

Artigo

Biomonitoramento de Elementos Metálicos em Peixes de Água Doce da Região Amazônica

Serrão, C. R. G.;* Pontes, A. N.; Dantas, K. G. F.; Filho, H. A. D.; Pereira Júnior, J. B.; Nunes, P. O.; Carvalho, F. I. M.; Palheta, D. C.

Rev. Virtual Quim., 2014, 6 (6), 1661-1676. Data de publicação na Web: 2 de novembro de 2014

<http://www.uff.br/rvq>

Biomonitoring Metallic Elements in Freshwater Fish of Amazon

Abstract: The monitoring of aquatic environments through bioindicators use has been the object of study in several recent works, mainly due to concern over the harmful effects of metallic element levels may cause to aquatic organisms, moreover, and to the risks related with the human consumption of contaminated food. It was measured contents of Cr, Fe and Zn in fish's muscles and gills of seven species of the Amazon region, collected in Piraíba's river situated in Icoaraci district, Belém – Pará. For quantification of Cr it was used a graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) and for quantification for Fe and Zn was used flame atomic absorption spectrometry (FAAS) equipment. The method's validation was developed through of the method of adding and recovery. The contents of Cr obtained were ($< 0.19 - 4.93 \mu\text{g g}^{-1}$) in muscles, for gills ($0.20 - 206.50 \mu\text{g g}^{-1}$), for Fe element in the muscle ($< 8.00 - 27.00 \mu\text{g g}^{-1}$), in gills ($< 8.00 - 2130.33 \mu\text{g g}^{-1}$), for Zn were obtained ($8.93 - 42.39 \mu\text{g g}^{-1}$) and in gills ($31.30 - 282.36 \mu\text{g g}^{-1}$). In the data analysis it was calculated the tolerable weekly ingestion index for the three mineral components; for that, it was applied Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA). The results obtained for Cr exceeded limits established by Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA) for human consumption both in muscles and gills. The Zn contents did not exceed values established for muscles and exceed for gills and for Fe the high concentrations were obtained in gills.

Keywords: Metallic elements; fish; bioindicators.

Resumo

O monitoramento de ambientes aquáticos por meio do uso de bioindicadores tem sido objeto de estudo em vários trabalhos recentes, principalmente, devido à preocupação com os efeitos prejudiciais que os níveis de elementos metálicos podem apresentar para os organismos aquáticos e também por criar riscos relacionados ao consumo humano de alimentos contaminados. Foram quantificados os teores de Cr, Fe e Zn em músculos e brânquias de peixes de sete espécies da região amazônica, coletados no rio Piraíba localizado no distrito de Icoaraci, Belém – Pará. Para a quantificação do elemento metálico Cr foi usada a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite e para a determinação de Fe e Zn foi utilizada a espectrometria de absorção atômica com chama. A validação do método foi realizada através do método de adição e recuperação. Os teores de Cr obtidos foram ($< 0.19 - 4.93 \mu\text{g g}^{-1}$) em músculo, para brânquias ($0.20 - 206.50 \mu\text{g g}^{-1}$), para o elemento Fe no músculo ($< 8.00 - 27.00 \mu\text{g g}^{-1}$), em brânquias ($< 8.00 - 2130.33 \mu\text{g g}^{-1}$), para Zn foram obtidos em músculo ($8.93 - 42.39 \mu\text{g g}^{-1}$) e em brânquias ($31.30 - 282.36 \mu\text{g g}^{-1}$). Na análise dos dados foi calculado o índice de ingestão semanal tolerável para os três componentes minerais, foi aplicada análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA). Os resultados obtidos para Cr excederam os limites estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para consumo humano tanto em músculo quanto em brânquias. Os teores de Zn não ultrapassaram os valores estabelecidos para músculo e excederam para brânquias e para o Fe foram obtidas altas concentrações nas brânquias.

Palavras-chave: Elementos metálicos; peixes; bioindicadores.

* Universidade do Estado do Pará, Centro de Ciências Naturais e Tecnologia, Travessa Enéas Pinheiro, 2626, CEP 66095-100, Belém-PA, Brasil.

✉ caioserrao@yahoo.com.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20140107](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20140107)

Biomonitoramento de Elementos Metálicos em Peixes de Água Doce da Região Amazônica

Caio Renan Goes Serrão,^{a,*} Altem N. Pontes,^a Kelly das Graças F. Dantas,^b Heronides Adonias Dantas Filho,^b João B. Pereira Júnior,^b Patrícia O. Nunes,^b Fábio Israel M. Carvalho,^b Dulcidéia da Conceição Palheta^c

^a Universidade do Estado do Pará, Centro de Ciências Naturais e Tecnologia, Travessa Enéas Pinheiro, 2626, CEP 66095-100, Belém-PA, Brasil.

^b Universidade Federal do Pará, Faculdade de Química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Rua Augusto Corrêa, 01, CEP 66075-110, Belém-PA, Brasil.

^c Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto de Saúde e Produção Animal, Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501, CEP 66077-830, Belém-PA, Brasil.

* caioserrao@yahoo.com.br

Recebido em 9 de julho de 2014. Aceito para publicação em 2 de novembro de 2014

1. Introdução

2. Material e Métodos

- 2.1.** Área de Estudo
- 2.2.** Equipamentos
- 2.3.** Reagentes e Soluções
- 2.4.** Amostras
- 2.5.** Procedimentos Analíticos
- 2.6.** Tratamento Estatístico dos Dados

3. Resultados

- 3.1.** Determinação Média de Cr, Fe e Zn em Tecidos de Peixes
- 3.2.** Cálculo de Estimativa de Ingestão Semanal
- 3.3.** Estudo Quimiométrico

4. Discussão

5. Conclusão

1. Introdução

A cidade de Belém, no Estado do Pará, está situada sobre a península sedimentar do

estuário Guajarinó e vem sofrendo um crescimento populacional bastante acelerado nos últimos anos, passando de 900.000 habitantes na década de 1980 para cerca de 1,4 milhões em 2010.¹

Este grande crescimento populacional tem acarretado uma série de problemas, dentre eles destaca-se a produção de elevada carga de efluentes domésticos, lançados diretamente no sistema hidrográfico através de cerca de 30 km de canais naturais, formados por rios, baías, igarapés e furos. Estes corpos hídricos desagüam no Rio Guamá e na Baía do Guajará que constituem os principais recursos hídricos receptores da carga de poluentes produzidos pelas atividades industriais e pelo lançamento de efluentes domésticos sem tratamento.²

O Furo do Maguari faz parte do estuário Guajarinó e contempla um importante ecossistema situado às proximidades da área urbana da cidade de Belém e está sujeito ao acúmulo de vários tipos de resíduos industriais. Apresenta intenso tráfego de embarcações e recebe descargas de vários cursos secundários (igarapés, rios, canais), dentre eles o Rio Piraíba.³ As principais indústrias instaladas na região são as alimentícias, siderúrgicas, metalúrgicas, químicas, madeireiras e de beneficiamento de couro que geram resíduos líquidos e sólidos através de seus processos industriais.

As águas residuárias provenientes de indústrias de processamento de couro e de madeireiras vêm sendo lançadas indiscriminadamente nos recursos hídricos, ocasionando problemas de contaminação de mananciais, eutrofização de corpos d'água, mortalidade de peixes e o comprometimento de atividades econômicas ligadas aos setores de turismo e pesca, em decorrência principalmente da permanência de contaminantes na água.⁴

Os peixes apresentam um forte potencial para bioacumular elevados níveis de elementos metálicos a partir do ambiente.⁵

O monitoramento de ambientes aquáticos por meio do uso de bioindicadores tem sido objeto de estudo em vários trabalhos recentes, principalmente, devido à

preocupação com os efeitos prejudiciais que os altos níveis desses elementos podem representar para os organismos aquáticos e também por criar riscos relacionados ao consumo humano de alimentos contaminados.⁶

Segundo Joyeux *et al.* (2004),⁷ os riscos à saúde associados à ingestão de pescado contaminado chegam a ser de 20 a 40 vezes mais elevados do que o resultado da ingestão de água contaminada, pois os organismos aquáticos são capazes de acumular elementos metálicos em até 105 vezes as concentrações desses elementos no ambiente.

Os bioindicadores permitem a identificação de possíveis interações que podem ocorrer entre os constituintes minerais sejam eles tóxicos ou essenciais, e os organismos vivos, além de favorecerem a previsão de efeitos de bioacumulação, permitindo que sejam colocadas em prática ações de remediação e prevenção.⁸

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo analisar o potencial bioindicador de sete espécies de peixes amazônicos e mensurar a extensão da contaminação ambiental causada por influência de um polo industrial localizado na cidade de Belém, capital do Estado do Pará.

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo

O Rio Piraíba está localizado no distrito administrativo de Icoaraci (DAICO) sob as coordenadas 01° 17' 22,2 S e 048° 26' 19,8 W. Este rio faz parte da região metropolitana de Belém-PA (RMB), distante cerca de 20 km do centro da cidade e o DAICO possui uma área de 204,11 ha (Figura 1).

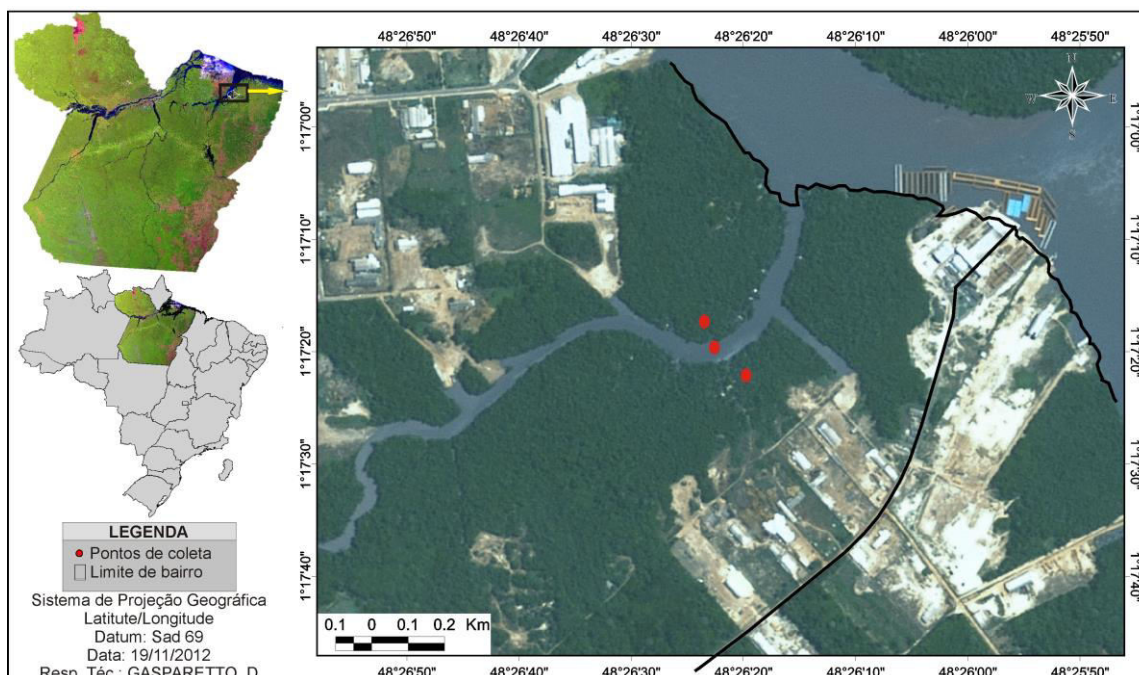


Figura 1. Mapa da localização da área de estudo

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o DAICO apresenta uma população de aproximadamente 170.000 habitantes.¹ O Piraíba faz parte do estuário Guajarino, localizado a noroeste da cidade de Belém-PA, integra a confluência Amazonas-Atlântico e é composto por baías, rios, igarapés, canais, furos e ilhas no entorno da capital.⁹

A RMB apresenta um clima quente e úmido e pluviosidade elevada com precipitação média anual de 2500 a 3000 mm, segundo dados do Instituto Nacional de Meteorologia.¹⁰ Geomorfologicamente, a área apresenta um relevo plano, relativamente uniforme e com pouquíssimas oscilações altimétricas. A vegetação ciliar encontra-se parcialmente preservada e a principal espécie encontrada é o açazeiro (*Euterpe oleracea*), fonte de renda para as comunidades locais. As principais atividades econômicas são o extrativismo vegetal, principalmente frutos de açaí, palmito, exploração madeireira e pesca.

As principais espécies de peixes encontrados em regiões estuarinas são a pescada branca (*Plagioscion*

squamosissimus), bacu (*Lithodoras dorsalis*), piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*), tralhoto (*Anableps anableps*), filhote (*Brachyplatystoma filamentosum*), mandubé (*Ageneiosus* sp.), mapará (*Hypophthalmus marginatus*) e a sardinha (*Anchoa spinifer*).¹¹

A área apresenta um sensível ecossistema impactado pelo lançamento indiscriminado de resíduos de empresas como madeireiras, cervejarias, estaleiros, indústrias alimentícias e, principalmente, por indústrias de beneficiamento de couro.¹²

2.2. Equipamentos

Um liofilizador modelo L 101 (Liotop, São Carlos, SP, Brasil) foi utilizado para a liofilização das amostras.

Um forno de microondas com cavidade Start E (Milestone, Sorisole, Itália) foi utilizado no processo de digestão das amostras.

Um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (Varian, AA240Z), equipado com

amostrador automático, com corretor de fundo por efeito Zeeman transversal, tubo de grafite com aquecimento longitudinal (HGA Varian) e sistema de aquisição de dados em plataforma Windows foi usado na determinação de cromo. Gás argônio (99,999%) foi usado em todas as etapas do programa de aquecimento do forno de grafite, exceto na etapa de atomização.

Ferro e zinco foram determinados usando um espectrômetro de absorção atômica com atomização em chama da marca Thermo Ice 3300 (Reino Unido, Cambridge). A mistura de ar/acetileno foi utilizada como gás oxidante e combustível, respectivamente.

2.3. Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Todas as diluições foram realizadas utilizando água deionizada. As soluções de referência de Cr, Fe e Zn foram preparadas a partir da solução estoque de 1000 mg L⁻¹ Cr, Fe e Zn (SPECSOL, Sigma, São Paulo, Brasil). O ácido nítrico (HNO₃) (Quimex, São Paulo, Brasil) sub-destilado e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (Impex, Brasil) foram usados na digestão das amostras.

2.4. Amostras

As amostras de pescado foram coletadas por membros da comunidade que residem no entorno do rio e no período de cheia (montante). Para a coleta foram utilizadas redes de pesca de náilon. Os peixes coletados foram colocados em sacos de polietileno, identificados por seus nomes populares e armazenados em caixa térmica sob refrigeração.

As amostras foram transportadas até o Laboratório de Toxicologia Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia

(UFRA), onde foram medidas, pesadas e dissecadas. As porções de músculo e brânquias foram separadas e transferidas para serem congeladas em um freezer.

No total, foram coletados 24 exemplares de peixes de sete espécies diferentes. As espécies foram *Plagioscion squamosissimus* (pescada branca – 10 exemplares), *Lithodoras dorsalis* (bacu – 02 exemplares), *Geophagus proximus* (acaratinga – 03 exemplares), *Curimata inornata* (branquinha – 02 exemplares), *Anchoa spinifer* (sardinha – 02 exemplares), *Cathorops agassizii* (uricica – 03 exemplares) e *Brachyplatystoma vaillantii* (piramutaba – 02 exemplares). As identificações taxonômicas (Tabela 1) foram desenvolvidas no Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), onde foram utilizados parâmetros chave de identificação e o apoio de manuais.¹³

2.5. Procedimentos analíticos

Digestão das amostras

As amostras de músculo e brânquias foram liofilizadas e pulverizadas no Laboratório do Grupo de Espectrometria Analítica Aplicada da Faculdade de Química da Universidade Federal do Pará (UFPA). Uma massa de aproximadamente 0,2 g de músculo ou 0,05 g de brânquias dos peixes pulverizados foi pesada no frasco de digestão ($n = 3$) a estas foram adicionados 4 mL de HNO₃ (3,5 mol/L) e 4 mL de H₂O₂ (30% m/m). O programa de digestão para as amostras usando forno de micro-ondas com cavidade está apresentado na Tabela 2.

Após a digestão, os frascos com os digeridos foram retirados do forno de micro-ondas, transferidos para os frascos volumétricos e diluídos com água desionizada para 14 mL. A acidez final do digerido foi de 15,8%.

Tabela 1. Identificação taxonômica, biometria e hábitos alimentares das amostras de peixes estudadas

Amostra	Nome Científico	Massa (g)	Comp. (cm)	Hábito alimentar
P1	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	153	29	Piscívoro
P2	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	221,5	41	Piscívoro
A1	<i>Geophagus proximus</i>	109,7	17	Onívoro
A2	<i>Geophagus proximus</i>	84,6	16,5	Onívoro
A3	<i>Geophagus proximus</i>	70,5	15	Onívoro
PB1	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	111,5	21,5	Carnívoro
PB2	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	32,6	13,5	Carnívoro
PB3	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	57,9	15	Carnívoro
PB4	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	35,7	13,5	Carnívoro
PB5	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	23,5	11	Carnívoro
PB6	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	95	21	Carnívoro
PB7	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	90	20,5	Carnívoro
PB8	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	69	16,5	Carnívoro
PB9	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	150	23,5	Carnívoro
PB10	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	44,9	16	Carnívoro
BC1	<i>Lithodoras dorsalis</i>	296,5	30	Herbívoro
BC2	<i>Lithodoras dorsalis</i>	171	23,5	Herbívoro
U1	<i>Cathorops agassizii</i>	24,6	14	Onívoro
U2	<i>Cathorops agassizii</i>	35,2	14,5	Onívoro
U3	<i>Cathorops agassizii</i>	26,8	15	Onívoro
S1	<i>Anchoa spinifer</i>	49,5	18	Carnívoro
S2	<i>Anchoa spinifer</i>	35,8	16	Carnívoro
BQ1	<i>Curimata inornata</i>	62,4	14,5	Detritívoro
BQ2	<i>Curimata inornata</i>	50,9	15	Detritívoro

Piramutabas: P; Acaratingas: A; Pescadas Brancas: PB; Bacus: BC; Uricicas: UC; Sardinhas: S; Branquinhas: BQ

Tabela 2. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas com cavidade

Etapas	Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
1	10,0	800	200
2	15,0	800	200
3	50,0*	0	Ambiente

*Ventilação

Análise elementar

A determinação de cromo foi realizada através de espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em

forno de grafite (GFAAS). Os digeridos ($n = 3$) foram diluídos para se obter uma acidez final de 0,3% (v/v).

Ferro e zinco foram determinados nos digeridos por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS). A

acidez final dos digeridos foi de 5% (v/v). As curvas analíticas foram construídas com as seguintes concentrações de 3,0 a 12,0 µg/L para o elemento cromo, de 2,0 a 10,0 mg/L

para ferro e de 0,5 a 1,5 mg/L para o elemento zinco. A Tabela 3 apresenta os parâmetros para a determinação de cromo, ferro e zinco.

Tabela 3. Parâmetros instrumentais para determinação de ferro e zinco por FAAS e cromo por GFAAS

Parâmetros	Cr	Fe	Zn
Resolução espectral (nm)	0,2	0,2	0,2
Corrente da lâmpada (mA)	6	6	5
Comprimento de onda (nm)	357,9	248,3	213,9
Coeficiente de correlação	0,9986	0,9968	0,9995

A exatidão do método proposto foi avaliada usando o método de adição e recuperação. Aos digeridos foram adicionados 5, 7 e 9 µg/L de Cr, 1, 2 e 3 mg/L de Zn e 3, 5 e 7 mg/L de Fe. Os dados dos

testes de adição e recuperação estão abaixo representados nas tabelas 4, 5 e 6.

O programa de aquecimento do tubo de grafite para determinação de Cr por GF AAS está apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Programa de aquecimento do forno de grafite. Volume da amostra introduzido de 20 µL

Etapas	Temperatura (°C)	Tempo (s) Rampa	Tempo (s) Patamar	Vazão de gás (L/min)	Leitura
Secagem 1	95	5	10	3,0	Não
Secagem 2	120	15	20	3,0	Não
Pirólise	1200	5	5	3,0	Não
Atomização*	2600	0,7	2	0	Sim
Limpeza	2700	1	2	3,0	Não

*(obtenção do sinal analítico)

Parâmetros de desempenho analítico na determinação de Cr, Fe e Zn

Os limites de detecção (LOD) foram calculados seguindo a relação $3 \times s/b$ (s = estimativa do desvio padrão do branco analítico e b = coeficiente angular da curva analítica).¹⁴ Foi obtido o limite de detecção de 0,19 µg g⁻¹ para o metal cromo, 0,97 µg g⁻¹

para o zinco e de 8 µg g⁻¹ para o ferro.

As concentrações características para Cr, Fe e Zn foram 0,19 µg/L, 0,07 mg/L e 0,01 mg/L, respectivamente. A massa característica para Cr foi 4,87 pg.

As recuperações obtidas para Cr, Fe e Zn foram de 95 a 101%, 100 a 110% e 101 a 109%, respectivamente, conforme tabelas 5.

Tabela 5. Resultados do teste de adição e recuperação para os elementos cromo, ferro e zinco nas amostras de peixes. ^a Unidade de concentração: $\mu\text{g/L}$; ^b Unidade de concentração: mg/L

Elemento	Amostras	Concentrações	Resultados	Recuperação (%)
Cr ^a	P27M1-P29M1-P20M1	5,0 - 7,0 - 9,0	4,78 - 7,07 - 8,66	95,20 - 101,00 - 95,12
Fe ^b	P25B2- P12B2- P22M2	3,0 - 5,0 - 7,0	3,34 - 5,12 - 7,53	110,35 - 100,14 - 107,58
Zn ^b	P15B2- P14B1- P10B2	0,75 - 1,0 - 1,5	0,87 - 1,15 - 1,34	103,24 - 109,27 - 101,24

2.6. Tratamento estatístico dos dados

Na interpretação dos dados obtidos a partir das análises nos peixes, as variáveis foram divididas em massa da amostra, comprimento dos peixes e as concentrações de cromo, ferro e zinco em músculos e brânquias, totalizando oito variáveis. O autoescalonamento e a normalização foram aplicados aos dados para que todas as variáveis pudessem exercer influências de igual importância nos resultados e os tornar adimensionais. Para a extração de informação dos dados multivariados foi utilizado o *software Statistica 8.0* (Statsoft, USA).

A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) foi utilizada com o objetivo de verificar as semelhanças entre as amostras. Com base nos teores de íons metálicos determinados nos tecidos dos peixes, foi observada a similaridade a partir da distância Euclidiana entre as amostras. O resultado da HCA foi representado na forma de um gráfico bidimensional chamado dendrograma. Para a obtenção dos dados multivariados foi

utilizado o *software Statistica 8.0* (Statsoft, USA).

3. Resultados

3.1. Determinação média de Cr, Fe e Zn em tecidos de peixes

A Tabela 6 apresenta as concentrações médias de Cr, Fe e Zn em brânquias e músculos de peixe e os seus respectivos desvios padrão.

Em relação ao cromo, foi verificado que todas as amostras estudadas apresentaram os teores acima do limite permitido pela legislação brasileira ($0,10 \mu\text{g g}^{-1} \text{Cr}$). Os níveis de zinco encontrados nos músculos de peixes estudados estão dentro do limite estabelecido por lei ($50 \mu\text{g g}^{-1} \text{Zn}$). Por outro lado, as brânquias apresentaram concentrações de zinco acima do estabelecido. Para o ferro, não foram encontrados valores de referência estabelecidos para o Brasil.

Tabela 6. Concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) de Cr, Fe e Zn em músculo e brânquias de peixes e seus respectivos desvios padrão

Amostras**	Cr – Músculo	Cr – Brânquias	Fe – Músculo	Fe – Brânquias	Zn – Músculo	Zn – Brânquias
P1	1,25 ± 0,01	3,27 ± 0,09	<8,00*	94,71 ± 0,95	10,95 ± 0,14	59,51 ± 0,62
P2	1,66 ± 0,28	3,45 ± 0,73	<8,00*	<8,00*	9,97 ± 0,17	61,94 ± 1,35
A1	0,74 ± 0,32	2,11 ± 0,11	<8,00*	341,40 ± 31,33	21,00 ± 0,49	54,28 ± 0,35
A2	2,08 ± 0,48	0,20 ± 0,09	<8,00*	<8,00*	19,47 ± 1,75	49,74 ± 1,53
A3	3,53 ± 0,51	2,51 ± 0,20	<8,00*	232,32 ± 19,68	32,55 ± 0,77	74,45 ± 2,59
PB1	<0,19*	8,39 ± 0,74	<8,00*	50,00 ± 8,84	8,93 ± 0,15	65,49 ± 1,17
PB2	0,76 ± 0,03	0,91 ± 0,01	<8,00*	25,18 ± 9,11	18,94 ± 0,16	63,97 ± 1,15
PB3	2,24 ± 0,95	7,32 ± 0,25	<8,00*	237,32 ± 19,68	20,34 ± 0,09	63,28 ± 0,01
PB4	0,70 ± 0,18	2,57 ± 0,91	<8,00*	441,85 ± 13,11	20,40 ± 0,09	57,59 ± 0,75
PB5	1,30 ± 0,35	100,19 ± 1,68	27,00 ± 0,91	2088,72 ± 8,22	14,96 ± 0,85	47,68 ± 1,30
PB6	0,30 ± 0,01	6,61 ± 0,84	<8,00*	65,36 ± 1,64	11,03 ± 0,01	77,32 ± 1,73
PB7	0,32 ± 0,03	17,41 ± 1,25	<8,00*	235,17 ± 3,12	11,70 ± 0,52	77,27 ± 2,11
PB8	0,60 ± 0,05	57,43 ± 1,37	<8,00*	457,35 ± 25,68	9,24 ± 0,25	83,55 ± 5,27
PB9	0,32 ± 0,03	206,50 ± 1,53	<8,00*	2130,33 ± 43,06	11,45 ± 0,28	91,54 ± 0,51
PB10	4,93 ± 0,82	1,32 ± 0,27	19,38 ± 5,54	470,35 ± 1,48	28,34 ± 0,04	65,90 ± 0,39
BC1	1,10 ± 0,18	4,62 ± 0,18	<8,00*	394,46 ± 2,63	15,54 ± 0,54	33,25 ± 0,37
BC2	2,06 ± 0,05	0,39 ± 0,17	12,57 ± 1,58	163,69 ± 8,95	21,40 ± 0,40	54,90 ± 0,36
U1	1,02 ± 0,06	2,68 ± 0,75	<8,00*	163,60 ± 2,91	31,40 ± 4,08	282,36 ± 0,31
U2	0,71 ± 0,14	12,37 ± 0,61	<8,00*	256,96 ± 3,83	24,77 ± 0,23	97,04 ± 5,44
U3	1,00 ± 0,25	0,20 ± 0,01	<8,00*	78,18 ± 10,34	42,34 ± 1,07	213,92 ± 0,71
S1	1,01 ± 0,03	2,53 ± 1,08	<8,00*	43,88 ± 7,22	26,54 ± 1,61	95,03 ± 20,80
S2	1,12 ± 0,09	11,06 ± 0,23	<8,00*	108,74 ± 1,19	30,48 ± 0,25	105,08 ± 4,60
BQ1	1,56 ± 0,13	8,44 ± 0,45	13,55 ± 0,62	295,00 ± 0,66	18,16 ± 0,23	31,30 ± 3,23
BQ2	0,93 ± 0,06	2,87 ± 0,19	<8,00*	107,79 ± 0,57	21,23 ± 0,88	36,80 ± 3,01

*LOD: Limite de detecção; ** Piramutabas: P, acaratingas: A, pescada branca: PB, bacus: BC, uricicas: U, sardinhas: S, branquinhas: BQ

3.2. Cálculo da estimativa de ingestão semanal

Com o objetivo de analisar o risco que a acumulação de componentes minerais pode causar à saúde humana, foram estimados os valores de ingestão tolerável semanal provisória PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake), estabelecidos pelo comitê de aditivos em alimentos JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives).¹⁵ Esses parâmetros representam a quantidade do elemento presente no alimento e/ou água que pode ser ingerida diariamente ao longo da vida sem que ocorram efeitos adversos à saúde.¹⁶ O valor padronizado foi calculado

multiplicando-se a média de concentração dos elementos metálicos nas espécies de peixes analisadas com o consumo médio de 50 g num período de sete dias. O valor obtido foi dividido pela massa corpórea média de um indivíduo adulto (60 kg) e comparado com as concentrações médias de acumulação semanal estabelecidas pela FAO, conforme Tabela 7.

Na Tabela 7 pode ser observado que o componente mineral que mais chegou próximo ao valor estabelecido de PTWI foi o Cr na espécie *Plagioscion squasissimus* (pescada branca) com 53,31%, ou seja, as estimativas para Cr, Fe e Zn não excederam os valores de referência para a PTWI

Tabela 7. Teores médios de Cr, Fe e Zn, estimativa de ingestão semanal e porcentagem do PTWI para o consumo de 50 g de peixe

Espécie	[Cr] ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^a	[Fe] ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^b	[Zn] ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^c	Cr – PTWI ($\mu\text{g/kg}$ peso corpóreo) ^d	Fe – PTWI ($\mu\text{g/kg}$ peso corpóreo) ^d	Zn – PTWI ($\mu\text{g/kg}$ peso corpóreo) ^d	%PTWI Cr	%PTWI Fe	%PTWI Zn
Piramutaba	1,45	*	10,46	8,46	*	61,01	36,31	*	6,10
Acaratinga	1,88	*	24,34	10,97	*	141,98	47,08	*	4,71
Pescada Branca	2,09	4,64	15,53	12,19	27,06	90,59	53,31	3,38	9,06
Bacu	1,58	6,28	18,47	9,22	36,63	107,74	39,57	4,58	10,77
Uricica	0,91	*	29,33	5,30	*	171,09	22,74	*	17,11
Sardinha	1,06	*	28,51	6,18	*	166,30	26,52	*	16,63
Branquinha	1,24	6,77	19,70	7,23	39,49	114,91	31,03	4,93	11,50

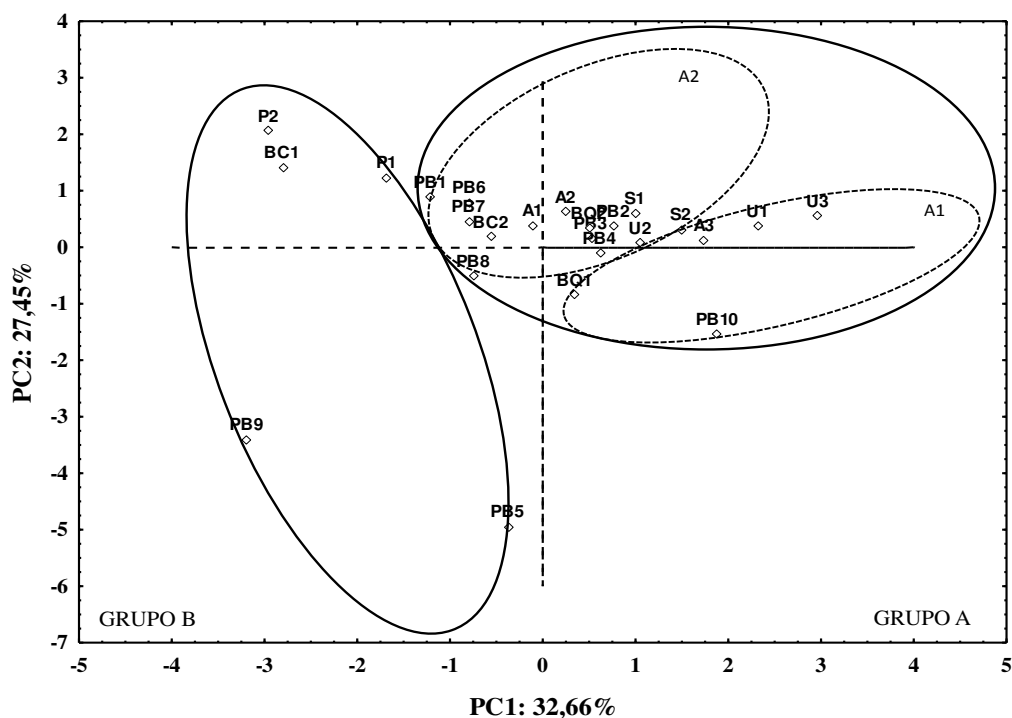
^aConcentração média de Cr, ^bConcentração média de Fe, ^cConcentração média de Zn, ^dPesos adultos: 60 kg. PTWI para Cr = 23,3 $\mu\text{g/kg}$, Fe = 800 $\mu\text{g/kg}$ e Zn = 300 – 1000 $\mu\text{g/kg}$.

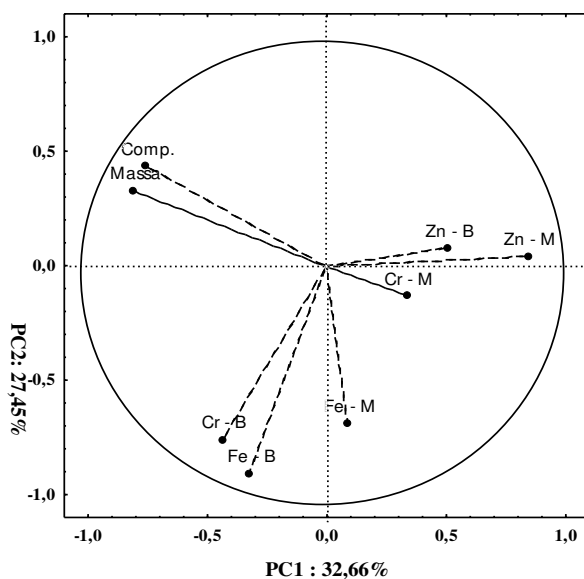
* (Não detectado)

3.3. Estudo Quimiométrico

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada aos resultados obtidos a partir da quantificação dos elementos metálicos em tecidos de peixes de diferentes espécies. Para tanto, utilizou-se uma matriz 24 x 8 (24

amostras de peixes e 8 variáveis). Foram escolhidas as primeiras componentes (PC1 e PC2), pois representam a combinação linear de maior variância e explicam mais de 60% da variação dos dados. A Figura 2 ilustra as similaridades entre as amostras (*Scores*) [Figura 2a] e a similaridade entre as variáveis (*Loadings*) [Figura 2b].





(2b)

Figura 2. Gráficos dos *scores* (2a) e *loadings* (2b), PC1 x PC2, das variáveis determinadas e amostras de tecidos de peixes analisadas (Zinco na matriz brânquias: Zn – B, zinco na matriz músculo: Zn – M, ferro na matriz brânquias: Fe – B, ferro na matriz músculo: Fe – M, cromo na matriz brânquias: Cr – B, cromo na matriz músculo: Cr – M). (Acarátinga: A1, A2, A3; Bacu: BC1, BC2; Branquinha: BQ1, BQ2; Pescada Branca: PB1, PB2, PB3, PB4, PB5, PB6, PB7, PB8, PB9, PB10; Piramutaba: P1, P2; Sardinha: S1, S2; Uricica: U1, U2, U3)

Além disso, para a confirmação das tendências observadas na PCA, foi aplicada a HCA que demonstra a separação dos grupos utilizando como base a máxima dissimilaridade com distância euclidiana normalizada.

A análise dos *scores* PC1 x PC2 (Figura 2) mostra a separação das amostras em 2 grupos distintos (A e B). Esta separação ocorreu pela influência das variáveis estudadas, as quais estão apresentadas nos *loadings* (Figura 2b). Na Figura 2a observa-se que as amostras U1, U3, A3, contidas no grupo A estão situadas positivamente na PC1 por apresentarem correlações altamente positivas com as variáveis Zn – M e Zn – B, devido apresentarem os maiores teores nos tecidos, como também encontrado por Anan et al. (2005).¹⁷

Vale destacar que a amostra PB10, integrante do grupo A, posicionada positivamente na PC1 apresenta correlações

positivas com as variáveis Zn – B, Zn – M e Cr – M. Contudo, está fortemente associada ao Cr – M, o que pode ser confirmado com os valores médios de teores do elemento. A amostra BQ1, também localizada positivamente na PC1, mostrou correlações positivas com a variável Cr – M.

Além disso, as amostras PB10 e BQ1 apresentaram um dos valores mais baixos de comprimento, o que confirma a baixa correlação com esta variável.

As amostras A2, U2, PB2, PB3, PB4, S1, S2 e BQ2 são integrantes do grupo A e estão localizadas positivamente na PC1 por apresentarem correlações com as variáveis Zn – M, Zn – B.

Entre as amostras estudadas, destacam-se também A1, PB1, PB6, PB7 e BC2 que estão situadas positivamente na PC2, integram o grupo A e apresentam forte correlação com as variáveis massa e comprimento. Porém, a

amostra PB8, contida no mesmo grupo apresentou forte correlação com as variáveis Fe – B e Cr – B o que pode ser comprovado através dos valores das variáveis destacados na Tabela 6.

As amostras P1, P2, BC1, contidas no grupo B estão situadas positivamente na PC2 e apresentam alta correlação com as variáveis massa e comprimento, conforme mostra a Figura 2b. Isto pode ser confirmado na Tabela 1, pois estas amostras apresentaram os maiores valores de massa e comprimento.

A amostra PB9, contida no grupo B e posicionada negativamente na PC2 da Figura

2a, apresentou correlação positiva com as variáveis Cr – B e Fe – B como pode ser observado na Figura 2b. Enquanto que PB5 apresentou correlação altamente positiva com as variáveis Fe – M, Fe – B e Cr – B, porém uma maior correlação com Fe – M, o que pode ser confirmado ao compararmos os teores deste elemento na PB5, devido apresentar teor de Fe – M acima do limite de detecção (8 µg/g).

As tendências de correlações observadas por meio das PCs foram confirmadas a partir do dendrograma obtido pela análise hierárquica de agrupamentos (HCA) (Figura 3).

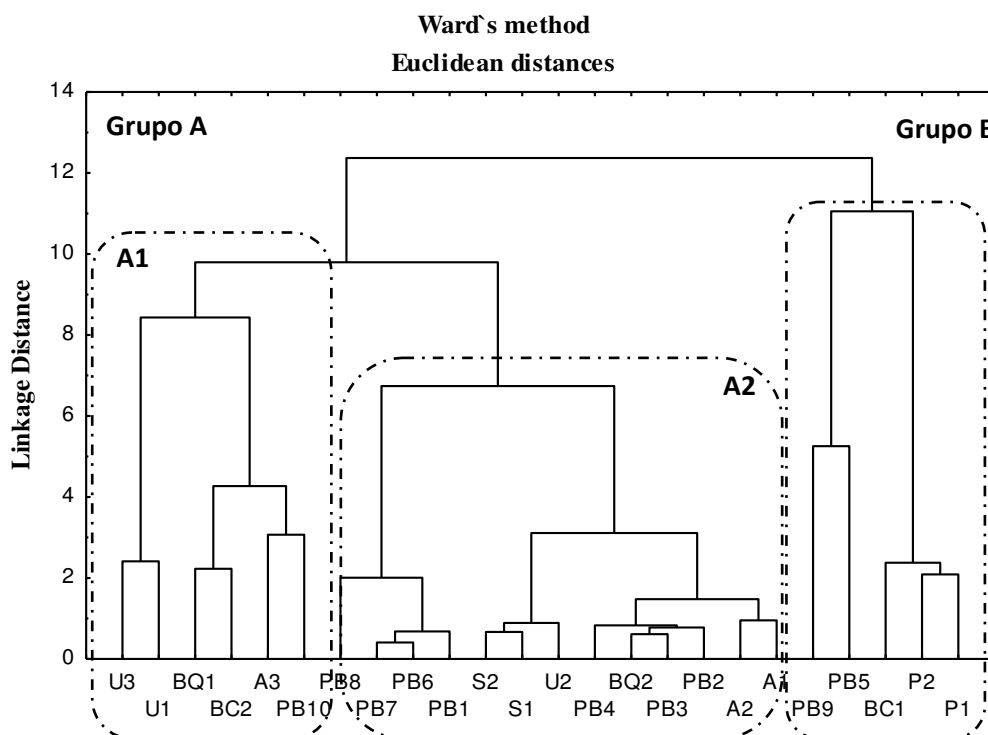


Figura 3. Dendrograma da análise hierárquica de agrupamentos das 24 amostras de peixes estudadas (Acarátinga: A1, A2, A3; Bacu: BC1, BC2; Branquinha: BQ1, BQ2; Pescada Branca: PB1, PB2, PB3, PB4, PB5, PB6, PB7, PB8, PB9, PB10; Piramutaba: P1, P2; Sardinha: S1, S2; Uricica: U1, U2, U3)

A partir da análise do dendrograma, é possível observar a formação de dois grandes grupos (A e B), sendo que o grupo A apresentou dois subgrupos, devido às diferenças encontradas na composição de elementos metálicos em diferentes espécies

e partes das amostras de pescado e à diferença de massa e comprimento dos peixes, sendo adotado um nível de corte igual a 9.

4. Discussão

Os resultados obtidos para todos os elementos estudados mostraram que as brânquias apresentaram uma acumulação maior em comparação à musculatura dos peixes, como também observado por Demirak *et al.* (2006) e Dural *et al.* (2007).^{18,19} Para confirmar esta suposição, foi desenvolvido um teste t para amostras independentes. Para o elemento cromo, obteve-se $P < 0,05$, para o elemento ferro obteve-se $P < 0,001$ e para o elemento zinco $P < 0,0001$, confirmando que houve diferenças significativas na acumulação de elementos metálicos em músculo e brânquias.

Em geral, os metais são encontrados em maior quantidade em tecidos como brânquias, vísceras, fígado e rins, como também observado por Palaniappan *et al.* (2009) e Türkmen *et al.* (2008).^{20,21} Estes órgãos têm, relativamente, um maior potencial de acumulação metálica, portanto, em alguns casos, elevadas concentrações de íons metálicos em musculatura de peixes são detectadas quando há contaminação elevada em órgãos acumuladores, evidenciando a presença de contaminantes em ambientes aquáticos.²² Além disso, a determinação de elementos metálicos nestes tecidos pode apresentar resultados da exposição mais recente dos peixes aos constituintes minerais, sendo eles tóxicos ou essenciais.²³

A bioacumulação de elementos metálicos em peixes representa um risco à saúde dos indivíduos que os consomem e apresenta uma resposta ambiental do que tem sido lançado de efluentes nos corpos hídricos.

No Brasil, os limites máximos permitidos por lei para alimentos são regulamentados por meio do Decreto Lei 55.871-65. Esses limites foram atualizados e alguns mantidos pelo Mercosul (Resoluções GMC 102-94, 103/94 e 35/96) e pelo Ministério da Saúde através da Portaria 685-980.²⁴

Em relação às estimativas de acumulação metálica evidenciadas no cálculo do PTWI, foi

observado que o elemento que mais se acumularia por meio do consumo de pescado seria o cromo na espécie 'pescada branca'.

O cromo pode existir sob diferentes formas de oxidação, sua atividade biológica, ou seja, seu efeito como elemento metálico essencial à vida se restringe à espécie química trivalente que está relacionada à regulação dos níveis de açúcares no organismo.²⁵ O $\text{Cr}_{(III)}$, potencializa os efeitos da insulina e, desse modo altera metabolismo de carboidratos, lipídios e aminoácidos, porém o $\text{Cr}_{(VI)}$ é altamente tóxico, cancerígeno e causa inúmeras complicações respiratórias.^{26,27}

Alguns fatores devem ser levados em consideração quando tratamos de estimativas de acumulação metálica em peixes, dentre elas, se destacam os fatores ecológicos, o estado da espécie e hábitos alimentares. Para Jones *et al.* (2000),²⁸ peixes carnívoros tendem a acumular maiores teores de elementos metálicos que herbívoros e onívoros, o que justifica o fato da espécie 'pescada branca' ter apresentado um maior valor no cálculo de estimativa de acumulação metálica.

De acordo com Liao *et al.* (2003),⁸ a acumulação de elementos metálicos em peixes de diferentes espécies depende de alguns fatores como tamanho, comprimento, e metabolismo de absorção dos componentes minerais o que explica as diferentes relações de acumulação dos componentes minerais nas espécies estudadas.

Em geral, peixes com menores comprimentos conseguem bioacumular uma maior quantidade de metais por conta da velocidade de sequestro e eliminação desses elementos, como observado na amostra PB5 que apresentou o menor comprimento e maior bioacumulação em número de elementos metálicos, conforme visualizado na tabela de identificação taxonômica, biometria e hábitos alimentares dos peixes (Tabela 1) e tabela de concentrações médias em $\mu\text{g g}^{-1}$ de Cr, Fe e Zn em músculo e brânquias de peixes (Tabela 6).²⁹ A ordem de

bioacumulação de elementos metálicos em função da espécie 'piramutaba' foi $Zn > Cr > Fe$, para a espécie 'acaratinga' $Zn > Cr > Fe$, para 'pescada Branca' $Zn > Fe > Cr$, em 'bacus' $Zn > Fe > Cr$, em 'uricicas' a ordem observada foi $Zn > Cr > Fe$, em 'sardinhas' a ordem foi $Zn > Cr > Fe$ e em branquinhas $Zn > Fe > Cr$.

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 6) e as correlações notadas nas PCs, percebe-se uma maior diversidade de elementos metálicos nos peixes carnívoros como é o caso da 'pescada branca', em peixes detritívoros, como a 'branquinha' e em herbívoros como o 'bacú'. Em relação aos peixes carnívoros, este comportamento confirma seu potencial de acumulação por biomagnificação trófica.³⁰ Em relação a peixes detritívoros a diversidade de elementos metálicos acumulados em diferentes partes se deve, principalmente, ao hábito da espécie de estar em contato constante com substrato de fundo.³¹ Já em relação a herbívoros se dá, principalmente, pelo fato da espécie explorar tanto o fundo quanto a superfície, ocasionando um contato maior tanto com o substrato de fundo quanto com material vegetal (frutos, sementes e capins aquáticos) localizado em áreas superficiais.³¹

5. Conclusão

O estudo fornece informações sobre a bioacumulação de elementos metálicos em sete espécies de peixe de água doce da região amazônica que apresentam potencial bioacumulativo e que podem servir de biomonitores da poluição de recursos hídricos por indústrias. Ao comparar o potencial de bioacumulação dos tecidos estudados constatou-se que as brânquias apresentaram um maior potencial para serem empregadas no monitoramento da poluição das águas conforme evidenciado na Tabela 6 e também observado por Palaniappan *et al.* (2009) e Türkmen *et al.*

(2008).^{20,21} Em relação ao PTWI, a espécie Pescada Branca foi a que mais contribuiu para alcançar os valores de ingestão tolerável semanal de cromo para o consumo de peixe. Os teores de cromo nos peixes excederam os valores estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para consumo, o que sugere uma provável contaminação do rio por resíduos de indústrias de beneficiamento de couro, pois o cromo é utilizado em sua cadeia produtiva. Além disso, o tratamento dos efluentes industriais gera um resíduo sólido que é denominado de lodo e contém cromo em altas concentrações.²⁷ Estes efluentes não recebem a destinação adequada e o alto custo do armazenamento dos resíduos gerados induz a comportamentos inadequados, como o descarte em locais impróprios como rios e furos.

As informações obtidas a partir da aplicação dos métodos multivariados às amostras de pescado permitiram a visualização de alta correlação entre as variáveis massa e comprimento, bem como $Zn - M$ e $Zn - B$ e $Cr - B$ e $Fe - B$. Para os peixes estudados, os elementos metálicos se bioacumularam em maior quantidade nos exemplares de menor comprimento. A análise de componentes principais a partir da combinação da PC1 X PC2 separou as amostras em 2 grupos distintos e as variáveis que mais influenciaram na separação dos grupos foram massa e comprimento, $Cr - B$, $Fe - B$ e $Zn - M$ e $Zn - B$. As informações obtidas pela combinação das PCs foram confirmadas através da aplicação da HCA.

Referências Bibliográficas

¹ Sítio do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.belem.pa.gov.br/app/ANUARIO_2010/2_01_Demografiax.pdf>. Acesso em: 1 setembro 2014.

² Nascimento, S. F.; Kurzweil, H.; Wruss, W.; Fenzl, N. Cadmium in the Amazonian Guajará Estuary: Distribution and remobilization.

- Environmental Pollution* **2006**, *140*, 29. [CrossRef] [PubMed]
- ³ Moura, E. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Pará, 2007. [Link]
- ⁴ Viana, A. P.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Pará, 2006. [Link]
- ⁵ Lins, J. A. P. N.; Kirschnik, P. G.; Queiroz, V. S.; Cirio, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais* **2010**, *8*, 469. [Link]
- ⁶ Goulart, M. D. C.; Callisto, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM* **2003**, *2*, 1. [Link]
- ⁷ Joyeux, J. C.; Filho, E. A. C.; Jesus, H. C. Trace Metal Contamination in Estuarine Fishes from Vitória Bay, ES, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **2004**, *47*, 765. [CrossRef]
- ⁸ Liao, C. M.; Chen, B. C.; Singh, S.; Lin, M. C.; Liu, C. W.; Han, B. C. Acute toxicity and bioaccumulation of arsenic in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) from a Blackfoot disease area in Taiwan. *Environmental Toxicology* **2003**, *18*, 252. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹ IDESP. Belém: estudo ambiental do Estuário Guajarinó. Belém. *Relatórios de Pesquisa* **1999**, n. 17.
- ¹⁰ Sítio do Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em: 1 setembro 2014.
- ¹¹ Camargo, M.; Isaac, V. Os peixes estuarinos da região norte do Brasil: Lista de espécies e considerações sobre sua distribuição geográfica. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi* **2001**, *17*, 133. [Link]
- ¹² Nunes, L. P. M.; Luiz, J. G. Caracterização geoeletrica de área de curtume localizada no distrito industrial de Icoaraci, Belém-Pará. *Revista Brasileira de Geofísica* **2006**, *24*, 467. [CrossRef]
- ¹³ Santos, G. M.; Ferreira, E. J. G.; Zuanon, J. A. S. *Peixes comerciais de Manaus*. Manaus 1 ed. Ibama, Manaus, 2006.
- ¹⁴ Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental*, 5a. ed., Bookman: São Paulo, 2002.
- ¹⁵ Sítio da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO). Disponível em: <<http://apps.who.int/ipsc/database/evaluations/search.aspx?fcc=2>>. Acesso em: 1 setembro 2014.
- ¹⁶ Jardim, A. N.; Caldas, E. D. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para a saúde. *Química Nova* **2009**, *32*, 1898. [CrossRef]
- ¹⁷ Anan, Y.; Kunito, T.; Tanabe, S.; Mitrofanov, I.; Aubrey, D. G. Trace element accumulation in fishes collected from coastal waters of the Caspian Sea. *Marine Pollution Bulletin* **2005**, *51*, 882. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁸ Demirak, A.; Yilmaz, F.; Tuna, A. L.; Ozdemir, N. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere* **2006**, *63*, 1451. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁹ Dural, M.; Göksu, L.; Özak, A. A. **2007**. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food Chemistry*, 102: 415. [CrossRef]
- ²⁰ Palaniappan, P. L.; Karthikeyan, S. Bioaccumulation and depuration of chromium in the selected organs and whole body tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* individually and binary solutions with nickel. *Journal of Environmental Sciences* **2009**, *21*, 229. [CrossRef]
- ²¹ Türkmen, M.; Türkmen, A.; Tepe, Y. Metal contaminations in five fish species from Black, Marmara, Aegean and Mediterranean seas, Turkey. *Journal of Chilean Chemical Society* **2008**, *53*, 1435. [CrossRef]
- ²² Deb, S. C.; Fukushima, T. Metals in aquatic ecosystems: Mechanism of uptake, accumulation and release. *International Journal of Environmental Studies* **1999**, *56*, 385. [CrossRef]
- ²³ Junior, R. G. S. L.; Araújo, F. G.; Maia, M. F.; Pinto, A. S. S. B. Evaluation of Heavy Metals in fish of the Sepetiba and Ilha Grande Bays, Rio

- de Janeiro, Brazil. *Environmental Research Section* **2002**, *89*, 171. [CrossRef]
- ²⁴ Sítio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm>. Acesso em: Setembro 2014.
- ²⁵ Gomes, M. R.; Rogero, M. M.; Tirapegui, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* **2005**, *11*, 262. [CrossRef]
- ²⁶ Langrard, S. One hundred years of chromium and cancer: A review of epidemiological evidence and selected case reports. *American Journal of Industrial Medicine* **2007**, *17*, 189. [CrossRef]
- ²⁷ Jordão, C. P.; Silva, A. C.; Pereira, J. L.; Brune, W. Contaminação por cromo de águas de rios provenientes de curtumes em Minas Gerais. *Química Nova* **1999**, *22*, 47. [CrossRef]
- ²⁸ Jones, G. B.; Mercurio, P.; Olivier, F. Zinc in Fish, Crabs, Oysters and mangrove flora and fauna from Cleveland Bay. *Marine Pollution Bulletin* **2000**, *41*, 345. [CrossRef]
- ²⁹ Repula, C. M. M.; Campos, B. K. ; Ganzarolli, E. M. ; Lopes, M. C.; Quináia, S. P. Biomonitoramento de Cr e Pb em peixes de água doce. *Química Nova* **2012**, *35*, 905. [CrossRef]
- ³⁰ Campebell, L. M., Balirwa, J. S., Dixon, D. G., Hecky, R. E. Biomagnification of mercury in fish from Thruston bay, Napoleon Gulf, Lake Victoria (East Africa). *African Journal of Aquatic Science* **2004**, *29*, 91. [CrossRef]
- ³¹ Teles, L. T.; Zara, L. F.; Furlanetto, U. L. R.; Junior, N. J. Elementos traço em peixes de interesse comercial do Rio Caiapó (Goiás-Brasil) em área sob impacto ambiental. *Estudos* **2008**, *35*, 1055. [Link]