

Estudo da absorção de elementos químicos no músculo de peixes do litoral da Bahia

Absorption study of chemical elements muscle in fish of the coast Bahia

Zenira Cardoso Vilasboas Viana¹, Edevaldo da Silva², Gilenio Borges Fernandes³, Maria Graças Andrade Korn⁴, Vera Lúcia Cancio Souza Santos⁵

¹Profª do Departamento de Biofunção do Instituto de Ciências da Saúde – UFBA, ²Doutorando do Programa de Pós Graduação em Química do Instituto de Química - UFBA, ³Prof. do Departamento de Estatística do Instituto de Matemática – UFBA, ⁴Profra. do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da UFBA, ⁵Profª do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química - UFBA

Resumo

Este trabalho examinou a presença de elementos químicos no músculo de peixes provenientes da Baía de Todos os Santos e da região costeira de Porto Seguro. Os peixes foram adquiridos em amostragens mensais de março de 2004 a fevereiro de 2005. Dezesesseis elementos foram determinados em triplicatas em tecidos musculares de quatro espécies de peixes por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). A avaliação da precisão dos resultados foi verificada usando materiais de referência certificados. As concentrações médias de elementos traço nas espécies de peixes variaram nos seguintes intervalos, em mg g⁻¹ para Ca: 0,06-4,1 e Mg: 0,70-1,70 e, em µg g⁻¹, para Al <0,013-38,2; Cr <0,003-2,7; Cu <0,004-159,5; Fe <0,023-60,0; Li <0,0002-0,34; Mo <0,103-0,60; Se <0,014-4,5; Sr <0,001-2,5 e Zn <0,01-30,3. Os dados analíticos obtidos dos músculos dos peixes neste estudo foram avaliados por técnicas estatísticas para observações quanto ao comportamento dos metais nos peixes e para comparações de médias. Os resultados mostram que não há riscos para a saúde associados com o consumo destes peixes com respeito aos elementos Cd, Ni, Pb, Mn e V que estiveram abaixo do limite de quantificação do método utilizado (LoQ). No entanto, o selênio estava presente em todas as amostras com valores acima do limite de tolerância máxima (LMT) permitido para alimentos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O cromo estava presente acima do LMT em 25% das amostras.

Palavras-chave: Peixes. Metais. Selênio. Espectrometria.

Abstract

This study investigated the presence of chemical elements in muscle of the fish from the Todos os Santos Bay and the coastal region of Porto Seguro. The fish were purchased in monthly samples from March 2004 to February 2005. Sixteen elements were determined in triplicate in muscle tissues of four fish species by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES). The evaluation of the accuracy of the results was verified using certified reference materials. The average concentrations of trace elements in fish species varied in the following ranges, in mg g⁻¹, for Ca: 0.06 to 4.1 and Mg: 0.70 to 1.70 and, in µg g⁻¹, for Al <0.013 to 38.2; Cr <0.003 to 2.7; Cu <0.004 to 159.5; Fe <0.023 to 60.0; Li <0.0002 to 0.34; Mo <0.103 to 0.60; Se <0.014 to 4.5; Sr <0.001 to 2.5 and Zn <0.01 to 30.3. Analytical data obtained from the muscle of fish in this study were analysed by statistical techniques to observations of the behavior of metals in fish and for comparison of mean. The results showed that there are no health risks associated with consumption of these fish with respect to the elements Cd, Ni, Pb, Mn and V because they were below the quantification limit of the method used (LoQ). However, selenium was present in all samples with values above the maximum limit of tolerance (LMT) allowed for food by the National Agency of Sanitary Vigilance (ANVISA). The chromium was present above the LMT in 25% of samples.

Keywords: Fishes. Metals. Selenium. Spectrometry.

INTRODUÇÃO

Os elementos químicos desempenham importantes funções no metabolismo dos seres vivos. Podem ser considerados como potencialmente tóxicos (arsênio, cádmio, chumbo, mercúrio, níquel, etc), provavelmente essenciais (vanádio, cobalto) e essenciais (cobre, zinco, ferro, manganês, selênio). Os elementos essenciais podem produzir efeitos tóxicos quando a sua ingestão é excessivamente elevada prejudicando, através da cadeia alimentar, a saúde humana (TUZEN, 2009),

Recebido em 29/01/2012; revisado em 30/03/2012.
Correspondência / Correspondence: Zenira Cardoso Vilasboas Viana.
Av. Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela, CEP 40.110-100.
Salvador, Bahia, Brasil. Tel.: (71) 3283-8885. (71) 9983-9369. E-mail: zenira@ufba.br

interrompendo os ciclos metabólicos, ao serem absorvidos por um longo período de tempo, mesmo quando em baixas concentrações (GHAEDI et al. 2008). Elementos essenciais têm papel fundamental no metabolismo bioquímico, enquanto que, a exposição a altas concentrações de chumbo (Pb), por exemplo, pode causar anemia, cólica gastrointestinal e disfunções no sistema nervoso central (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2008). A determinação da concentração desses elementos em peixes é extremamente importante para a saúde humana (DURAL; GÖKSU; OZAK, 2007). Em geral, esses organismos acumulam contaminantes de ambientes aquáticos, sendo utilizados como

biomarcadores para segurança ambiental e alimentar (PYLE;RAJOTTEB;COUTURE, 2005; TURKMEN et al., 2009).

O peixe possui teor proteico elevado, grande quantidade de nutrientes, excelente digestibilidade, baixo teor de gordura saturada e alto teor de ácidos graxos poliinsaturados da série ω 3 e ω 6 que previnem a formação do colesterol do tipo LDL, lipoproteína de baixa densidade (IKEM; EGIEBOR, 2005).

O aumento e/ou a diminuição da concentração dos elementos químicos é condicionado a vários fatores, dependendo de cada tecido e de cada órgão que está sendo avaliado. O meio ambiente, é um dos fatores altamente importante, devendo ser considerado. Até o momento, informações sobre a qualidade dos peixes procedentes do litoral baiano em termos da composição de elementos traço, são escassas. O objetivo deste estudo foi determinar o conteúdo de elementos essenciais e tóxicos (Al-alumínio, Ca-cálcio, Cd-cádmio, Cu-cobre, Cr-cromo, Fe-ferro, Li-lítio, Mg-magnésio, Mo-molibdênio, Mn-manganês, Ni-níquel, Pb-chumbo, Se-selênio, Sr-estrôncio, V-vanádio e Zn-zinco) no tecido muscular das espécies de peixes mais populares, *Opisthonema oglinum* (sardinha laje), *Mugil ssp* (tainha), *Ocyurus chrysurus* (guaiúba) e *Lutjanus synagris* (ariacó), consumidas no Estado da Bahia, avaliando a absorção dos elementos por espécie e comparando com os limites máximos tolerados (LMT) pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

MATERIAIS E MÉTODOS

A baía de Todos os Santos (BTS), localizada nas coordenadas 13° 10' S e 38° 50' W, é uma das maiores baías da costa brasileira, com aproximadamente 1100 km², fica na costa Norte do Estado da Bahia, Brasil, encontrando-se sob impacto crescente, gerado pelo desenvolvimento acelerado das atividades humanas realizadas em suas margens e áreas vizinhas. As espécies *O. oglinum* (sardinha laje) e *Mugil ssp* (tainha), foram provenientes desta baía e as espécies *O. chrysurus* (guaiúba) e *L. synagris* (ariacó), provenientes de Porto Seguro, cidade litorânea com atividade pesqueira, situada na região do Extremo Sul do Estado da Bahia. As amostragens foram realizadas mensalmente de março de 2004 a fevereiro de 2005, com uma média de 18 exemplares por coleta.

Os peixes, colocados em sacos de polietileno previamente descontaminados, foram encaminhados ao laboratório sob resfriamento. Todo o material, vidrarias e utensílios utilizados nas análises foram previamente lavados com água corrente e água destilada. Em seguida, colocado em solução diluída de detergente neutro (Extran) a 0,5 % por 24 h e, após três lavagens com água destilada, foi imerso em HNO₃ 10% pelo mesmo período, sendo posteriormente lavado duas vezes com água destilada e por fim com água ultrapura MILLI-Q®, sendo armazenado em ambiente isento de poeira.

Os peixes foram filetados, separando o músculo que foi homogeneizado, liofilizado, tamisado (partículas $\leq 149 \mu\text{m}$, 100 mesh), quartado e armazenado em

frascos de vidro devidamente identificados. O processo de liofilização foi realizado com vácuo de 10 μm de Hg, por aproximadamente 36 horas, sob congelamento a -40°C (MELO, 2002). A digestão de aproximadamente 0,2 g do músculo liofilizado, de cada uma das espécies foi realizada em cadinhos de politetrafluoretileno (PTFE), adicionando 2 mL de HNO₃ 65% (v/v) e 2 mL de água deionizada, tampado e encaixado em um recipiente constituído por aço inoxidável fechado com tampa rosqueável. Por quatro horas, as amostras foram deixadas em repouso, iniciando assim a decomposição da matéria orgânica. A seguir, foram levadas à estufa a 170°C por 16 horas para completa digestão. Em cada batelada de digestão das amostras foram realizadas três provas em branco e para validação do método se realizou análises em triplicata dos materiais de referência certificados, Oyster Tissue (SRM-NBS-1566b) e Cod Muscle (CRM-BCR-422) introduzidos nas análises de forma aleatória. As amostras digeridas foram transferidas quantitativamente para balões volumétricos de 10,00 mL e estes avolumados com água ultrapura MILLI-Q®.

Todas as soluções necessárias às determinações foram preparadas com reagentes de grau analítico (Merck) e água ultrapura MILLI-Q®. As soluções de referência foram preparadas a partir das soluções estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de Al, Ca, Cd, Cu, Cr, Fe, Li, Mg, Mo, Mn, Ni, Pb, Se, Sr, V e Zn. Estas foram utilizadas para o preparo das soluções padrões da curva analítica necessária à determinação dos elementos.

Neste estudo, os elementos essenciais e tóxicos foram determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) após o procedimento de digestão do tecido muscular de quatro diferentes espécies de peixes da BTS e de Porto Seguro. Foram usadas as seguintes linhas espectrais (nm), Al, 396,152 (II); Cd, 228,802 (II); Cu, 422,673 (I); Fe, 238,204 (II); Ca, 396,847 (II); Cr, 267,716 (II); Li, 670,783 (I); Mn, 257,610 (I); Pb, 220,353 (III); Mg, 285,213 (I); Mo, 202,032 (II); Ni, 231,604 (II); V, 292,401 (II); Se, 196,026 (I); Sr, 407,771 (II); Zn, 213,857 (I), sendo I linha de emissão atômica e II linha de emissão iônica. Foram obtidas as estimativas dos limites de detecção (LoD) e de quantificação (LoQ) para cada elemento investigado considerando o desvio padrão relativo das intensidades de 10 ensaios do branco analítico.

As concentrações médias dos elementos determinados foram comparados com os LMT para Cd (1,0); Cu (30,0); Cr (0,1); Ni (5,0); Pb (2,0); Se (0,30) e Zn (50,0) preconizados pela ANVISA em alimentos.

Para avaliação dos resultados dos elementos que foram detectados nas quatro espécies de peixes utilizou-se técnicas estatísticas de análise descritiva e exploratória para as observações quanto ao comportamento dos metais nos peixes e a análise inferencial paramétrica (teste F da análise de variância - ANOVA) e não paramétrica (Teste de Kruskal-Wallis) para as comparações de médias. Foram utilizadas correlações não paramétrica de Spearman, a análise de *cluster* e de componentes principais.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A precisão e exatidão do método empregado foram verificadas pelas análises do material de referência, através dos resultados do Oyster Tissue (SRM-NBS-1566b) e do COD muscle (CRM-BCR-422), cujas taxas de recuperação ficaram em média, entre 89% e 104% ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

As estimativas obtidas dos limites de quantificação (LoQ) para cada elemento investigado foram em μg^{-1} para o Al (0,013); Ca (0,161); Cd (0,004); Cr (0,003); Cu (0,004); Fe (0,023); Li (0,0002); Mg (0,006); Mn (0,001); Mo (0,103); Ni (0,023); Pd (0,010); Se (0,014); Sr (0,001); V (0,003) e Zn (0,010).

Estão apresentadas na Tabela 1, 2, 3, 4 as médias das concentrações com desvio padrão dos dezesseis elementos detectados em quatro espécies de peixe.

Tainha

Observou-se que as médias das concentrações para Li, Al, Cu e Fe da tainha (Tabela 1) foram maiores quando comparadas com as outras espécies, sendo o maior valor encontrado para o Cu ($159,5 \mu\text{g g}^{-1}$) no mês de janeiro de 2005, sendo que todos os outros teores desse elemento para essa espécie ficaram abaixo do LMT permitido pela ANVISA ($30,0 \mu\text{g g}^{-1}$). Canli e Atli (2003) e Uysal et al (2008) avaliaram os teores de cobre em tecido muscular dos peixes encontrando valores inferiores aos encontrados no presente trabalho. Teores mais elevados foram detectados por Çogun et al. (2006).

Para os elementos quantificados em $\mu\text{g g}^{-1}$, o Fe teve maior representatividade entre as espécies. Mansour e Sidky (2002) revelaram teores superiores de Fe enquanto que Canli e Atli (2003) e Uysal et al. (2008) reportaram valores próximos aos determinados neste trabalho. Já o elemento Li, de um modo geral, apresentou os teores $< \text{LoQ}$ ($0,2 \text{ ng g}^{-1}$).

Ariacó

Nos resultados encontrados para ariacó observaram-se maiores concentrações para Cu e Zn no mês de agosto/2004 e para Fe no mês de janeiro/2005 (Tabela 2). Em todas as amostras os teores de Zn ficaram abaixo do LMT ($50,0 \mu\text{g g}^{-1}$) permitido pela ANVISA. Segundo Mcgeer et al. (2000), a captação de Zn depende da concentração de íons Ca^{+2} no ecossistema aquático e, uma vez nas guelras, o Zn é acumulado nos tecidos musculares.

Os valores de cobre obtidos neste estudo nas espécies estudadas foram superiores aos observados por Agusa et al (2007), embora somente no mês de agosto este elemento tenha apresentado um teor acima do LMT ($30,0 \mu\text{g g}^{-1}$) permitido pela ANVISA. O incremento desse elemento, no ecossistema aquático, pode ser proveniente das chuvas que carregam substâncias químicas utilizadas na agricultura, tais como fungicidas à base de cobre.

O Se apresentou comportamento com pouca variação em todos os meses avaliados e foram similares aos determinados por Agusa e colaboradores (2007) em peixes da mesma família *Lutjanus*. Esses valores ficaram acima daqueles permitidos pela ANVISA ($0,30 \mu\text{g g}^{-1}$).

Baixas concentrações, durante todo o período da pesquisa, foram observadas para Mo, embora esses valores tenham sido superiores aos determinados por Agusa e colaboradores (2007). O Mo é um cofator de enzimas e atua na enzima xantina oxidase. Este elemento, presente nos alimentos e na forma de complexos solúveis, é rapidamente absorvido pelo organismo (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2008).

O teor de Cr foi mais significativo no mês de agosto/2004 sendo mais elevado que o determinado por Agusa e colaboradores (2007). Na maioria dos alimentos, o Cr está presente em baixas concentrações sendo os peixes considerados uma boa fonte desse metal.

Guaiúba

Para a espécie guaiúba (Tabela 3) observando-se a dinâmica da concentração, verificou-se que os elementos que não apresentaram variações nas concentrações no decorrer dos meses foram o Mo, Cr e Li. Os demais elementos possuem variabilidade, sendo que, maiores médias foram apresentadas no mês de Junho/2004 para o Sr e Zn, no mês de fevereiro/2005 para o Al e sendo a maior concentração obtida para Cu e Fe em julho/2004.

Sardinha laje

Com relação à concentração dos elementos na sardinha laje (Tabela 4) foi observada que o Fé, em média, apresenta uma maior concentração entre os meses de maio a dezembro de 2004 e no mês de fevereiro de 2005 (Tabela 4). Canli e colaboradores (2001) notaram maiores teores de Fe em sardinha, enquanto Ikem e Egiebor (2005) observaram teores inferiores aos encontrados neste trabalho.

O Zn teve maior concentração, em média, entre julho/2004 a dezembro/2004, voltando a ter um aumento significativo em fevereiro/2005. Canli e colaboradores (2001) e Canli;Atli (2003) determinaram maiores teores de Zn que o presente trabalho. Em média, concentração do Li, Mo e Sr apresentaram-se de forma constante durante o período em estudo.

A maior concentração de Cr ($2,7 \mu\text{g/g}$) foi observada no mês de novembro de 2004. Este valor foi maior quando comparado àqueles observados nas sardinhas do mar Mediterrâneo (CANLI;ATLI, 2003).

Para avaliar a associação entre as concentrações dos diversos elementos químicos, utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman, tendo em vista que as pressuposições para a aplicação do coeficiente de correlação de Pearson não foram atendidas. Analisando-se a correlação de Spearman ($p < 0,05$; Tabela 5) de forma descritiva e inferencial entre os elementos, verificou-se na população dos peixes analisados que os elementos Li-Mo apresentaram uma correlação negativa de 0,736, sendo a mesma, a maior correlação observada. Além dessa, observou-se nos pares dos elementos Cr-Mo (-0,436), Al-Se (-0,345) e Al-Mo (-0,384), correlações indicando que, quando a concentração de um elemento aumenta, a concentração do outro diminui (DEMÉTRIO, 2002; BOX;COX, 1964). Verificou-se também que os

Tabela 1 – Concentrações médias dos elementos encontrados na Tainha proveniente da BTS em função do mês (2004 - 2005). Média (\pm Desvio padrão). Cd, Ni, Pb, V < LoQ em todos os meses analisados

Mês/ano	Elementos											
	$\mu\text{g g}^{-1}$										mg g^{-1}	
	Li	Mn	Se	Sr	Al	Zn	Cr	Cu	Fe	Mo	Ca	Mg
Março/2004	0,02 ($\pm 0,00$)	<0,001	0,5 ($\pm 0,1$)	1,3 ($\pm 0,2$)	<0,013	<0,01	<0,003	<0,004	17,5 ($\pm 6,0$)	<0,103	3,6 ($\pm 0,7$)	-
Abril/2004	0,01 ($\pm 0,00$)	0,05 ($\pm 0,02$)	0,6 ($\pm 0,2$)	1,7 ($\pm 0,3$)	25,0 ($\pm 6,4$)	3,3 ($\pm 2,6$)	0,3 ($\pm 0,5$)	1,7 ($\pm 0,7$)	22,8 ($\pm 3,0$)	<0,103	0,7 ($\pm 0,1$)	0,71 ($\pm 0,01$)
Maio/2004	0,03 ($\pm 0,00$)	<0,001	0,4 ($\pm 0,2$)	1,9 ($\pm 0,1$)	1,7 ($\pm 0,2$)	2,7 ($\pm 1,1$)	0,3 ($\pm 0,4$)	3,4 ($\pm 1,5$)	39,3 ($\pm 1,3$)	<0,103	0,8 ($\pm 0,1$)	1,08 ($\pm 0,04$)
Junho/2004	0,34 ($\pm 0,01$)	<0,001	0,1 ($\pm 0,1$)	2,9 ($\pm 0,2$)	38,2 ($\pm 0,4$)	3,5 ($\pm 1,4$)	<0,003	6,3 ($\pm 0,2$)	39,5 ($\pm 9,1$)	<0,103	0,6 ($\pm 0,1$)	0,86 ($\pm 0,03$)
Agosto/2004	<0,0002	<0,001	0,2 ($\pm 0,2$)	9,5 ($\pm 0,9$)	15,17 ($\pm 0,95$)	6,7 ($\pm 2,0$)	<0,003	3,4 ($\pm 1,4$)	27,6 ($\pm 3,1$)	0,45 ($\pm 0,01$)	0,8 ($\pm 0,1$)	1,04 ($\pm 0,03$)
Setembro/2004	<0,0002	<0,001	<0,014	6,3 ($\pm 2,7$)	<0,013	8,6 ($\pm 1,0$)	<0,003	9,2 ($\pm 1,7$)	21,2 ($\pm 1,7$)	0,42 ($\pm 0,05$)	0,6 ($\pm 0,1$)	0,70 ($\pm 0,08$)
Novembro/2004	0,02 ($\pm 0,00$)	<0,001	0,6 ($\pm 0,3$)	1,9 ($\pm 0,1$)	7,2 ($\pm 0,4$)	<0,01	<0,003	20,2 ($\pm 1,0$)	26,9 ($\pm 3,3$)	<0,103	0,6 ($\pm 0,1$)	1,00 ($\pm 0,04$)
Dezembro/2004	0,03 ($\pm 0,01$)	<0,001	0,6 ($\pm 0,2$)	9,6 ($\pm 1,4$)	13,04 ($\pm 0,96$)	<0,01	<0,003	3,2 ($\pm 1,4$)	18,9 ($\pm 2,9$)	<0,103	0,9 ($\pm 0,2$)	1,06 ($\pm 0,01$)
Janeiro/2005	0,03 ($\pm 0,00$)	0,6 ($\pm 0,2$)	0,8 ($\pm 0,4$)	8,3 ($\pm 0,2$)	35,6 ($\pm 4,2$)	<0,01	<0,003	159,5 ($\pm 4,4$)	60,0 ($\pm 3,4$)	<0,103	1,2 ($\pm 0,1$)	1,01 ($\pm 0,03$)
Fevereiro/2005	0,02 ($\pm 0,01$)	0,33 ($\pm 0,02$)	0,4 ($\pm 0,2$)	5,4 ($\pm 1,3$)	15,7 ($\pm 1,2$)	<0,01	<0,003	<0,004	30,0 ($\pm 4,0$)	<0,103	1,0 ($\pm 0,2$)	1,02 ($\pm 0,02$)

Tabela 2 – Concentrações médias dos elementos encontrados no Ariacó, proveniente de Porto Seguro (BA) em função do mês (2004 - 2005). Média (\pm Desvio padrão). Cd, Li, Mn, Ni, Pb, V < LoQ em todos os meses analisados

Mês/ano	Elementos										
	$\mu\text{g g}^{-1}$									mg g^{-1}	
	Se	Sr	Al	Zn	Cr	Cu	Fe	Mo	Ca	Mg	
Março/2004	2,1 ($\pm 0,6$)	2,9 ($\pm 0,4$)	7,4 ($\pm 1,7$)	3,2 ($\pm 1,3$)	0,10 ($\pm 0,01$)	0,5 ($\pm 0,0$)	8,4 ($\pm 2,9$)	<0,103	1,0 ($\pm 0,2$)	1,01 ($\pm 0,03$)	
Maio/2004	1,4 ($\pm 0,5$)	1,9 ($\pm 0,6$)	8,7 ($\pm 1,3$)	5,3 ($\pm 2,9$)	<0,003	4,4 ($\pm 1,6$)	4,91 ($\pm 0,05$)	<0,103	0,7 ($\pm 0,1$)	1,16 ($\pm 0,02$)	
Junho/2004	2,3 ($\pm 0,2$)	1,56 ($\pm 0,03$)	7,1 ($\pm 5,0$)	3,8 ($\pm 0,6$)	<0,003	1,1 ($\pm 0,2$)	3,0 ($\pm 0,5$)	0,17 ($\pm 0,06$)	0,59 ($\pm 0,02$)	1,01 ($\pm 0,01$)	
Julho/2004	1,5 ($\pm 0,1$)	1,9 ($\pm 0,3$)	7,9 ($\pm 2,4$)	6,9 ($\pm 0,7$)	<0,003	4,30 ($\pm 0,32$)	6,3 ($\pm 0,5$)	0,12 ($\pm 0,04$)	0,8 ($\pm 0,1$)	1,12 ($\pm 0,02$)	
Agosto/2004	1,5 ($\pm 0,1$)	4,3 ($\pm 2,0$)	<0,013	30,3 ($\pm 3,7$)	0,8 ($\pm 0,1$)	39,6 ($\pm 3,1$)	14,9 ($\pm 4,8$)	0,14 ($\pm 0,02$)	1,3 ($\pm 0,5$)	1,20 ($\pm 0,01$)	
Setembro/2004	1,5 ($\pm 0,4$)	1,4 ($\pm 0,1$)	1,88 ($\pm 0,13$)	1,10 ($\pm 0,07$)	0,1 ($\pm 0,0$)	1,10 ($\pm 0,06$)	<0,023	0,17 ($\pm 0,02$)	0,6 ($\pm 0,2$)	1,13 ($\pm 0,01$)	
Outubro/2004	1,3 ($\pm 0,5$)	3,1 ($\pm 1,1$)	10,1 ($\pm 2,1$)	1,48 ($\pm 0,02$)	0,2 ($\pm 0,0$)	<0,004	8,7 ($\pm 0,6$)	<0,103	1,0 ($\pm 0,3$)	1,17 ($\pm 0,01$)	
Novembro/2004	1,7 ($\pm 0,4$)	1,1 ($\pm 0,1$)	4,9 ($\pm 1,0$)	5,0 ($\pm 2,7$)	0,01 ($\pm 0,00$)	<0,004	4,0 ($\pm 0,1$)	<0,103	0,8 ($\pm 0,1$)	1,34 ($\pm 0,03$)	
Dezembro/2004	1,8 ($\pm 0,2$)	1,6 ($\pm 0,6$)	1,9 ($\pm 1,7$)	2,4 ($\pm 0,7$)	0,30 ($\pm 0,03$)	1,8 ($\pm 0,3$)	3,11 ($\pm 0,15$)	0,13 ($\pm 0,03$)	0,6 ($\pm 0,1$)	1,01 ($\pm 0,05$)	
Janeiro/2005	1,5 ($\pm 0,1$)	4,5 ($\pm 0,3$)	11,3 ($\pm 0,3$)	1,40 ($\pm 0,01$)	0,30 ($\pm 0,03$)	3,5 ($\pm 0,4$)	21,5 ($\pm 2,0$)	<0,103	1,2 ($\pm 0,1$)	1,18 ($\pm 0,01$)	
Fevereiro/2005	1,1 ($\pm 0,2$)	1,6 ($\pm 0,3$)	6,9 ($\pm 1,3$)	1,10 ($\pm 0,06$)	<0,003	1,5 ($\pm 0,3$)	5,22 ($\pm 0,19$)	0,16 ($\pm 0,05$)	0,6 ($\pm 0,1$)	1,20 ($\pm 0,01$)	

elementos mais correlacionados positivamente ($p < 0,05$) são os elementos Ca-Mn (0,715), seguida pelos elementos Ca-Sr (0,681), Mn-Sr (0,606), Mn-Zn (0,569), Ca-Zn (0,556), Fe-Sr (0,542), Fe-Mn (0,517), Cr-Fe (0,475), Sr-Zn (0,459) e Cr-Li (0,433), e outras correlações podem ser observadas em negrito na Tabela 5.

Utilizando-se das técnicas de Análise Multivariadas, mas especificamente Análise de *cluster*, observou-se no Dendrograma da Figura 1 com relação ao agrupamento das variáveis, que Ca e Mn são os

elementos que apresentaram descritivamente maior similaridade. Um novo grupo similar, mais próximo, é formado com o Al e Li. Uma análise de Ca e Mn, enquanto grupo, sugere uma similaridade com o Mg, formando assim um novo grupo que é similar ao Sr. O Se é o último elemento a se unir aos grupos que vão sendo formados, com uma similaridade alta, em torno de 67%. Observou-se então que, mesmo possuindo diferenças, os elementos em relação à absorção no tecido muscular dos peixes, possuem alta similaridade.

Tabela 3 – Concentrações médias dos elementos encontrados na Guaíuba, proveniente de Porto Seguro (BA) em função do mês (2004 - 2005).

Mês/ano	Elementos										
	$\mu\text{g g}^{-1}$									mg g^{-1}	
	Li	Se	Sr	Al	Zn	Cr	Cu	Fe	Mo	Ca	Mg
Junho/2004	<0,0002	1,9 ($\pm 0,3$)	5,1 ($\pm 4,3$)	3,8 ($\pm 0,4$)	6,2 ($\pm 1,3$)	<0,003	1,41 ($\pm 0,07$)	2,15 ($\pm 0,14$)	0,45 ($\pm 0,02$)	1,6 ($\pm 1,2$)	1,18 ($\pm 0,04$)
Julho/2004	0,03 ($\pm 0,01$)	1,7 ($\pm 0,8$)	1,7 ($\pm 0,1$)	5,52 ($\pm 0,33$)	<0,01	<0,003	50,4 ($\pm 14,3$)	14,1 ($\pm 1,8$)	<0,103	0,06 ($\pm 0,01$)	1,21 ($\pm 0,04$)
Agosto/2004	0,02 ($\pm 0,00$)	2,3 ($\pm 0,3$)	1,39 ($\pm 0,03$)	0,31 ($\pm 0,02$)	<0,01	0,4 ($\pm 0,1$)	0,7 ($\pm 0,0$)	<0,023	<0,103	0,09 ($\pm 0,04$)	1,13 ($\pm 0,00$)
Setembro/2004	0,02 ($\pm 0,00$)	1,8 ($\pm 0,8$)	1,18 ($\pm 0,03$)	12,8 ($\pm 4,6$)	6,2 ($\pm 0,5$)	<0,003	1,3 ($\pm 0,0$)	1,00 ($\pm 0,05$)	<0,103	0,37 ($\pm 0,01$)	1,17 ($\pm 0,01$)
Outubro/2004	<0,0002	1,9 ($\pm 0,3$)	1,5 ($\pm 0,1$)	3,3 ($\pm 0,2$)	<0,01	<0,003	3,2 ($\pm 0,2$)	<0,023	<0,103	0,3 ($\pm 0,0$)	1,09 ($\pm 0,00$)
Novembro/2004	<0,0002	<0,014	<0,001	-	2,93 ($\pm 0,02$)	<0,003	3,94 ($\pm 0,22$)	2,98 ($\pm 0,02$)	0,58 ($\pm 0,14$)	0,37 ($\pm 0,01$)	1,00 ($\pm 0,05$)
Janeiro/2005	0,07 ($\pm 0,00$)	2,5 ($\pm 0,3$)	2,8 ($\pm 0,8$)	8,9 ($\pm 2,4$)	1,5 ($\pm 0,7$)	0,1 ($\pm 0,0$)	<0,004	10,9 ($\pm 1,6$)	<0,103	1,0 ($\pm 0,2$)	1,22 ($\pm 0,04$)
Fevereiro/2005	0,02 ($\pm 0,00$)	1,9 ($\pm 0,2$)	1,92 ($\pm 0,04$)	16,5 ($\pm 0,4$)	<0,01	<0,003	6,2 ($\pm 2,6$)	13,8 ($\pm 2,2$)	<0,103	0,42 ($\pm 0,03$)	1,27 ($\pm 0,04$)

Tabela 4 – Concentrações médias dos elementos encontrados na Sardinha, proveniente da BTS, em função do mês (2004 - 2005).

Mês/ano	Elementos											
	$\mu\text{g g}^{-1}$									mg g^{-1}		
	Li	Mn	Se	Sr	Al	Zn	Cr	Cu	Fe	Mo	Ca	Mg
Março/2004	0,05 ($\pm 0,01$)	1,1 ($\pm 0,1$)	1,6 ($\pm 0,4$)	5,3 ($\pm 0,8$)	6,3 ($\pm 0,9$)	9,1 ($\pm 1,5$)	0,7 ($\pm 0,2$)	23,7 ($\pm 3,6$)	29,0 ($\pm 0,6$)	<0,103	-	-
Abril/2004	0,03 ($\pm 0,01$)	1,8 ($\pm 0,3$)	1,3 ($\pm 0,3$)	6,3 ($\pm 0,1$)	19,9 ($\pm 8,5$)	1,8 ($\pm 2,3$)	0,3 ($\pm 0,1$)	<0,004	19,3 ($\pm 4,5$)	<0,103	4,1 ($\pm 0,0$)	1,7 ($\pm 0,1$)
Mai/2004	0,05 ($\pm 0,01$)	0,77 ($\pm 0,01$)	1,6 ($\pm 0,7$)	4,9 ($\pm 0,3$)	14,3 ($\pm 3,2$)	11,7 ($\pm 2,2$)	0,3 ($\pm 0,1$)	16,1 ($\pm 6,2$)	35,0 ($\pm 0,5$)	<0,103	2,5 ($\pm 0,2$)	1,20 ($\pm 0,03$)
Junho/2004	<0,0002	1,7 ($\pm 0,4$)	1,4 ($\pm 0,1$)	6,3 ($\pm 0,8$)	9,0 ($\pm 1,0$)	7,8 ($\pm 0,3$)	<0,003	16,9 ($\pm 1,8$)	13,2 ($\pm 1,5$)	0,60 ($\pm 0,04$)	3,8 ($\pm 0,5$)	1,28 ($\pm 0,04$)
Julho/2004	<0,0002	0,8 ($\pm 0,3$)	1,2 ($\pm 0,7$)	5,8 ($\pm 0,7$)	14,4 ($\pm 3,7$)	18,0 ($\pm 1,2$)	0,04 ($\pm 0,05$)	18,4 ($\pm 2,8$)	27,3 ($\pm 4,1$)	0,43 ($\pm 0,04$)	3,1 ($\pm 0,5$)	1,54 ($\pm 0,04$)
Agosto/2004	<0,0002	0,6 ($\pm 0,4$)	2,2 ($\pm 0,1$)	5,5 ($\pm 0,4$)	<0,013	19,9 ($\pm 5,9$)	0,5 ($\pm 0,1$)	0,4 ($\pm 0,1$)	43,8 ($\pm 6,6$)	0,58 ($\pm 0,01$)	3,3 ($\pm 0,3$)	1,25 ($\pm 0,05$)
Setembro/2004	<0,0002	0,80 ($\pm 0,02$)	1,9 ($\pm 0,2$)	4,7 ($\pm 1,3$)	2,7 ($\pm 0,1$)	12,3 ($\pm 1,6$)	<0,003	2,3 ($\pm 0,1$)	20,2 ($\pm 1,8$)	0,46 ($\pm 0,06$)	3,0 ($\pm 0,6$)	1,33 ($\pm 0,01$)
Outubro/2004	<0,0002	0,7 ($\pm 0,2$)	2,0 ($\pm 0,1$)	5,6 ($\pm 0,9$)	3,1 ($\pm 3,4$)	20,9 ($\pm 8,0$)	<0,003	<0,004	20,4 ($\pm 1,5$)	0,48 ($\pm 0,01$)	3,6 ($\pm 0,2$)	1,05 ($\pm 0,02$)
Novembro/2004	<0,0002	<0,001	1,1 ($\pm 0,2$)	1,9 ($\pm 0,3$)	13,1 ($\pm 8,6$)	14,6 ($\pm 0,2$)	2,7 ($\pm 0,4$)	<0,004	40,0 ($\pm 17,4$)	<0,103	1,2 ($\pm 0,2$)	1,0 ($\pm 0,2$)
Dezembro/2004	0,06 ($\pm 0,01$)	1,5 ($\pm 0,4$)	2,1 ($\pm 0,2$)	6,1 ($\pm 0,8$)	7,3 ($\pm 2,5$)	14,6 ($\pm 0,9$)	0,15 ($\pm 0,02$)	16,8 ($\pm 4,6$)	52,6 ($\pm 10,5$)	<0,103	3,1 ($\pm 0,4$)	1,83 ($\pm 0,06$)
Janeiro/2005	0,04 ($\pm 0,01$)	0,8 ($\pm 0,2$)	1,6 ($\pm 0,3$)	4,5 ($\pm 0,4$)	6,7 ($\pm 2,4$)	<0,01	<0,003	0,4 ($\pm 0,2$)	9,3 ($\pm 0,5$)	<0,103	2,6 ($\pm 0,2$)	1,47 ($\pm 0,01$)
Fevereiro/2005	<0,0002	0,9 ($\pm 0,2$)	1,7 ($\pm 0,8$)	6,0 ($\pm 1,0$)	3,2 ($\pm 0,4$)	20,4 ($\pm 2,2$)	<0,003	3,4 ($\pm 1,4$)	22,8 ($\pm 3,0$)	0,4 ($\pm 0,1$)	3,4 ($\pm 0,6$)	1,2 ($\pm 0,1$)

As Figuras 2 e 3 foram utilizadas para observar o comportamento geral das espécies na acumulação dos elementos. Analisando a projeção dos eixos nos componentes 1 e 2 pode-se notar que os elementos Al e Li apresentam-se muito próximos e que o elemento Selênio é o mais distante desses dois. O gráfico das cargas sugere que Li e Al parecem ter a mesma absorção. Foi observado o comportamento normal da sardinha laje

quanto à concentração dos elementos químicos, no primeiro e quarto quadrantes da Figura 3. Já no segundo quadrante, ariacó e guaiúba parecem ter o mesmo comportamento, o que sinaliza um resultado coerente, pois são espécies da mesma família. A concentração da tainha, representada no terceiro quadrante, no mês de junho, foi muito diferenciada (Figura 3).

Para verificar as pressuposições para execução da ANOVA foram aplicados os testes de Shapiro Wilks (SW), para normalidade, e o de Levene, para homogeneidade da variância. O Mg atendeu as pressuposições para a ANOVA paramétrica nos dados originais e, Al e Li, após a transformação Box-Cox (BOX;COX, 1964). Nos demais elementos foi aplicada a ANOVA não paramétrica (Kruskal-Wallis) sendo que o Cr e o Mo não foram significativos estatisticamente.

Para a análise das comparações múltiplas paramétricas, o procedimento t múltiplo, semelhante ao Tukey foi realizado utilizando o soft estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008).

Observou-se, pelos dados apresentados na Tabela 6, que ao nível de 5%, há diferença significativa para o Al entre os peixes tainha-ariacó sendo que a média da concentração de Al na tainha, provavelmente é maior que no ariacó, e nos demais não há diferença significativa.

Para o Mg, (Tabela 6), observou-se que, ao nível de 5%, houve diferença significativa entre as espécies sardinha laje-ariacó sendo a média do teor de Mg na sardinha laje maior que no peixe ariacó. Há diferença significativa para o Mg entre as espécies tainha – ariacó, tainha - guaiúba e tainha – sardinha laje sendo a média desse elemento na tainha, provavelmente menor com relação à ariacó, guaiúba e sardinha laje.

Segundo os dados apresentados na Tabela 6, observou-se que houve diferença significativa para o Zn entre as espécies sardinha laje-ariacó e tainha- sardinha laje.

Após a comparação das médias para o cobre, foi observado que não houve diferença significativa para este elemento entre as espécies analisadas.

Rejeitando-se a hipótese de igualdade, para os elementos Ca, Fe, Mn, Se e Sr, fez-se necessário à

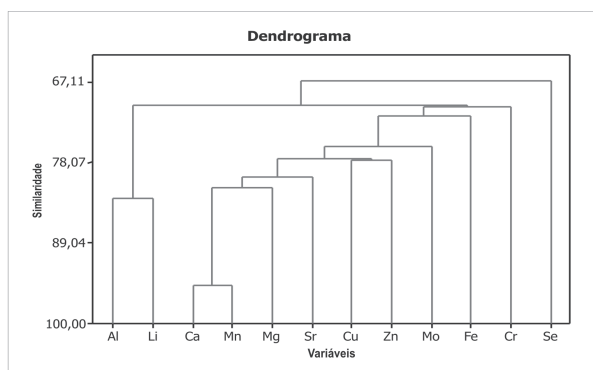


Figura 1 - Dendrograma para agrupamento das variáveis

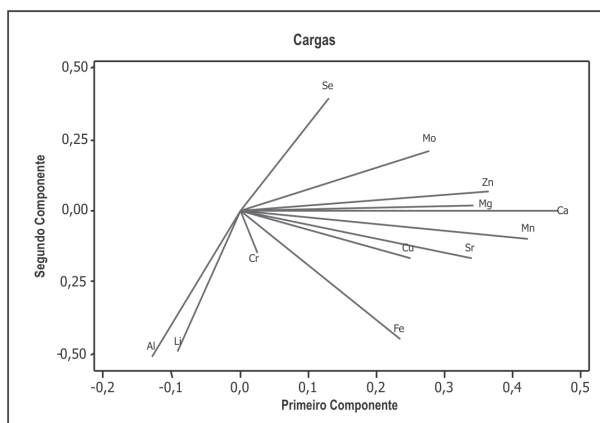


Figura 2 - Gráfico das Cargas

realização de um teste de comparações múltiplas, não paramétrico, sendo utilizado o procedimento “Behrens-Fisher-Test” disponível no software estatístico R

Tabela 5 – Correlação de Spearman para os elementos analisados (p<0,05)

	Al	Ca	Cr	Cu	Fe	Li	Mg	Mn	Mo	Se	Sr	Zn
Al	1	0,019	0,148	0,092	0,238	0,387	-0,143	0,123	-0,384	-0,345	0,228	-0,184
Ca		1	0,017	-0,049	0,391	-0,028	0,428	0,715	0,257	0,144	0,681	0,556
Cr			1	0,199	0,475	0,433	-0,010	0,134	-0,436	0,031	0,146	0,001
Cu				1	0,382	0,211	-0,034	0,222	-0,027	-0,257	0,302	0,244
Fe					1	0,365	-0,068	0,517	-0,110	-0,172	0,542	0,325
Li						1	0,045	0,190	-0,736	-0,019	0,135	-0,266
Mg							1	0,360	0,049	0,486	0,160	0,359
Mn								1	0,177	0,104	0,606	0,569
Mo									1	0,003	0,195	0,404
Se										1	-	0,322
Sr											0,044	0,459
Zn												1

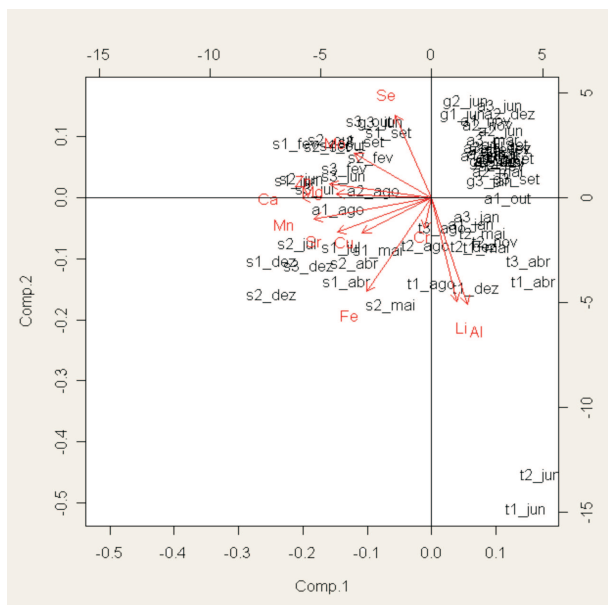


Figura 3 - Gráfico dos Pesos

(MUNZEL; HOTHORN, 2001), para identificar a diferenciação entre as espécies no acúmulo desses elementos, pois, pelo menos uma espécie absorve esses elementos de forma diferenciada.

A avaliação das comparações múltiplas das médias para o elemento Mn não foi efetuada considerando que foram obtidas as médias mensais apenas para os peixes tainha e sardinha laje, enquanto que para os vermelhos (ariacó e guaiúba) não foi possível determinar a concentração do Mn, pois os resultados estavam abaixo do LoQ do método empregado.

Segundo os dados apresentados na Tabela 7, observou-se diferença significativa para o Ca entre as espécies sardinha laje e guaiúba, ariacó e tainha e para o Fe entre as espécies tainha-guaiúba, tainha-ariacó e sardinha laje-ariacó.

Na Tabela 8, para o Se houve diferença significativa entre as espécies tainha-ariacó, sardinha laje-guaiúba e guaiúba-ariacó; e para o Sr entre as espécies sardinha laje-guaiúba e sardinha laje-ariacó.

Houve um esforço no sentido de avaliar peixes do mesmo tamanho, mas eventualmente ocorreram

Tabela 6- Comparação das médias para o Al, Mg e Zn (p < 0,05)

Variáveis	Al		Mg		Zn	
	Diferença	p valor	Diferença	p valor	Diferença	p valor
Guaiúba - Ariacó	0,0869	0,99	0,0200	0,99	0,0066	0,99
Sardinha laje - Ariacó	0,3023	0,76	0,2096	0,02	0,3356	0,00
Tainha - Ariacó	1,0597	0,02	-0,2004	0,05	-0,0928	0,83
Sardinha laje-Guaiúba	0,2153	0,92	0,1895	0,08	0,3290	0,09
Tainha - Guaiúba	0,9728	0,06	-0,2205	0,04	-0,0995	0,90
Tainha - Sardinha laje	0,7574	0,13	-0,4100	0,00	-0,4285	0,00

Tabela 7- Comparações das médias para Ca e Fe (p < 0,05)

Variáveis	Ca			Fe		
	Diferença entre as médias	Limite inferior	Limite superior	Diferença entre as médias	Limite inferior	Limite superior
Guaiúba - Ariacó	-0,2	-0,2755	0,7301	1,1	-0,1467	1,1181
Sardinha laje - Ariacó	2,3	0,9526	1,0307	19,9	0,7728	1,1104
Tainha - Ariacó	0,2	0,0535	0,9646	22,7	0,8536	1,0863
Sardinha laje-Guaiúba	2,5	0,9349	1,0423	18,8	0,4877	1,2027
Tainha - Guaiúba	0,4	0,3133	1,2616	21,6	0,5461	1,2538
Tainha - Sardinha laje	-2,1	-0,1944	0,3581	2,8	0,0942	0,9890

Tabela 8- Comparações das médias para Se e Sr (p < 0,05)

Variáveis	Se			Sr		
	Diferença entre as médias	Limite inferior	Limite superior	Diferença entre as médias	Limite inferior	Limite superior
Guaiúba - Ariacó	0,2	5,712e-01	1,1430e+00	-0,2	-0,0551	0,8505
Sardinha laje - Ariacó	0,1	1,5386e-01	9,3704e-01	3,2	0,8668	1,0724
Tainha - Ariacó	-1,2	-6,7616e-05	6,7616e-05	3,2	0,3856	1,1052
Sardinha laje-Guaiúba	-0,1	-1,1796e-01	5,4653e-01	3,4	0,7977	1,0980
Tainha - Guaiúba	-1,4	-7,5597e-05	7,5597e-05	3,0	0,4875	1,1374
Tainha - Sardinha laje	-1,3	-6,5986e-05	6,5986e-05	-0,4	-0,0299	0,8966

variabilidades de tamanho e peso nas amostras investigadas, o que impediu a detecção de diferenças significativas com relação a essas variáveis que são extremamente importantes devido aos teores nutricionais e acumulativos dos metais apresentados.

CONCLUSÕES

Diferenças estatisticamente significativas foram observadas nas médias das concentrações dos elementos das espécies de peixes investigadas no litoral baiano.

Os elementos Li e Mo, são os que apresentam maior correlação negativa, quando ocorre uma competição interelemento alternando a assimilação e a depuração dos mesmos.

Ca e Mn apresentam descritivamente alto nível de similaridade com relação à absorção e o Se, apresenta com relação aos elementos estudados, similaridade em torno de 67%.

Ariacó e guaiuba, pertencentes à família Lutjanidae, não se diferenciam quando à absorção dos elementos químicos.

Não houve diferenças significativas na absorção do Mg, Zn, Se e Sr entre as espécies sardinha laje e guaiuba.

Os resultados mostraram que não houve riscos para a saúde associados com o consumo destes peixes com respeito aos elementos Cd, Ni, Pb, Mn e V que estiveram sempre abaixo do limite de quantificação do método utilizado (LOQ). No entanto, o selênio estava presente em todas as amostras com valores acima do limite de tolerância máxima (LMT) permitido para alimentos pela ANVISA. O cromo estava presente acima do LMT em 25% das amostras.

AGRADECIMENTO

À FAPESB pelo suporte financeiro e à Profa. Janice Izabel Druzian do Laboratório de Pescado e Cromatografia Aplicada (LAPESCA) da Faculdade de Farmácia-UFBA pela aquisição das amostras de peixes.

REFERÊNCIAS

- AGUSA, T. et al. Exposure assessment for trace elements from consumption of marine fish in Southeast Asia. *Environ. pollut.*, Barking, v. 145, n. 3, p. 766-777, Feb. 2007.
- BERG, J.M. TYMOCZKO, J.L.; STRYER, L. *Bioquímica*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1114 p.
- BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformation. *J. R. Stat. Soc. Ser. B. Methodol.*, London, v. 26, n. 2, p. 211-243, 1964.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n.12 de 27 de agosto de 1998. Aprova o regulamento técnico: princípios

gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos e seu anexo. Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil Poder executivo*, Brasília, DF, 28 ago. 1998. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/e-legis/>. Acesso em: 25 maio. 2008.

CANLI, M.; KALAY, M.; AY, Ö. Metal (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe, Cr, Ni) Concentrations in Tissues of a Fish *Sardina pilchardus* and a Prawn *Peaenu japonicus* from Three Stations on the Mediterranean Sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, New York, v. 67, n. 1, p. 75-82, 2001.

CANLI, Mustafa; ATLI, Gülüzar. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. pollut.*, Barking, v. 121, n. 1, p. 129-136, 2003.

COGUN, H. Y. et al. Metal concentrations in fish species from the northeast mediterranean sea. *Environ. Monit. Assess.*, Dordrecht, v. 121, n. 1-3, p. 431-438, June. 2006.

DEMÉTRIO, C. G. B. *Modelos Lineares Generalizados em Experimentação Agronômica*. Piracicaba, SP: ESALQ/USP, 2002. p.121.

DURAL, M.; GÖKSU, M.Z.L.; OZAK, A.A. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food. Chem.*, Barking, v.102, n. 1, p. 415-421, 2007.

GHAEDI, M. et al. The determination of some heavy metals in food samples by flameatomic absorption spectrometry after their separation-preconcentration on bis salicyl aldehyde, 1,3 propan diimine (BSPDI) loaded on activated carbon. *J. Hazard. Mater.*, Amsterdam, v. 154, n. 1-3, p. 128-134, Oct. 2008.

IKEM, A; EGIEBOR, N. O. Assessment of trace elements in canned shes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama. *Journal of food composition and Analysis.*, London, v. 18, p. 771-78, 2005.

MANSOUR, Sameeh A.; SIDKY, Mahmoud Mohamed. Ecotoxicological Studies. 3. Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. *Food. Chem.*, Barking, v. 78, n. 1, p. 15-22, Jul. 2002.

MCGEER, J. C. et al. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout 2: tissue specific metal accumulation. *Aquat. Toxicol.*, Amsterdam, v. 50, n. 3, p. 245-256, Sept. 2000.

MELO, M. H. de A. *Preparo de amostras de peixes para a determinação de metais*. 2002. 80f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2002.

MUNZEL, Ullrich; HOTHORN, Ludwig A. A unified approach to Simultaneous Rank Test Procedures in the Unbalanced One-way Layout" written by Ullrich Munzel and Ludwig Hothorn. *Biom. J.*, Weinheim, v. 43, n. 5, p. 553-569, Sept. 2001.

PYLE, G. G.; RAJOTTEB, J. W.; COUTURE, P. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, New York, v. 61, n. 3, p. 287-312, July. 2005.

R: REGULATORY Compliance and Validation Issues : a guidance document for the use of R in regulated clinical trial environments .Vienna, The R Foundation For Statistical Computing, 2008. Disponível em:< <http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 11 dez. 2011.

TÜRKMEN, M. et al. Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas. *Food chem.*, Barking. v.113, n. 1, p. 233-237, Mar. 2009.

TUZEN, M. Toxic and essential trace elemental contents in fish species from the Black Sea, Turkey. *Food Chem. Toxicol.*, Oxford, v. 47, n. 8, p.1785-1790, May 2009.

UYSAL, K. et al. The comparation of heavy metal accumulation ratios of some fish species in Enne Dame lake (Kütahya/Turkey). *Environ. Monit. Assess.*, Dordrecht, v.157, n. 1-4, p.355-362, Oct. 2009.