRARI, R.G.; HAUSER-DAVIS, R.A.; SANTOS, L.N.; CONTE-JUNIOR, C.A. Dredging activities carried out in a Brazilian estuary affect mercury levels in Swimming crabs. *Int J Environ Res Public Health*, v.17, n.12, p.4396, 2020b..

RODRIGUES, P.A.; FERRARI, R.G.; ROSÁRIO, D.K.A.; HAUSER-DAVIS, R.A.; CONTE-JUNIOR, C.A. Interactions between mercury and environmental factors: A chemometric assessment in seafood from an eutrophic estuary in southeastern Brazil. *Aquatic Toxicology*, v.236, n.1, p.105844, 2021a.

RODRIGUES, P.A.; FERRARI, R.G.; KATO, L.S.; HAUSER-DAVIS, R.A.; CONTE-JUNIOR, C.A. A Systematic Review on Metal Dynamics and Marine Toxicity Risk Assessment Using Crustaceans as Bioindicators. *Biol Trace Elem Res*, v.200, p.881–903, 2021b.

RODRIGUES, P.A.; FERRARI, R.G.; ROSÁRIO, D.K.A.; HAUSER-DAVIS, R.A.; SANTOS, L.N.; CONTE-JUNIOR, C.A. Mercurial contamination: A consumer health risk assessment concerning seafood from a eutrophic estuary in Southeastern Brazil. *Frontier in Marine Science*, v.9, p.765323, 2022.

RODRIGUES, P.A.; DE PINHO, J.V.; RAMOS-FILHO, A.M.; NEVES, G.L.; CONTE-JUNIOR, C.A. Mercury contamination in seafood from an aquatic environment impacted by anthropic activity: seasonality and human health risk. *Environ Sci Pollut Res.*, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-28435-7>

SAADATI, M.; SOLEIMANI, M.; SADEGHSABA, M.; HEMAMI, M.R. Bioaccumulation of heavy metals (Hg, Cd and Ni) by sentinel crab (*Macrophthalmus depressus*) from sediments of Mousa Bay, Persian Gulf. *Ecotoxicol Environ Saf*, v. 191, p.109986, 2019.

SADHU, A.K., KIM, J.P., FURRELL, H., BOSTOCK, B. Methyl mercury concentrations in edible fish and shellfish from Dunedin, and other regions around the South Island, New Zealand. *Mar.Pollut. Bull.*, v.101, n.1, p.386–390, 2015.

SANTOS, F.S.; NEVES, R.A.F.; CRAPEZ, M.A.C.; TEIXEIRA, V.L.; KREPSKY, N. How does the brown mussel *Perna perna* respond to environmental pollution? A review on pollution biomarkers. *Journal of Environmental Sciences*, v.111, p.412-428, 2022.

SARAVI, S.S.S.; SHOKRZADEH, M.. Heavy metals contamination in water and three species of most consumed fish sampled from Caspian Sea, 2011. *Environ Monitor Assess*, v.185, n.12, p.10333–10337, 2013.

SIDDIQUI, A.S., SAHER, N.U. Interferences of trace metals between sediment and Dotillid crab (*Ilyoplax frater*) from three tidal creeks, Karachi, Pakistan. *SN Applied Sciences*, v.3, n.1, p.109, 2021.

SILVANO, R.A.M.; MACCORD, P.F.L.; LIMA, R.V.; A. Begossi. When Does this Fish Spawn? Fishermen's Local Knowledge of Migration and Reproduction of Brazilian Coastal Fishes. *Environ Biol Fish*, v.76, p.371–386, 2006.

SHEN, H.; KIBRIA, G.; WU, R.S.S.; MORRISON, P.; NUGEGODA, D. Spatial and temporal variations of trace metal body burdens of live mussels *Mytilus galloprovincialis* and field validation of the Artificial mussels in Australian inshore marine environment. *Chemosphere*, v.248, p.1260004, 2020.

SOUSA, A. N.; BERNARDES, V. P.; BERNARDO, C.H.; TADDEI, F. G.; TEIXEIRA, G. M.; COSTA, R.C.; FRANSOZO, A. Reproductive biology of the swimming crab *Achelous spinimanus* (Decapoda, Portunoidea): a potential fishing resource. *Iheringia. Série Zoologia*, v.110, p.e2020010, 2020.

SUTEJA, Y.; DIRGAYUSA, I.G.N.P. Bioaccumulation and translocation of chromium on crabs and mangroves in Mati River estuary, Bali, Indonesia. *AACL Bioflux*, v.11, n.2, p.469–475, 2018.

TANG, L.; HAMID, Y.; ZEHRA, A.; SAHITO, Z.A.; HE, Z.; KHAN, M.B.; FENG, Y.; YANG, X. Mechanisms of water regime effects on uptake of cadmium and nitrate by two ecotypes of water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk) in contaminated soil. *Chemosp*, v.246, p.125798, 2020.

TAYLOR, D.L.; CALABRESE, N.M. Mercury content of blue crabs (*Callinectes sapidus*) from southern New England coastal habitats: contamination in an emergent fishery and risks to human consumers. *Mar Pollut Bull*, v.126, p.166–178, 2018.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, US-EPA. Risk assessment guidance for superfund, vol I. In: Human health evaluation manual (Part A), Interim Final. EPA 540/1–89/002. United States Environmental Protection Agency, Washington DC, p 291, 1989. Disponível em: [https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/rags\\_a.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/rags_a.pdf). Acesso em Junho de 2023.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, USEPA. Guideline for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories, vol. I. Fish Sampling and Analysis. Third Edition. Office of Water. U.S.Environmental Protection Agency. Washington, DC: Document No. EPA 823-B-00-007.November 2000a.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, US-EPA. Guidance for assessing chemical contamination data for use in fish advisories, vol II. In: Risk assessment and fish consumption limits EPA/823-B94–004. United States Environmental Protection

Agency, Washington DC, p 383, 2000b. Available in: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-06/documents/volume2.pdf>. Accessed June 202

RUSSEL, P.; THARMANATHAN, T. Zinc. University of Waterloo, Earth science Museum. 2003. Disponível em: <https://uwaterloo.ca/earth-sciences-museum/resources/detailed-rocks-and-minerals-articles/zinc>. Acesso em Julho de 2023.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AMBIENTAL (USEPA). Tolerable daily intake by metals, 2007. Available in: [http://www.popstoolkit.com/tools/HHRA/TDI\\_USEPA.aspx](http://www.popstoolkit.com/tools/HHRA/TDI_USEPA.aspx). Switzerland, 200

WILLIS, M.S.; MONAGHAN, S.A.; MILLER, M.L.; MCKENNA, R.W.; PERKINS, W.D.; LEVINSON, B.S.; BHUSHAN, V.; KROFT, S.H. Zinc-induced copper deficiency: a report of three cases initially recognized on bone marrow examination. *Am J Clin Pathol.*, v.123, n.1, p.125-31, 2005.

ZORODDU, M.A.; AASETH, J.; CRISPONI, G.; MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V.M. The essential metals for humans: a brief overview. *J InorgBiochem.*, v.195, p.120-129, 2013.