

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DOS ALIMENTOS**

**BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM PESCADOS  
*IN NATURA* DO LITORAL DO RIO GRANDE DO SUL,  
BRASIL**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Giane Magrini Pigatto**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

**BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM PESCADOS  
*IN NATURA* DO LITORAL DO RIO GRANDE DO SUL,  
BRASIL**

**Giane Magrini Pigatto**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ijoni Hilda Costabeber**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos  
Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM PESCADOS  
*IN NATURA* DO LITORAL DO RIO GRANDE DO SUL,  
BRASIL**

elaborada por  
**Giane Magrini Pigatto**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**Comissão Examinadora:**

**Claudia Kaehler Sautter, Dr<sup>a</sup>**  
(Presidente)

**Ijoni Hilda Costabeber, Dr<sup>a</sup> (UFMS)**

**Luisa Helena Rychecki Hecktheuer, Dr<sup>a</sup> (UFMS)**

**Paula Rossini Augusti, Dr<sup>a</sup> (UFRGS)**

Santa Maria, 05 de agosto de 2013.

## AGRADECIMENTOS

À prof<sup>a</sup> Ijoni Hilda Costabeber, pelo acolhimento em seu grupo de pesquisas, pela orientação e experiências compartilhadas, contribuindo nessa etapa da minha formação profissional. Além disso, pela confiança a mim depositada e amizade. Meu respeito e gratidão.

À banca examinadora dessa dissertação, pela receptividade ao nosso convite, pela compreensão e, desde já, um agradecimento por todas as contribuições.

Ao PPG em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da UFSM, em especial aos seus docentes, pela contribuição em minha formação profissional e, especialmente, às professoras Luisa H. Hecktheuer, Neide Penna, Tatiana Emanuelli e à técnica administrativa Lia Cidade, pelo auxílio e apoio a mim dispensados sempre que solicitadas. Também especialmente ao prof. Renius Mello, pela disponibilidade em auxiliar “estatisticamente” na fase de planejamento da coleta das amostras.

Aos super fantásticos amigos, Vanusa Granella, Thiago Schwanz e Susana Mohr, por toda a colaboração, por dedicarem seu tempo, compartilharem seus conhecimentos e experiências, os quais foram indispensáveis para a integralização desse trabalho. À Vanusa, obrigada especialmente pela parceria de fé e amizade consolidada no dia a dia do laboratório durante a execução de nossas pesquisas.

À Giane D’Avila Coelho, minha xará, querida colega e amiga desde o início da graduação em veterinária, que foi companhia divertidíssima nas “pescarias” realizadas (entenda-se aqui como sinônimo para as viagens ao litoral do RS, Tramandaí e Rio Grande, para coleta das amostras).

Ao apoio das amigas surgidas no LAPP, nas pessoas da Joseane Mozzaquatro, Juliana Ceolin, Bárbara Reichert e, em especial, à Cristiane Ventrini, pelo auxílio durante nossa convivência na rotina do laboratório, no período das nossas análises dos contaminantes nos peixes e nos leites.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado concedida.

Ao NAPO (Núcleo de Análises de Pesticidas Orgânicos), pelo suporte prestado nas análises cromatográficas.

À prof<sup>a</sup> Leila Picolli, pela disponibilização da estrutura do laboratório, no setor de piscicultura, e as suas orientadas Caroline Speroni e Patrícia Mombach, pelo auxílio na determinação dos teores de gordura nas amostras dos pescados desse trabalho.

À turma de Mestrado de 2011 do PPGCTA, minhas saudosas e eternas lembranças do agradável período de nossa convivência.

À Deus, onipotente e onipresente em toda essa caminhada....e ao meu Santo Expedito...sempre de plantão!!!

*“É difícil explicar como surgem as ideias.  
Às vezes, por reação a uma simples palavra: impossível.  
É de fato incrível a capacidade do ser humano em não acreditar.  
O mais religioso dos animais terrestres é o menos crente,  
o que mais facilidade encontra para não mudar.  
Opor-se, inventar obstáculos intransponíveis e fronteiras que, no fundo,  
têm a mesma importância que um risco de giz no chão.  
[...]  
A maior condenação a que estamos sujeitos no futuro será por omissão,  
pois meios para se fazer muitas coisas lindas e impossíveis existem.”*

Amyr Klink

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### **BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM PESCADOS IN NATURA DO LITORAL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

AUTORA: GIANE MAGRINI PIGATTO

ORIENTADORA: IJONI HILDA COSTABEBER

Local e Data de Defesa: Santa Maria, 05 de agosto de 2013.

Bifenilos policlorados (PCBs) são compostos químicos de origem industrial, tóxicos, não biodegradáveis, lipofílicos, e que foram produzidos a partir da década de 30 até os anos 70, quando foram proibidos. No Brasil, PCBs estão presentes, por exemplo, em transformadores e capacitores elétricos instalados até 1981, quando a comercialização e utilização desses compostos foram proibidas no país. Porém, manteve-se a permissão de utilização desses equipamentos contendo PCBs e instalados até o início dos anos 80, até que ocorra a substituição integral dos mesmos ou a troca de seus respectivos fluidos dielétricos por produtos isentos de PCBs. Atualmente, PCBs são classificados como poluentes orgânicos persistentes (POPs), pois poluem e se acumulam no meio ambiente, influenciando todos os organismos da cadeia alimentar. A principal forma de contaminação humana é a ingestão de alimentos contaminados, principalmente alimentos de origem animal. Dentre esses, os pescados constituem-se no principal meio de veiculação de congêneres de PCBs até o organismo humano. A preocupação acerca dos PCBs está centrada no seu potencial toxicológico, principalmente como indutores de câncer. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi investigar a possível contaminação, por resíduos de 11 congêneres individuais de PCBs, em pescados marinhos *in natura* do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A metodologia empregada para análise de PCBs nos pescados incluiu a coleta de amostras do litoral do RS, a extração e purificação desses compostos com a utilização de sílica gel acidificada, solventes e, finalmente, a identificação e quantificação dos mesmos utilizando-se cromatografia gasosa acoplada a um micro detector de captura de elétrons (GC- $\mu$ ECD). Os resultados obtidos foram confirmados por cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massas (GC-MS). Os PCBs investigados não foram encontrados em todas as amostras analisadas. Os PCBs 28 e 52 não foram detectados. O PCB 153 foi encontrado em 98,33% das amostras analisadas, seguido pelos PCBs 138 e 180 encontrados em 95% das amostras, pelo PCB 118 encontrado em 93,33% das amostras, pelo PCB 101 encontrado em 60% das amostras, pelo PCB 77 e PCB 81, encontrados em 33,33% e 31, 67% das amostras, respectivamente. Os PCBs 126 e 169 foram encontrados com menores frequências, 18,33% e 15%, respectivamente. Os congêneres individuais encontrados em maiores concentrações médias foram o PCB 153 (184,36 ng/g de gordura), seguido pelo PCB 138 (159,27 ng/g de gordura), PCB 118 (98,16 ng/g de gordura), PCB 180 (69,04 ng/g de gordura), PCB 101 (32,99 ng/g de gordura) e PCB 77 (12,95 ng/g de gordura). Os PCBs 81, 126 e 169 foram encontrados nas menores concentrações (4,97 ng/g, 4,49 ng/g e 2,08 ng/g de gordura, respectivamente). Os resultados obtidos confirmam a contaminação por PCBs de todas as espécies marinhas de consumo analisadas e podem ser utilizados como indicativos da contaminação ambiental, por esses compostos, no litoral do RS.

**Palavras-chave:** Bifenilos Policlorados. Poluentes Orgânicos Persistentes. Pescados Marinhos. GC-MS. Contaminação. PCB 153.

## **ABSTRACT**

Master Dissertation  
Graduate Program on Food Science and Technology  
Federal University of Santa Maria

### **POLYCHLORINATED BIPHENYLS (PCBs) IN FISH IN NATURA FROM THE COAST OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL**

AUTHOR: GIANE MAGRINI PIGATTO  
ADVISER: IJONI HILDA COSTABEBER

Place and Date of Defense: Santa Maria, August 5, 2013.

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are toxic, non-biodegradable, and lipophilic chemical compounds of industrial origin. In Brazil, PCBs are still used in old electrical transformers and capacitors which were installed up to 1981 when their use and commercialization were banned. However, the permission to use devices with PCBs installed up to the early 80s was maintained up to the moment that their dielectric fluids or the entire device be fully replaced for products free of PCBs. Currently, PCBs are classified as persistent organic pollutants (POPs) because they pollute and accumulate in the environment affecting all organisms in the food chain. The main form of human intake is the ingestion of contaminated food, especially food of animal origin. Fish are the main means of transmission of PCB congeners to the human body. The concern about PCBs is centered on their toxicological potential, especially as inducers of cancer. Thus, the aim of this study was to investigate the possible contamination by residues of 11 individual PCB congeners in fresh marine fish from the state of Rio Grande do Sul (RS), Brazil. The methodology for the analysis of PCBs in fish included sampling on the coast of RS, the extraction and purification of these compounds by the use of acidified silica gel and solvents, as well as their identification and quantification using gas chromatography coupled to a micro electron capture detector (GC -  $\mu$ ECD). Results were confirmed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC - MS). PCBs investigated were not found in all samples. PCBs 28 and 52 were not detected. PCBs 153, 138, 180, 118, 101, 77, and 81 were found in 98.33 %, 95%, 93.33%, 60%, 33.33 %, and 31.67 % of the samples, respectively. PCBs 126 and 169 were found at lower frequencies, 18.33% and 15%, respectively. The individual congeners found in higher mean concentrations were PCB 153 (184.36 ng/g fat), followed by PCB 138 (159.27 ng/g fat), PCB 118 (98.16 ng/g fat), PCB 180 (69.04 ng/g fat), PCB 101 (32.99 ng/g fat), and PCB 77 (12.95 ng/g fat). PCBs 81, 126 and 169 were found in lower concentrations (4.97 ng/g, 4.49 ng/g and 2.08 ng/g fat, respectively). Results confirm the contamination by PCBs of all marine species of consumption analyzed and can be used as indicators of environmental contamination by these compounds in the coast of RS.

Keywords: Polychlorinated Biphenyls. Persistent Organic Pollutants. Marine fish. GC - MS. Contamination. PCB 153.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sistema de identificação dos congêneres de PCBs.....19

Tabela 2 - Nomes comerciais dos PCBs em diferentes países.....20

### **Manuscrito**

Tabela 1 – Informações sobre as amostras coletadas.....51

Tabela 2 – Frequência de determinação e concentração de PCBs.....52

Tabela 3 - Concentrações de PCBs em ng/g de gordura de pescados dos litorais norte e sul do estado do Rio Grande do Sul.....53

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura molecular dos PCBs.....	18
Figura 2 – Produção de pescado (t) nacional da pesca extrativa marinha em 2009 e 2010 discriminada por Unidade da Federação.....	32

### **Manuscrito**

Figura 1 - Disposição dos locais de amostragem. As amostras de pescados foram obtidas no litoral norte e litoral sul do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.....	47
Figura 2 - Concentrações de PCBs (média e desvio-padrão) em ng/g de gordura de pescados dos litorais norte e sul do estado do RS.....	48
Figura 3 (A) - Concentrações de PCBs somente em tainhas, anchovas e bagres do litoral norte (LN) do RS.....	49
Figura 3 (B) – Concentrações de PCBs em somente tainhas, anchovas e bagres do Litoral Sul (LS) do RS.....	50

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA - Análise de Variância

DL-PCB - dioxin-like PCBs

ECD - Detector de captura de elétrons (Electron capture detector)

GC-MS - Cromatógrafo Gasoso acoplado à Espectrometria de Massas (Gas Chromatography-mass spectrometry)

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

LD - Limite de Detecção

LQ - Limite de Quantificação

NDL-PCB - non-dioxin like PCBs

PCBs - Bifenilos policlorados (polychlorinated biphenyls)

POPs – Poluentes Orgânicos Persistentes

UNEP - United States Environment Programme

WHO - World Health Organization

## LISTA DE APÊNDICES

Apêndice - Parâmetros utilizados por GC/MS para confirmação dos resultados obtidos na análise dos PCBs.....	62
---	----

## **LISTA DE ANEXOS**

Anexo – Food and Chemical Toxicology: Guide for Authors.....	63
--	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>17</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1 Bifenilos Policlorados (PCBs)</b> .....	<b>18</b>
3.1.1 Caracterização.....	18
3.1.2 Contaminação da cadeia alimentar.....	21
3.1.3 Aspectos toxicológicos.....	23
<b>3.2 Pescados</b> .....	<b>27</b>
3.2.1 Caracterização.....	27
3.2.2 Importância e produção no Brasil e no Rio Grande do Sul.....	30
3.2.3 Contaminação por PCBs em pescados.....	32
<b>4 ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	<b>36</b>
<b>4.1 Manuscrito – Bifenilos Policlorados (PCBs) em pescados marinhos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil</b> .....	<b>36</b>
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>56</b>
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>62</b>
<b>ANEXO</b> .....	<b>63</b>

# 1 INTRODUÇÃO

No âmbito da qualidade de alimentos, a obtenção de alimentos isentos de contaminação por substâncias químicas tóxicas constitui-se em uma preocupação mundial cada vez maior, tanto por parte das instituições de pesquisa, bem como dentre os produtores e consumidores em geral. Além disso, pode ser apontada como uma meta de qualidade e sanidade a ser atingida, para proporcionar maiores garantias em termos de segurança alimentar, saúde e qualidade de vida.

A partir do ano de 2001, com a realização da chamada Convenção de Estocolmo, os PCBs, os quais são compostos químicos de caráter tóxico, passaram a ser classificados como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs). Essa classificação foi instituída com objetivo de proteger a saúde humana e o meio ambiente de vários outros compostos químicos que, assim como os PCBs, permanecem intactos por longos períodos, estão amplamente distribuídos geograficamente, acumulam-se nos tecidos lipídicos dos seres humanos e animais, além de apresentarem efeitos adversos para a saúde humana e meio ambiente (UNEP, 2001).

Ressalta-se que os alimentos de origem animal constituem-se na principal fonte de ingestão dos PCBs pelo homem (COSTABEBER et al., 1997; ANGULO et al., 1996). Atrelado a isso, está o fato de que, por suas características lipofílicas, os PCBs tornaram-se passíveis de bioacumulação nos organismos e capazes de se biomagnificarem através das cadeias alimentares (HU et al, 2010.; WU et al., 2009).

A intoxicação humana através dos alimentos contaminados caracteriza-se pelo aparecimento de afecções dérmicas, hipersecreção ocular, pigmentação das unhas e mucosas, fadiga, náuseas e vômitos (GOTO & HIGUCHI, 1969). Os PCBs podem atravessar a barreira placentária produzindo malformações em fetos e abortos, sendo que a toxicidade dos congêneres de PCBs está relacionada com a sensibilidade do indivíduo, a disposição dos átomos de cloro e o número destes na molécula (DEKONING & KARMAUS, 2000).

Os chamados NDL-PCBs como, por exemplo, os sete congêneres indicadores (28, 52, 101, 118, 153, 138, 180), são reconhecidamente menos tóxicos que os congêneres DL-PCBs (análogos às dioxinas), embora sejam igualmente perigosos devido ao fato de serem comumente encontrados no sangue e tecidos de seres

humanos, animais selvagens e peixes (FERRANTE et al., 2010), e expostos através da cadeia alimentar em concentrações muito maiores do que os DL-PCBs (STORELLI & PERRONE, 2010). DL-PCBs incluem, por exemplo, os congêneres 81, 77, 126 e 169. Em trabalho realizado por STEFANELLI et al. (2004) para avaliação dos níveis de contaminantes do Mar Adriático na Itália, todas as amostras de pescado coletadas continham congêneres de PCBs em diferentes concentrações, sendo que destes, os PCBs 170, 180, 187, 153, 138, 118, 101, 105, e 52 foram os compostos mais freqüentes e abundantes.

Cada vez mais, o consumo de pescados vem sendo recomendado em virtude de sua composição química. O significativo valor nutricional atribuído aos pescados é caracterizado, sobretudo, pelas proteínas de elevado valor biológico e por apresentar, de modo geral, gordura muito mais insaturada e com maior conteúdo de ácidos graxos da família ômega-3. Além disso, cabe destacar o potencial do Brasil para a obtenção de pescados, sendo que a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) estima que o Brasil possa produzir, pelo menos, 20 milhões de toneladas ao ano (PORTAL BRASIL, 2013).

Justifica-se que as diferentes espécies de pescado disponíveis para o consumo humano e as variações no teor de gordura dessas espécies podem fornecer subsídio à pesquisa para determinação de PCBs, pois estes são compostos químicos tóxicos de características lipofílicas e tendência à bioacumulação. Nesse sentido, visando subsidiar a consolidação da cadeia produtiva de pescados no Brasil, aponta-se a importância da realização de pesquisas científicas capazes de validar a qualidade e inocuidade dos pescados disponibilizados para consumo pela população do Rio Grande do Sul, importante unidade produtora do país. Os resultados obtidos contribuirão para o desenvolvimento científico do País no sentido de ampliar o conhecimento a respeito dos níveis de PCBs, contaminantes ambientais de grande importância em pescados. Também poderão servir como subsídio às autoridades sanitárias, indicando a possível necessidade da elaboração de políticas públicas de controle da contaminação ambiental por esses POPs, bem como a adequação da legislação referente a este tema. De acordo com Brochardt (2010), entende-se o acesso à alimentação como um dos direitos fundamentais consignados na Declaração Universal dos Direitos Humanos, devendo o poder público adotar as políticas e ações que se façam necessárias para promover e garantir a segurança alimentar e nutricional da população.

A presente dissertação está estruturada de forma a apresentar uma abordagem sobre aspectos da caracterização dos PCBs, sua atuação como contaminantes da cadeia alimentar, seus aspectos toxicológicos, uma abordagem sobre a caracterização dos pescados como fonte alimentar, sua importância econômica e a ocorrência da contaminação dos mesmos por PCBs. Os materiais e métodos empregados na pesquisa, bem como seus resultados e discussão estão inseridos em forma de manuscrito, o qual será submetido para publicação em periódico científico. Por fim, apresentam-se as conclusões obtidas na pesquisa desenvolvida.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Investigar a ocorrência de contaminação por 11 congêneres individuais de PCBs (números: 28, 52, 77, 81 101, 118, 126, 138, 153, 169 e 180) em amostras *in natura* de diferentes espécies de pescados disponibilizados para consumo e provenientes do litoral do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Identificar e quantificar os compostos do estudo em amostras *in natura* de diferentes espécies de pescados obtidas comercialmente no município de Tramandaí, no litoral norte do Estado do Rio Grande do Sul, e no município de Rio Grande, no litoral sul do Rio Grande do Sul.
- Comparar os níveis de PCBs detectados nas amostras de pescado *in natura* obtidas no litoral norte e no litoral sul do Rio Grande do Sul e determinar uma eventual existência de pontos geográficos de risco, isto é, regiões altamente contaminadas com estes compostos.
- Comparar os níveis de PCBs detectados entre as diferentes espécies de pescados de interesse comercial analisadas neste estudo.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Bifenilos Policlorados

##### 3.1.1 Caracterização

Os bifenilos policlorados (PCBs) caracterizam-se como uma classe de compostos organoclorados formados por dois anéis de benzeno unidos por uma ligação de carbono-carbono, com 1 a 10 átomos de cloro substituindo os átomos de hidrogênio, nas posições 2-6 e 2'-6' dos anéis. A fórmula molecular dos PCBs é representada por  $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$ , onde  $n$  é o número de cloros presente na molécula, que pode variar entre 1 e 10, resultando em até 209 isômeros possíveis, os quais denominam-se de congêneres. (PENTEADO & VAZ, 2001; WHO, 2003). A estrutura genérica destes compostos pode ser observada na Figura 1.

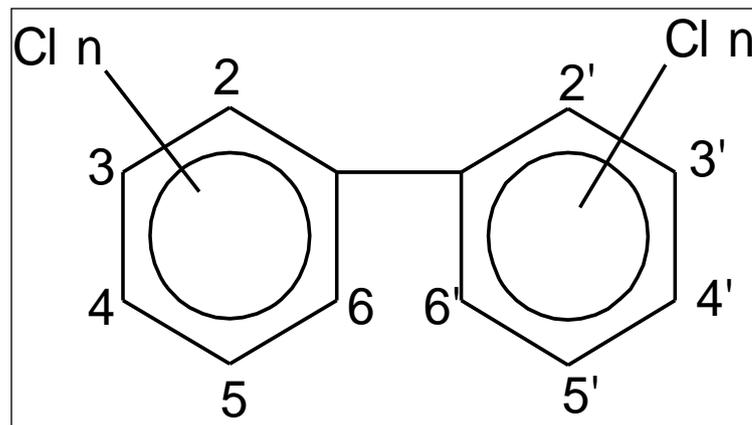


Figura 1: Estrutura molecular dos PCBs. Fonte: Penteado & Vaz (2001)

A nomenclatura utilizada para os PCBs segue as regras propostas pela União Internacional para Química Pura e Aplicada (*International Union for Pure and Applied Chemistry – IUPAC*) (SILVA, 2007). A regra da IUPAC considera a posição relativa dos átomos de cloro na estrutura bifenil, sendo a posição número 1 reservada para a ligação entre os anéis. A partir desta, no anel da esquerda, as posições são numeradas em ordem crescente no sentido anti-horário. No anel da direita, as posições são numeradas da mesma forma, mas em sentido horário, adicionando-se um índice para diferenciar do outro anel (PENTEADO & VAZ, 2001). Em 1980, Ballschmiter & Zell propuseram uma nova sistemática para a nomenclatura usual dos PCBs, a qual é adotada até os dias atuais e onde os congêneres são numerados de 1 a 209 (SILVA, 2007). Na tabela 1 apresentam-se alguns exemplos dessa nomenclatura usual.

Tabela 1 - Sistema de identificação dos congêneres de PCBs

Nº Cloros	Usual	IUPAC
3	PCB 28	2,4,4' – triclorobifenil
4	PCB 52	2,2',5,5'- tetrachlorobiphenyl
5	PCB 101	2,2',4,5,5'- pentachlorobiphenyl
4	PCB 81	3,4,4',5- tetrachlorobiphenyl
4	PCB 77	3,3',4,4' – tetraclorobifenil
5	PCB 118	2,3',4,4',5- pentachlorobiphenyl
6	PCB 153	2,2',4,4',5,5'- hexachlorobiphenyl
6	PCB 138	2,2',3,4,4',5'- hexachlorobiphenyl
5	PCB 126	3,3',4,4',5 – pentaclorobifenil
7	PCB 180	2,2', 3,4,4',5,5' – heptaclorobifenil
6	PCB 169	3,3',4,4',5,5'- hexachlorobiphenyl

Fonte: elaborado pela autora.

Segundo Tanabe (1988), os PCBs foram sintetizados pela primeira vez antes da virada do século XX e, a partir de 1929 começaram a ser produzidos em escala industrial. Dentre as características desses compostos, os mesmos destacam-se por serem pouco solúveis em água, sendo que a solubilidade decresce com o aumento do número de átomos de cloro na molécula, assim como seu ponto de fusão e ebulição. São caracterizados, também, como facilmente solúveis em carboidratos, gorduras e outros compostos orgânicos, sendo rapidamente absorvidos por tecidos gordurosos (WHO, 1993). Ainda, em relação às suas propriedades físico-químicas, os PCBs destacam-se pela resistência a altas temperaturas, baixa volatilidade, baixa constante dielétrica, resistência à oxidação e redução, aos ácidos e álcalis. Justamente por estas propriedades, os PCBs foram amplamente utilizados na indústria, existindo na forma de líquidos (óleos) e sólidos (resinas e graxas), com coloração variando do incolor a amarelo claro e sem possuir sabor nem cheiro.

O pico da produção de PCBs foi referenciado como o ano de 1970, sendo que a maior parte dessa produção foi consumida pela indústria eletro eletrônica (PENTEADO & VAZ, 2001). Estima-se que sua produção total girou em torno de 1,3 milhões de toneladas, sendo usado em quase todos os países do mundo. Para fins práticos, os PCBs foram misturados com outros fluidos (*carrier fluids*) tais como clorobenzenos ou óleo mineral (KUEPER et al., 2003). Dessa forma, dependendo do país onde foram fabricados ou comercializados, essas misturas receberam denominações distintas, com destaque para o produto da Monsanto como o mais difundido no mundo (Tabela 2).

Tabela 2 - Nomes comerciais dos PCBs em diferentes países

Marca	Fabricante	País de origem
Aroclor	Monsanto	EUA
Piranol	General Eletric	EUA
Clophen	Bayer	Alemanha
Acelor	ACEC	Bélgica
Piroclor	Monsanto	Reino Unido
Kaneclor	Kanegafuchi/Mitsubichi	Japão
Piralene	Prodelec	França
Phenoclor	Prodelec	França

Fonte: AMBICARE (2005).

Os PCBs foram utilizados por várias décadas como fluidos de troca térmica em trocadores de calor, lubrificantes em equipamentos hidráulicos e principalmente como óleos dielétricos em transformadores e capacitores elétricos (USEPA, 2000). Com menos intensidade estiveram presentes na formulação de adesivos, tintas, pesticidas, corantes e graxas (BORJA et al., 2005).

Ressalta-se a inexistência de registros acerca da produção de PCBs no Brasil, sendo o país caracterizado como um importador, principalmente de países como Estados Unidos e Alemanha (PENTEADO & VAZ, 2001).

Com a identificação dos PCBs como contaminantes ambientais, na metade da década de 60 e, a partir de uma pesquisa com pesticidas no solo, a utilização desses compostos começou a ser restringida em diferentes partes do mundo. No Japão e Suécia, a sua produção e uso foram proibidos em 1972. Nos Estados Unidos isso ocorreu em 1977, na Noruega em 1980, na Finlândia em 1985 e na Dinamarca em 1986 (WHO, 2003).

No Brasil, as restrições à utilização dos PCBs foram implementadas através da Portaria Interministerial 19, de 2 de janeiro de 1981. Essa portaria estabeleceu a proibição da fabricação, comercialização e uso de PCBs em todo o país. Entretanto, continuou-se permitindo que os equipamentos já instalados permanecessem em funcionamento até sua substituição integral ou a troca do fluido dielétrico por produto isento de PCBs. Esta portaria também proibiu o descarte de PCBs ou produtos contaminados em cursos d'água, exposição de equipamentos contendo PCBs a intempéries, além de regulamentar o local de instalação dos equipamentos que contenham PCBs e que ainda estivessem em funcionamento (BRASIL, 1981). Além dessa Portaria, houve a Instrução Normativa 001 SEMA/STC/CRC, do Ministério do Interior, de 10 de junho de 1983, que disciplina as condições a serem observadas no

manuseio, armazenagem e transporte de PCBs e/ou resíduos contaminados. Há também, a norma ABNT/NBR 8371/94 que estabelece orientação para o manuseio, embalagem, rotulagem, armazenagem e transporte de PCBs para transformadores e capacitores, níveis de contaminação permitidos em equipamentos novos, equipamentos em operação, além de valores para manutenção e descarte dos fluídos e equipamentos elétricos que contenham PCBs.

Em maio de 2001, os PCBs, pelo conjunto de suas características, foram oficialmente classificados como um dos integrantes da classe dos então chamados Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs). Naquela ocasião, noventa países, inclusive o Brasil, assinaram um Tratado Internacional para banir doze dos POPs considerados mais perigosos para o meio ambiente e a saúde pública, em Estocolmo, na Suécia. O objetivo da chamada Convenção de Estocolmo foi proteger a saúde humana e o meio ambiente dos efeitos danosos dos poluentes orgânicos persistentes e promover a utilização, a comercialização, o gerenciamento e o descarte de poluentes orgânicos persistentes de maneira sustentável e ambientalmente correta (UNEP 2001).

No Brasil, o Decreto Nº 5472, de 20 de junho de 2005, promulgou o texto da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes, adotada, naquela cidade, em 22 de maio de 2001, o qual estabeleceu um acordo legal, obrigatório e global, para banir a produção, o uso e a disponibilidade dos poluentes orgânicos persistentes.

A Convenção de Estocolmo (2001) reconheceu, inicialmente, doze POPs como causadores de efeitos adversos em seres humanos e do ecossistema e os distribuiu em três categorias: pesticidas; produtos químicos industriais e subprodutos de vários tipos de manufaturas. Os PCBs foram, portanto, incluídos na categoria dos produtos químicos industriais.

### 3.1.2 Contaminação da cadeia alimentar

Como contaminantes ambientais de grande impacto nos ecossistemas, a contaminação dos alimentos por PCBs tornou-se inevitável, configurando-se como umas das principais vias de exposição ao homem a esses compostos e aos efeitos de sua toxicidade. Assim, a partir da caracterização dos PCBs como compostos

poluentes persistentes e, especialmente, para o entendimento do impacto de sua dispersão na cadeia alimentar, ressaltam-se alguns aspectos de interesse da Convenção de Estocolmo, dentre os quais, o reconhecimento pelas partes presentes de que os POPs têm propriedades tóxicas, são resistentes à degradação, se bioacumulam, são transportados pelo ar, pela água e pelas espécies migratórias através das fronteiras internacionais e depositados distantes do local de sua liberação, onde se acumulam em ecossistemas terrestres e aquáticos (UNEP 2001).

Mesmo estando proibidos, ainda hoje se associa a ocorrência de contaminação ambiental por PCBs, principalmente a partir do descarte de equipamentos elétricos antigos em locais não apropriados para este fim, contaminando o solo e as águas (MOHR & COSTABEBER, 2012). A contaminação também pode ocorrer quando a incineração do lixo industrial e municipal não é efetiva em sua destruição.

Exemplos de situações de exposição ao risco podem ser mencionados, inclusive no Estado do Rio Grande do Sul onde, em abril de 2010, a Superintendência do Porto de Rio Grande foi autuada e multada em R\$ 1,5 milhão pelo Escritório Regional do Ibama pela manutenção de 21 toneladas de óleo Ascarel (bifenilo policlorado) e material contaminado no armazém A-5 do Porto Novo. O órgão alegou, na ocasião, que o óleo se encontrava em local inadequado e que não havia licença para armazenamento de materiais perigosos (ZIEBELL, 2010).

Anos antes, a organização não-governamental internacional *Greenpeace* denunciou a siderúrgica Gerdau, situada na região metropolitana de Porto Alegre, por contaminar o meio ambiente por PCBs. As amostras coletadas na siderúrgica apresentaram Ascarel do tipo Aroclor 1254 (Jornal O Estado de São Paulo, 2001).

As proporções da dispersão e da transferência dos PCBs para os animais, vegetais e seres humanos tornam-se difíceis de serem estimadas (WHO, 1993). As principais formas de entrada dos PCBs, no ambiente marinho, por exemplo, foram indicadas como a descarga dos rios, pelo escoamento continental em áreas costeiras e pela precipitação atmosférica nas áreas oceânicas (SOLÉ et al., 2001). Enquanto em ambiente dulcícola as principais formas de entrada destes contaminantes ocorrem pelo despejo direto do poluente, pelo escoamento continental e pela precipitação atmosférica (AZEVEDO e SILVA et al., 2007).

Na cadeia alimentar, a entrada dos PCBs pode ser associada principalmente as suas propriedades físico-químicas. Estes compostos podem sofrer, ao longo da

cadeia alimentar, um processo de bioconcentração, mecanismo pelo qual ocorre acúmulo do contaminante resultante da absorção e eliminação simultâneas, ou de biomagnificação, que resulta do processo de acúmulo da concentração do contaminante nos tecidos dos organismos vivos na passagem de cada nível trófico da cadeia alimentar. O potencial de biomagnificação do contaminante na cadeia trófica é determinado pela lipoficidade dos congêneres de PCBs, pela estrutura e pela dinâmica da cadeia alimentar onde a concentração do contaminante aumenta com o nível trófico (PENTEADO & VAZ, 2001).

Estimou-se que 90% da contaminação humana por PCBs apresenta como fonte os alimentos, sendo que os de origem animal merecem maior destaque (RAMOS et al., 2000; BINELLI & PROVINI, 2003; COSTABEBER & EMANUELLI, 2003). Devido à exposição através da alimentação, agências reguladoras, como a Organização Mundial da Saúde, por exemplo, propõe a consideração de valores máximos para ingestão ou limites para a quantidade de contaminantes em diferentes alimentos, com o intuito de proteger a população (AZEVEDO & SILVA, 2007).

No Brasil, a legislação vigente prevê limites de referência para PCBs em peixes de cultivo ( $15 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), mas esse limite refere-se ao somatório de todos os PCBs (BRASIL, 2013). Para Estados membros da União Européia, o Regulamento nº 1259/2011 é a legislação atualmente em vigor e que alterou o Regulamento (CE) nº 1881/2006 no que diz respeito aos limites máximos de dioxinas, DL-PCBs e NDL-PCBs em gêneros alimentícios. Para peixes marinhos comestíveis e óleos de peixes marinhos a legislação da União Européia estabelece como limites, respectivamente, 75 ng/g ww (peso úmido) e 200 ng/g ww para o somatório de seis PCBs (28, 52, 101, 138, 153, 180).

### 3.1.3 Aspectos toxicológicos

A partir do enquadramento dos PCBs como POPs, apontaram-se também o reconhecimento dos problemas de saúde, especialmente nos países em desenvolvimento, resultantes da exposição local a esses compostos, em especial os efeitos nas mulheres e, por meio delas, nas futuras gerações; o reconhecimento de que os ecossistemas estão ameaçados devido à bioacumulação dos POPs; que a contaminação dos alimentos é um problema de saúde pública e a manifestação

sobre a necessidade de se tomar medidas de alcance mundial sobre os poluentes orgânicos persistentes (UNEP, 2001).

As vias de entrada dos PCBs no organismo humano caracterizam-se através do trato gastrointestinal, dos pulmões ou da epiderme (WHO, 1993). A mais importante via de exposição humana aos PCBs foi associada à ingestão de alimentos contaminados, principalmente de pescados (COSTABEBER & EMANUELLI, 2003). Segundo Ross (2004), a exposição humana aos PCBs ocorre principalmente pela ingestão acidental de alimentos com baixos níveis de contaminação. No entanto, como os alimentos não são a única fonte da contaminação por PCBs, estimou-se que menos de 10% da contaminação por PCBs pode ocorrer, também, através de absorção dérmica e inalação de ar (BINELLI & PROVINI, 2003). Independente da via, todas as formas de exposições aos PCBs foram apontadas como capazes de ocasionar intoxicações crônicas (COSTABEBER, 1999), pois são compostos lipofílicos, que se armazenam preferencialmente no tecido adiposo (COSTABEBER, 1999; COSTABEBER et al., 2000) e em menores quantidades no soro sanguíneo, nos órgãos e no leite (ANGULO et al., 1996).

Ressalta-se que, após a entrada no organismo, o mecanismo e a cinética da biotransformação dos PCBs dependem de inúmeros fatores, incluindo-se a capacidade metabólica do organismo e a estrutura do congênere de PCB (MAERVOET et al., 2004). A biotransformação e o grau de persistência relacionam-se com o número de átomos de cloro presentes na molécula, assim como da posição dos mesmos. Os compostos mais clorados foram indicados como os mais persistentes e capazes de acumularem-se nos tecidos gordurosos, enquanto que as formas menos cloradas podem ser metabolizadas e excretadas (WHO, 1993; COSTABEBER & EMANUELLI, 2003). O efeito da exposição cumulativa ao longo da vida e fatores como eficiência de absorção, biotransformação potencial no trato gastrointestinal e taxas de metabolismo e depuração são importantes na determinação dos níveis endógenos de PCBs (ALCOCK et al., 2000).

Os mecanismos biológicos excretadores tornam-se dependentes da metabolização dos PCBs com formação de compostos mais polares (WHO, 1993). Por isso, os PCBs necessitam, para sua eliminação, de sistemas metabólicos que os transformem em moléculas hidrossolúveis (COSTABEBER & EMANUELLI, 2003). Além disso, os PCBs podem ser facilmente transformados em metabólitos mais polares, com a adição de grupos hidroxil e metilsulfona, os quais não são

prontamente excretados, acumulando-se em tecidos e fluídos biológicos específicos. Estes metabólitos persistentes têm sido identificados em humanos e em espécies animais selvagens. Uma quantidade de enzimas P450, especialmente as da família CYP2B, são reconhecidas por estarem envolvidas com a formação destes metabólitos (WHO, 2003). As principais rotas de eliminação dos PCBs são as fezes, urina e o leite materno (WHO, 2003).

Efetivamente, destaca-se que a toxicidade dos PCBs apresenta aspectos variados, estando associada à disposição dos átomos de cloro e o número destes em sua molécula (SAWHNEY e HANKIN, 1985; MOHR & COSTABEBER, 2012).

Os congêneres de PCBs que não contém átomos de cloro na posição *orto*, mas possuem átomos de cloro na posição *para* e tem no mínimo um par de cloros na posição *meta*, são considerados os mais tóxicos devido à alta afinidade com o receptor Ah (*aryl hydrocarbon*), como os PCBs 77, 81, 126 e 169. Os mecanismos de ação bioquímico e toxicológico destes compostos são semelhantes aos da 2,3,7,8-tetraclorodibenzeno-*p*-dioxina (TCDD) e, por isso, estes congêneres são chamados de PCBs semelhantes às dioxinas (*DL-PCBs: dioxin-like PCBs*) (SAFE et al., 1985; SILVA et al., 2007).

Entretanto, a maioria das misturas comerciais de PCBs está baseada nos chamados sete PCBs indicadores (28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180). O somatório de seis destes indicadores, com exceção do PCB 118, representa cerca de 50% do total da contaminação ambiental e dos alimentos por PCBs não semelhantes às dioxinas (*NDL-PCBs: non-dioxin like PCBs*) (EFSA, 2005; FERRANTE et al., 2011). Os congêneres NDL-PCBs, apesar de apresentarem uma toxicidade menor, são igualmente perigosos, pois foram os mais utilizados em misturas comerciais e, conseqüentemente, os mais detectados em amostras ambientais, seres humanos, animais e alimentos. Estudos já comprovaram que esses congêneres, apesar de possuírem pequena afinidade pelos receptores Ah, estão envolvidos em mecanismos de neurotoxicidade, disrupção endócrina e imunossupressão (MOHR & COSTABEBER, 2012).

Dentre os aspectos toxicológicos dos PCBs, salientam-se a identificação de suas ações teratogênicas e carcinogênicas; sua capacidade de afetar os sistemas reprodutor e endócrino, além de provocarem alterações cutâneas, imunotóxicas e neurotóxicas (COSTABEBER & EMANUELLI, 2003) e por sua condição de poderosos desreguladores endócrinos (MEZZETTA et al. 2011).

Portanto, os PCBs provocam uma ampla variação de efeitos tóxicos, sendo que as respostas tóxicas são dependentes da via e duração de exposição da mistura de PCBs; da espécie, considerando a idade e sexo do indivíduo e das características da mistura, o que inclui a sua pureza, a quantidade de cloro e a distribuição relativa de congêneres (HOIVIK & SAFE, 1998).

A exposição humana aos PCBs foi associada com a ocorrência de câncer de mama (COSTABEBER et al., 2000; LUCENA et al., 2001; COSTABEBER, 2001). Além disso, PCBs foram apontados como capazes de atravessar a barreira placentária produzindo malformações em fetos e abortos (DEKONING & KARMAUS, 2000; MOHR et al., 2011). Diversos sintomas foram relacionados a toxicidades dos PCBs, como indução de enzimas; diminuição nos níveis de vitamina; diminuição dos elementos linfóides do sangue; atrofia do timo e do baço; imunossupressão; cloracne; alopecia; edema; hiperqueratose; blefarite; hiperplasia do revestimento epitelial dos ductos biliares extra-hepáticos, da vesícula biliar e do trato urinário; hepatomegalia; danos ao rim, incluindo necrose; hemorragia; hepatotoxicidade; promoção de tumores; alteração dos níveis de esteróides e hormônios tireoidianos; alterações do sistema reprodutivo feminino e masculino, incluindo irregularidades menstruais, concepção reduzida, indução de aborto em fases iniciais da gravidez, sangramentos menstrual e puerperal excessivos, anovulação, atrofia testicular, espermatogênese diminuída, teratogênese e alterações do desenvolvimento embrionário (SAFE 1984).

## 3.2 Pescados

### 3.2.1 Caracterização

Por pescado pode-se designar qualquer animal de origem aquática, compreendendo peixes, moluscos (ostras, mariscos, lulas, polvos e abalones), equinodermos (ouriço-do-mar) e crustáceos (caranguejos, siris, camarões e lagostas) (AQUARONE et al., 2001). Em relação aos peixes, são conhecidas mais de 12.000 espécies de peixes que vivem em diferentes oceanos, mares, rios e lagos. Somente cerca de 1.500 dessas espécies são pescadas em quantidade suficiente para serem consideradas de relevância comercial (ORDÓÑEZ, 2005).

A maior parte dos peixes de interesse comercial pertence às ordens superiores de peixes ósseos (*Teleósteos*), embora alguns sejam cartilagosos-ósseos e outros cartilagosos. De acordo com seu modo de vida e hábitat, os peixes podem ser divididos em: marinhos; de água doce e migratórios (ORDÓÑEZ, 2005).

Grande parte da captura mundial de pescado é proveniente de espécies marinhas, a metade correspondente a espécies demersais e o restante a espécies pelágicas (FAO, 1997). Os peixes marinhos vivem e se reproduzem em água marinha e dividem-se em dois grandes grupos: o primeiro inclui os peixes pelágicos, que habitam zonas geográficas muito diferentes, mas tem em comum o fato de viver formando grandes grupos (cardumes) e de ser de tamanhos bastante similares (arenque, sardinha, anchova), e o segundo inclui os peixes demersais, que vivem perto ou no fundo do mar, e costumam ser de conformação grande (bacalhau, merluza, peixe-espada) (ORDÓÑEZ, 2005). Segundo Szpilman (2000), em relação ao habitat, os peixes podem ainda ser nectônicos, os quais mantêm boa relação com o substrato marinho, onde fazem moradia (toca), e embora nadem ativamente na massa d'água (robalos; pescadas); e podem ser bentônicos, os que habitam e dependem do fundo, com uma estreita relação com o substrato marinho (bagres, linguados).

A carne do pescado, que é sua porção comestível mais importante, constitui-se principalmente de tecido muscular, conetivo e gordura. A composição química da carne do pescado depende de muitas variáveis como espécie, idade, estado fisiológico, época e região de captura (ORDÓÑEZ, 2005).

O pescado apresenta como principal constituinte a água (de 66% a 84%) (AQUARONE et al., 2001). Esse componente é um dos que apresenta maiores variações relacionadas às espécies e às épocas do ano. De maneira geral, admite-se que há nos peixes correlação inversa entre o conteúdo de água e o de lipídeos totais, sendo esta muito mais acentuada nas espécies gordas (ORDÓÑEZ, 2005).

Os teores de proteínas oscilam de 15% a 24% (AQUARONE et al., 2001). A maioria dos componentes nitrogenados do pescado faz parte das proteínas. Entretanto, o tecido muscular contém igualmente compostos nitrogenados não proteicos (ORDÓÑEZ, 2005). Dependendo de sua solubilidade, as proteínas do pescado podem se dividir, assim como as da carne, em sarcoplasmáticas, miofibrilares e insolúveis ou do estroma. As proteínas do sarcoplasma do músculo do pescado representam em torno de 20 a 30% do total de proteínas. São solúveis em água ou em soluções salinas fracas, a maioria tem atividade enzimática e a quantidade de proteínas sarcoplasmáticas coloridas, como mioglobina e citocromo, variam segundo as espécies sendo que, algumas contém apenas quantidades residuais nos músculos claros. A proporção de proteínas miofibrilares em termos de proteína muscular varia entre 65 e 75% do total de proteínas e as três principais são: actina, miosina e tropomiosina. Este grupo de proteínas tem relevância do ponto de vista nutritivo e tecnológico, pois há clara evidência de que as mudanças que alteram a textura do pescado são resultado direto das mudanças nessas proteínas miofibrilares. Já as proteínas do estroma tem alguma importância na textura do pescado e sua presença varia entre 3 a 10% do total de proteínas, conforme a espécie do pescado. Ressalta-se que as diversas espécies de pescado não diferem muito quanto à composição em aminoácidos e que devido ao conteúdo de aminoácidos essenciais, o valor nutritivo das proteínas é muito alto (ORDÓÑEZ, 2005)

Os componentes nitrogenados não-proteicos são substâncias minoritárias do pescado que estão dissolvidas no sarcoplasma e no líquido intracelular atingindo, em muitos peixes, valores entre 9 a 18% do total do nitrogênio muscular (ORDÓÑEZ, 2005). Esta fração de nitrogênio não-proteico inclui os aminoácidos livres, as bases nitrogenadas voláteis, particularmente amônia, certas bases como o óxido de trimetilamina, a creatinina, a taurina, as betaínas, o ácido úrico, a anserina e a carnosina (AQUARONE et al., 2001). Destaca-se que o óxido de trimetilamina (OTMA) e seus derivados são relativamente abundantes nas espécies de pescado

de origem marinha, sendo os peixes planos e pelágicos os que apresentam valores mínimos. Contudo, existem diferenças entre indivíduos da mesma espécie, que se devem, principalmente, à estação, ao tamanho e à idade. O OTMA presente no pescado reduz-se, por ação bacteriana, enzimática ou ambas, a trimetilamina (TMA) que, junto com a dimetilamina (DMA) produz o odor característico de peixe alterado. Por isso, as taxas de TMA ou a relação TMA/OTMA são geralmente utilizadas como índice de alteração do peixe (ORDÓÑEZ, 2005).

Com relação aos minerais, os teores variam de 0,8% a 2% e muitos deles ocorrem como traços, bem como as vitaminas lipó e hidrossolúveis (AQUARONE et al., 2001). Cálcio, fósforo, sódio, potássio e magnésio são os minerais mais presentes em pescados, enquanto iodo, ferro, cobre, flúor, cobalto e zinco se caracterizam como os que aparecem em quantidades residuais. Ressalta-se que alguns pescados são excelentes fontes de cálcio, apresentando concentrações que variam entre 5 a 200mg por 100g de produto, mas que essa variabilidade pode ser atribuída à quantidade de cálcio na água e/ou nos alimentos do peixe, à idade, ao tamanho e ao desenvolvimento do animal. As vitaminas do pescado também apresentam variação conforme esses fatores (ORDÓÑEZ, 2005). Os maiores teores de vitamina A encontram-se no fígado e nas vísceras. A distribuição da vitamina D segue a da A, com maior quantidade no óleo de fígado, no qual os teores variam de 500 a 3000 UI/100g. Estão também presentes no pescado as vitaminas hidrossolúveis B1, B2, niacina, ácido pantotênico, B6, ácido fólico, biotina, B12 e C (AQUARONE et al., 2001).

Os teores de lipídeos variam no pescado entre 0,1% e 22%. Há distinções entre espécies gordurosas, semigordurosas e magras (AQUARONE et al., 2001) indicando-se que o valor calórico dos peixes como alimento depende do teor de gordura. Assim, têm-se como exemplos de peixes magros, com menos de 1% de gordura, o bacalhau (0,14%), a carpa (0,5%), a pescada (0,6%), a truta (0,7%), o linguado (0,8%). Como exemplos de peixes semi gordos, com 7 a 8% de gordura, mencionam-se o salmão, o arenque e a cavala. Já como exemplos de peixes gordos, com mais de 15% de gordura, cita-se o atum e a enguia (LEDERER, 1991).

A gordura não se distribui por igual em todo o corpo do animal, dependendo então do tecido ou órgão considerado (AQUARONE et al., 2001). Os chamados lipídeos de reserva são os que se encontram em proporções superiores a 1% do peso vivo, são mais abundantes nos peixes de músculos escuros e constituídos,

majoritariamente, por triglicerídeos enquanto que os lipídeos estruturais desempenham alguma função biológica e constituem-se por fosfolipídeos. A proporção entre esses lipídeos de reserva e os estruturais varia muito, dependendo da porcentagem de gordura total. Quanto maior é o conteúdo de gordura total, maior a porcentagem de lipídeos de reserva e, portanto, de triglicerídeos (ORDÓÑEZ, 2005).

A gordura do pescado diferencia-se das gorduras vegetais e daquela procedente de animais de abate por apresentar maior variedade de ácidos graxos, maior proporção de ácidos graxos de cadeia longa e por ser mais rica em ácidos graxos poliinsaturados (PUFA). São esses PUFA que, de fato, diferenciam a gordura dos peixes em relação à dos animais terrestres. A maioria dos PUFA do pescado pertencem à família  $\omega$ -3, enquanto os  $\omega$ -6 constituem porcentagem menor. Destaca-se que o consumo de alimentos ricos em PUFA  $\omega$ -3 aumentou nos últimos anos devido a pesquisas que demonstraram o efeito positivo desses ácidos graxos na prevenção de certas doenças, especialmente as cardiovasculares (ORDÓÑEZ, 2005).

Assim, os pescados tem sido apontados por diversos autores como fonte alimentar saudável, sobretudo em virtude de seus benefícios nutricionais relacionados às suas proteínas de alta qualidade biológica, à composição lipídica desejável, aos minerais e vitaminas considerados valiosos. Em especial, aponta-se sua fração lipídica rica em ácidos graxos poliinsaturados  $\omega$ -3. (CARVALHO et al., 2005; CASTRO & ARMENTA, 2008; GROTH, 2010; STORELLI et al. 2008).

### 3.2.2 Importância e produção no Brasil e Rio Grande do Sul

Os pescados tem sido apontados como a fonte de proteína animal mais consumida no mundo. Nesse contexto, dá-se ênfase ao potencial produtivo do Brasil, que possui uma das maiores reservas de água doce do mundo, com cerca de 8,2 bilhões de metros cúbicos de água em rios, lagos, açudes e represas; além da extensa faixa litorânea. Considerada ainda pequena em relação ao seu potencial, a produção anual de pescado no País gira em torno de 1,5 milhão de toneladas. A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) estimou que o Brasil possa produzir, pelo menos, 20 milhões de toneladas. A meta, até o final do

ano de 2014, é atingir a marca de 2 milhões, sendo que destaca-se o fato de que a aquicultura pode ser praticada também em propriedades rurais, em tanques-escavados, e no litoral. Em nosso país, o consumo de pescado pode ser considerado baixo, alcançando 9 quilos por ano por habitante, sendo que a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o consumo anual de 13,5 quilos por habitante (PORTAL BRASIL, 2013).

A aquicultura vem se destacando e suprindo a grande demanda de pescado do mundo em função da estagnação da captura (FAO, 2009), uma vez que a pesca extrativa se caracteriza pela retirada de organismos aquáticos da natureza sem seu prévio cultivo. Este tipo de atividade pode ocorrer em escala industrial ou artesanal, tanto no mar como no continente (SEBRAE, 2008).

A produção de pescado do Brasil, para o ano de 2010, foi de 1.264.765 t, registrando-se um incremento de 2% em relação a 2009, quando foram produzidas 1.240.813 t de pescado. A pesca extrativa marinha continuou sendo a principal fonte de produção de pescado nacional, sendo responsável por 536.455 t (42,4% do total de pescado), seguida, sucessivamente, pela aquicultura continental (394.340 t; 31,2%), pesca extrativa continental (248.911 t; 19,7%) e aquicultura marinha (85.057 t; 6,7%). Em 2010 foi registrada uma redução de 8,4% na produção de pescado oriunda da pesca extrativa marinha em relação a 2009, resultado de um decréscimo de 49.217 t. Por outro lado, a produção da pesca extrativa continental e a aquicultura continental e marinha fecharam em alta em relação a 2009, com um acréscimo de 3,9%, 16,9% e 9%, respectivamente (BRASIL, 2010).

Em 2010, o Estado do Rio Grande do Sul passou a ocupar a posição de sexto maior produtor nacional na pesca extrativa marinha, com 28.456 t (incremento de 52,7% em relação a 2009) (Fig. 2). Entre as espécies de peixes mais capturadas, a sardinha-verdadeira foi a que apresentou o maior volume de captura, com 62.134 t em 2010, o que resultou em um decréscimo de 25,4% em relação a 2009, quando foram produzidas 83.286 t. Este declínio foi responsável por aproximadamente 50% da redução total observada na produção pesqueira marinha nacional em 2010. Vale ressaltar que as variações anuais da captura da sardinha-verdadeira são decorrentes de alterações da abundância que são relacionadas ao sucesso do recrutamento do estoque, o qual pode ser fortemente afetado por oscilações na estrutura oceanográfica da costa sudeste-sul do Brasil. A segunda espécie mais capturada em 2010 foi a corvina, com 43.191 t, seguida pela pescada-amarela, com

20.879 t, sendo que ambas as espécies sofreram uma redução de aproximadamente 5% na produção em relação a 2009. Em 2009, o bonito-listrado ocupava a terceira posição, com 23.307 t, contudo, em 2010, a produção desta espécie diminuiu para 20.640 t, caracterizando uma redução de 11,5%, passando a ser a quarta espécie com maior desembarque no Brasil. Juntas, as quatro espécies com maior volume de desembarque representaram 31,5% de todos os peixes marinhos capturados no país em 2010. É interessante notar que a soma das onze espécies mais capturadas no Brasil em 2010 (sardinha-verdadeira, corvina, pescada-amarela, bonito listrado, tainha, sardinha, castanha, cação, pescadinha-real, serra, e bagre) representaram mais da metade (50,7%) do total de peixes marinhos capturados pelo país (BRASIL, 2010).

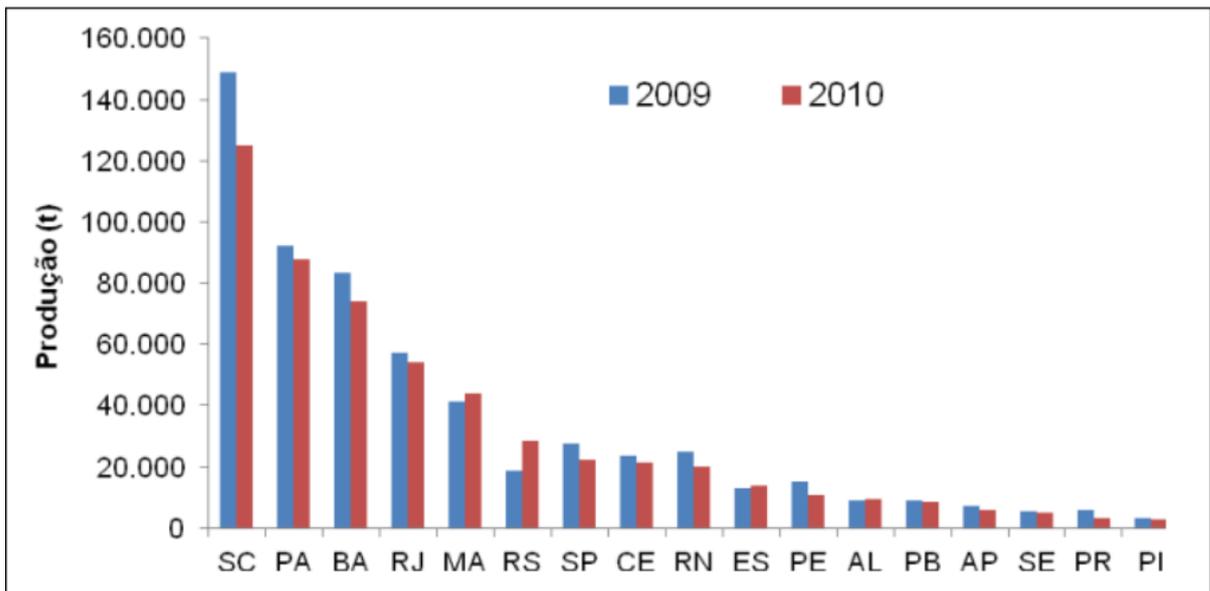


Figura 2 - Produção de pescado (t) nacional da pesca extrativa marinha em 2009 e 2010 discriminada por Unidade da Federação. FONTE: Relatório da Pesca e Aquicultura do Brasil (2010)

### 3.2.3 Contaminação por PCBs em pescados

A ocorrência de resíduos de PCBs em pescados tem sido determinada em diferentes países do mundo com diferentes objetivos. Um dos focos nas análises tem sido atribuído à utilização de peixes como bioindicadores de contaminação ambiental por PCBs, especialmente quando essa contaminação é associada à condição das águas e sedimentos. Cabe destacar a indicação de Miao et al. (2000), de que os peixes constituem-se como excelentes espécies para monitorar a

contaminação por PCBs em pequenas áreas do oceano. Dentro dessa abordagem, Hassan et al., (2013) identificaram correlação significativa entre PCBs em água, sedimentos e peixes ao determinarem as concentrações de PCBs indicadores, a partir da coleta de amostras em quatro locais de Khour-e-Mousa, região noroeste do Golfo Pérsico, no Iran. O principal parâmetro de concentração dos PCBs foi a distância da zona petroquímica, tendo os compostos sido detectados em todas as amostras de peixes coletadas.

Os peixes podem sofrer bioacumulação de contaminantes através das membranas gastrointestinal ou bioconcentração de produtos químicos diretamente água, por difusão através de brânquias e da pele, no entanto, a exposição alimentar é a via predominante na maioria das espécies (GOBAS et al.,1999).

Neste sentido, salienta-se que, conforme Marrof (2003), torna-se previsível o risco envolvido com a maioria das espécies de peixes consumidos dentro da cadeia alimentar marinha em um processo caracterizado como biomagnificação. É muito comum que pequenos peixes absorvam contaminantes através da ingestão dos plânctons que por si nutrem-se em águas com alto teor de poluentes. Os peixes com elevado teor de lipídios tornam-se mais vulneráveis aos contaminantes do tipo PCBs e dioxinas, que uma vez consumidos apresentam características acumulativa. Em trabalho de Xia et al. (2012), realizado com duas diferentes espécies de peixes marinhos coletadas na Costa da China, as concentrações significativamente mais altas de PCBs encontradas em uma delas, foram atribuídas à diferenças justamente nos hábitos alimentares e de vida dessas espécies.

A partir dessa vulnerabilidade dos pescados aos contaminantes ambientais persistentes, pode-se ressaltar que, outro enfoque nas análises acerca da ocorrência de PCBs, concentra-se na identificação e quantificação de diferentes congêneres em espécies de pescados destinados ao consumo humano. Sob este aspecto, os trabalhos versam sobre determinadas espécies de interesse em diferentes regiões costeiras e de água doce, tanto por sua importância comercial quanto por seu consumo integrar o hábito alimentar das populações geograficamente próximas. Nesse sentido, um estudo realizado na Itália, onde os produtos da pesca ocupam um relevante papel na dieta, constatou os PCBs como contaminantes dominantes nas análises em uma variedade de peixes muito consumidos nesse país, sendo que a concentração dos compostos mostrou-se modificada em função da espécie (STORELLI et al. 2011).

Na Espanha, a mais alta exposição aos PCBs, por meio da dieta, foi atribuída em 58,6% ao consumo dos pescados e frutos do mar contaminados (PERELLÓ et al. 2012). Nesse sentido, por ser a via alimentar a principal rota de exposição humana à contaminação por PCBs, e por serem os peixes e demais frutos do mar apontados como os alimentos mais contaminados por PCBs, muitos trabalhos tem avaliado o risco benefício no consumo de pescados, já que os mesmos caracterizam-se, em sua maioria, por relevante valor nutricional. Conforme STORELLI et al. (2011), nas últimas décadas tem havido uma notável promoção do consumo de peixe em muitos países europeus e, esforços abrangentes realizados para proteger a saúde do consumidor resultaram em novas regulamentações para os níveis máximos permitidos de produtos químicos tóxicos em alimentos e reavaliações dos níveis toleráveis de exposição humana. Em estudo, que determinou as concentrações de PCBs em duas espécies de peixes marinhos coletados em nove cidades da costa da China, uma avaliação preliminar do risco para a saúde devido ao consumo desses pescados indicou, a partir de sua detecção, que os DL-PCBs podem ser motivo de preocupação (XIA et al. 2012).

Em face à diversidade na abordagem dos trabalhos que envolvem a determinação de congêneres de PCBs em diferentes espécies de pescados, cabe apontar que se torna difícil comparar as concentrações detectadas em estudos sobre as concentrações de PCBs em pescados, devido à variação nos compostos e no número de congêneres. Além disso, outra dificuldade na comparação transversal dos resultados de diferentes estudos está na expressão dos resultados, que podem estar em peso seco, peso úmido e peso de gordura (BAPTISTA et al. 2013).

Poucos trabalhos tem abordado a contaminação por PCBs em pescados no Brasil, especialmente em espécies de consumo. Lavandier et al. (2013), determinou os níveis de diversos congêneres de PCBs em três espécies de peixes diferentes da Baía de Ilha Grande, localizado no sul do estado do Rio de Janeiro, Brasil. As concentrações de PCBs variaram de 2,29 a 27,60 ng g<sup>-1</sup> ww no músculo e 3,41-34,22 ng g<sup>-1</sup> ww no fígado das três espécies estudadas. Em geral, as concentrações dos PCBs encontradas no fígado foram superiores às encontradas em amostras de músculo. O PCB 87 foi reportado como o principal congênere detectado, com uma concentração média de 34,22 ng g<sup>-1</sup> ww em amostras de corvinas. Segundo esses autores, apesar de ser considerada uma área não poluída, as concentrações

detectadas foram relativamente elevadas e sugestivas da existência de uma fonte de contaminação por PCBs no Brasil.

No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) regulamenta os limites máximos de resíduos em alimentos através do Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal – PNCRB (BRASIL, 2013). De acordo com essa legislação, os limites de referências para resíduos de PCBs estão previstos para peixes de cultivo, se referem ao somatório de todos os PCBs e estão estipulados em  $15 \mu\text{g Kg}^{-1}$ .

## 4 ARTIGO CIENTÍFICO

### 4.1 Manuscrito

Os resultados obtidos nas análises de PCBs em pescados marinhos estão contidos no manuscrito intitulado *Bifenilos Policlorados (PCBs) em pescados marinhos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil*.

O artigo está em revisão pelos autores para submissão ao periódico Food and Chemical Toxicology e sua estruturação segue o respectivo guia para autores, incluído como Anexo.

### **Bifenilos Policlorados em pescados marinhos (PCBs) do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil**

G.M. Pigatto <sup>a\*</sup> ; I.H. Costabeber <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, CEP 97105-900, RS, Brasil. [gipigatto@yahoo.com.br](mailto:gipigatto@yahoo.com.br)

<sup>b</sup> Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, RS, Brasil. [ijonicostabeber@gmail.com](mailto:ijonicostabeber@gmail.com)

\* Corresponding author:

Giane Magrini Pigatto

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Centro de Ciências Rurais

Universidade Federal de Santa Maria

Campus Universitário – Camobi

Santa Maria – RS

97105-900 - Brasil

e-mail: [gipigatto@yahoo.com.br](mailto:gipigatto@yahoo.com.br)

Phone / FAX: +55 55 3220 8306

## HIGHLIGHTS

The environmental contamination by PCBs indicators in the coast of Rio Grande do Sul, in Brazil, was confirmed.

All the edible marine species analyzed were contaminated by PCBs.

The highest mean concentrations were detected for PCBs 153, 138 and 138, respectively.

## Resumo

Bifenilos policlorados (PCBs) são poluentes orgânicos persistentes (POPs) com impacto em toda a cadeia alimentar. A presença de resíduos de PCBs em pescados constitui-se em ameaça à qualidade e segurança alimentar no consumo humano desses alimentos. Os níveis de onze congêneres de bifenilos policlorados (PCBs) foram avaliados em amostras de diferentes espécies de pescados coletados em duas cidades do litoral do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, para avaliar a possível contaminação em seis espécies marinhas disponibilizadas para consumo pela população. Os resultados obtidos confirmam a ocorrência de contaminação por PCBs em todas as espécies analisadas. A quantificação dos compostos em estudo indicou que os pescados estavam contaminados por congêneres de PCBs no seguinte ranking de suas respectivas concentrações médias expressas em ng/g de gordura: PCB 153 (184,36 ng/g) > PCB 138 (159,27 ng/g) > PCB 118 (98,16 ng/g) > PCB 180 (69,04 ng/g) > PCB 101 (32,99 ng/g) > PCB 77( 12,95 ng/g) > PCBs 81 (4,97 ng/g) > PCB 126 (4,49 ng/g) > PCB 169 (2,08 ng/g). Os PCBs 28 e 52 não foram detectados. Confirmou-se a contaminação por 9 dos 11 PCBs investigados nas seis espécies de pescados analisadas. Sugere-se a consideração dos dados obtidos como indicativos da contaminação ambiental nessa região, com possíveis impactos na qualidade e segurança alimentar dos pescados de consumo, bem como a necessidade de adequação da legislação brasileira sobre o tema.

**Palavras-chave:** Bifenilos policlorados; Poluentes orgânicos persistentes, Peixes marinhos, Contaminação, Brasil.

## 1. Introdução

Os bifenilos policlorados (PCBs), os quais se classificam como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), integram uma classe de compostos químicos sintéticos com variado grau de cloração nas suas moléculas, existindo 209 possíveis congêneres de PCBs (Buther & Denker, 1995; Unep 2001, Storelli et al. 2003). Esses compostos começaram a ser utilizados em 1929, pois devido às suas propriedades isolantes eram substâncias ideais como fluidos refrigerantes e isolantes nos transformadores e capacitores. Os PCBs foram também utilizados em

sistemas hidráulicos e em produtos tais como plastificantes, borrachas, tintas, ceras etc. Sua produção está descontinuada na maioria dos países, porém uma grande quantidade destes compostos ainda está em uso em transformadores e capacitores (Unep, 2001).

PCBs caracterizam-se como compostos orgânicos lipofílicos cuja origem vem de muitas fontes diferentes; são poluentes ambientais onipresentes e persistentes, com um potencial de toxicidade bem conhecido (Domingo & Bocio, 2007). Os PCBs possuem ações teratogênicas e carcinogênicas; sobre sistemas reprodutor, enzimático e endócrino, além de provocarem alterações cutâneas, imunotóxicas e neurotóxicas (Costabeber & Emanuelli, 2003).

Devido ao fato de que a mais importante via de exposição humana aos PCBs está na ingestão de alimentos contaminados, muitos estudos tem sido realizados para detectar os níveis de contaminação dos alimentos. O maior número de pesquisas concentra-se nos países que foram fabricantes de PCBs, como Itália, Alemanha, Japão, Estados Unidos, além dos locais com ocorrência de acidentes ambientais com esses materiais (Mohr & Costabeber, 2012). As principais fontes de consumo desses poluentes orgânicos são apontadas como os alimentos de origem animal contendo gordura, incluindo-se peixes e outros frutos do mar (Domingo & Bocio, 2007, Meng et al. 2007). Destaca-se que o Brasil nunca produziu PCBs, mas os importou, especialmente da Alemanha e Estados Unidos, até o ano de 1981, quando essa comercialização foi proibida no país (Penteado & Vaz, 2001).

O Brasil possui poucos trabalhos com dados sobre a contaminação por PCBs em pescados de consumo, mas assume destacada posição pelo seu potencial produtivo apontado pela FAO, de que possa produzir até 20 milhões de toneladas ao ano de pescados. Assim, também no Brasil, devido às frequentes recomendações de saúde relativas ao consumo de peixes, determinar a contribuição para a ingestão de contaminantes químicos como os PCBs, através do consumo de peixes e outros frutos do mar tornou-se uma questão de interesse especial. (Domingo & Bocio, 2007). O objetivo desse trabalho foi investigar a possível contaminação por 11 congêneres individuais de PCBs (28, 52, 77, 81 101, 118, 126, 138, 153, 169 e 180) em amostras *in natura* de diferentes espécies de pescados do litoral do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, disponibilizadas para consumo.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Materiais

Padrões individuais dos PCBs 28 (2,4,4'-triclorobifenil), 52 (2,2',5,5'-tetraclorobifenil), 77 (3,3',4,4'-tetraclorobifenil), 81 (3,4,4',5-tetraclorobifenil), 101 (2,2',4,5,5'-pentaclorobifenil), 118 (2,3',4,4',5-pentaclorobifenil), 126 (3,3',4,4',5-pentaclorobifenil), 138 (2,2',3,4,4',5'-hexaclorobifenil), 153 (2,2',4,4',5,5'-hexaclorobifenil), 169 (3,3',4,4',5-pentaclorobifenil) e 180 (2,2',3,4,4',5,5'-heptaclorobifenil) foram obtidos de AccuStandard, Inc. (New Haven, USA). Éter de petróleo e diclorometano grau resíduo para a análise de pesticidas, sulfato de sódio anidro, ácido sulfúrico, clorofórmio e metanol foram obtidos de Vetec Química Fina Ltda (Duque de Caxias, RJ, Brasil). *n*-Hexano grau resíduo para análise de pesticidas foi obtido de Mallinckrodt Baker, Inc. (NJ, USA). Sulfato de sódio anidro para análise de resíduos de pesticidas foi obtido de Sigma-Aldrich, Co. (St. Louis, USA). Silica gel 60 (70-230 mesh) foi obtida de Merck KGaA (Darmstadt, Germany).

### 2.2. Amostras

Um total de 60 amostras de pescados procedentes de captura no Oceano Atlântico foram analisadas e se referem a peixes marinhos frequentemente disponibilizados para consumo pela população. Esses pescados, ainda frescos, foram obtidos comercialmente entre maio e julho de 2012, nos municípios de Tramandaí e Rio Grande, localizados, respectivamente, no litoral norte (LN) e litoral sul (LS) do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Fig.1). As amostras foram coletadas individualmente e, logo na sequência, devidamente identificadas e acondicionadas em congelador a -20°C até o momento das análises (Tabela 1).

### 2.3. Análises de PCBs

A extração da fração lipídica das amostras foi realizada conforme descrito por Waliszewski et al. (1997), com algumas modificações. Adicionou-se sulfato de sódio

anidro a aproximadamente 50 gramas de cada amostra de pescado triturado (tecido muscular) até obter-se uma mistura seca. A seguir, a mesma foi transferida para uma coluna e eluída com éter de petróleo (120ml). O solvente foi evaporado sob vácuo e a gordura extraída foi transferida para um frasco de vidro e mantida a -20°C até o momento das análises. A extração dos PCBs foi realizada seguindo a metodologia descrita por Storelli et al. (2010). Uma alíquota de 100mg de gordura foi dissolvida em *n*-hexano e transferida para uma coluna cromatográfica contendo 8 g de sílica gel acidificada (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 44%, w/w), sendo então eluída com 50ml de uma mistura hexano/diclorometano (1/1, v/v) para purificação dos analitos, os quais foram recolhidos em balão de rotaevaporador. Após evaporação e concentração, o extrato foi reconstituído com *n*-hexano e utilizado para determinação dos PCBs em um cromatógrafo gasoso Agilent Technologies modelo 6890N dotado de um microdetector de captura de elétrons <sup>63</sup>Ni (μDCE). Uma coluna HP-5 de sílica fundida (cross linked 5% fenil metil siloxane gum, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 μm de espessura) foi empregada. As condições de operação foram: injetor 280 °C, detector 320 °C, temperatura do forno foi mantida a 60 °C por 5 min, aumentada até 190 °C a 30 °C/min e mantida por 5 min, após aumentando até 220 °C a 5 °C/min por 5min, finalmente aquecendo até 300 °C a 20 °C/min permanecendo por 1,67 min. O gás utilizado foi o hélio, a um fluxo na coluna de 1,5 mL/min. Todas as amostras foram analisadas em duplicada e os resultados representam a média aritmética. Uma mistura de congêneres específicos de PCBs foi utilizada para a calibração e recuperação. As médias das recuperações ficaram entre 71,39 e 109,51%. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram, respectivamente, de 1 ng/g e de 5 ng/g de gordura de pescado para todos os PCBs. A confirmação dos resultados obtidos foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplado à espectrometria de massas (GC/MS), marca Agilent Technologies, modelo 6890N. Para obtenção dos teores de lipídios totais dos pescados analisados, empregou-se a metodologia de Bligh e Dyer (1959).

#### **2.4. Análises Estatísticas**

Os dados foram analisados pelo software Statistica® 7.0. Efetuaram-se as médias das frequências de determinação e concentrações dos congêneres de PCBs

nas amostras dos pescados analisados, e aplicou-se o teste Kolmogorov-Smirnov para comparar as duas regiões de coleta. Para as concentrações de PCBs entre as espécies aplicou-se o teste Kruskai-Wallis ANOVA. As médias das gorduras por espécie de pescado foram estabelecidas pelo ANOVA entre as espécies, seguido do teste de Tukey. As diferenças foram consideradas com no mínimo de  $p \leq 0,05$  de significância.

### 3. Resultados e Discussão

A frequência de determinação e concentração média de PCBs encontradas nas amostras de pescados analisadas encontram-se na Tabela 2. Os 11 PCBs investigados não foram encontrados em todas as amostras analisadas, sendo que os PCBs 28 e 52 não foram detectados. O PCB 153 foi encontrado em 98,33% das amostras analisadas, seguido pelos PCBs 138 e 180 encontrados em 95% das amostras, pelo PCB 118 encontrado em 93,33% das amostras, pelo PCB 101 encontrado em 60% das amostras, pelo PCB 77 e PCB 81, encontrados em 33,33% e 31,67% das amostras, respectivamente. PCBs 126 e 169 foram encontrados em menores frequências, 18,33% e 15%, respectivamente. Os valores referentes às concentrações médias dos compostos analisados são apresentados em ng/g de gordura de pescados. Os congêneres individuais encontrados nas maiores concentrações médias foram o PCB 153 (184,36 ng/g de gordura), seguido pelo PCB 138 (159,27 ng/g de gordura), PCB 118 (98,16 ng/g de gordura), PCB 180 (69,04 ng/g de gordura), PCB 101 (32,99 ng/g de gordura) e PCB 77 (12,95 ng/g de gordura). Os PCBs 81, 126 e 169 foram encontrados nas menores concentrações (4,97 ng/g, 4,49 ng/g e 2,08 ng/g de gordura, respectivamente).

Dentre as amostras dos diferentes pescados marinhos analisados, a maior frequência ocorreu na determinação dos PCBs 153, 138, 180, 118 e 101, os quais, juntamente com os PCBs 28 e 52 caracterizam-se como os chamados “sete indicadores”, e confirmou a contaminação ambiental no litoral do Estado do Rio Grande Sul, localizado no extremo sul do Brasil. Esses PCBs indicadores tem sido associados à maior parte da contaminação ambiental por PCBs existente no mundo (WHO, 1993) e detectados em diferentes organismos marinhos de diversas regiões do mundo (Mormede & Davis, 2003; Storelli et al. 2010; Liu et al., 2011; Asante et

al., 2013). No Brasil, contribuiu para a confirmação da contaminação ambiental por esses congêneres, o fato do PCB 153 ter sido o composto mais detectado em amostras de tecido muscular de tubarões azuis e peixes espada da costa brasileira, seguidos pelos PCBs 138 e 180 (Silva et al. 2007).

No presente estudo, a maior frequência na determinação dos PCBs 153, 138, 180, 118 e 101 nas amostras de pescados analisadas comprovam que os congêneres mais clorados são também os mais persistentes e os mais detectados também nas amostras de pescados destinadas ao consumo humano. Esses dados e as concentrações obtidas para os congêneres de PCBs analisados estão de acordo com outros estudos (Bayarri, et al. 2001; Storelli et al. 2003; Storelli et al. 2011; Baptista et al. 2013), os quais detectaram as maiores concentrações dos congêneres 138, 153 e 180 em peixes de diferentes espécies.

A tabela 3 apresenta a concentração média de PCBs encontrados nas amostras analisadas, considerando-se suas respectivas regiões de procedência no litoral do Estado do Rio Grande do Sul. Foram analisadas 31 amostras provenientes da cidade de Tramandaí, no litoral norte do Estado, e 29 amostras provenientes da cidade de Rio Grande, localizada no litoral sul do Estado. Comparando-se as duas regiões de coleta, pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, somente o PCB 81 teve diferença significativa, sendo detectado em concentração média de 3,30 ng/g de gordura nas amostras do litoral norte e 6,75 ng/g de gordura nos pescados do litoral sul do Estado.

Analisando-se a distribuição dos PCBs nas amostras de pescados coletados nas duas cidades do litoral do Estado Rio Grande do Sul, destaca-se que as mesmas possuem, entre si, uma distância geográfica de 429km. Além disso, Rio Grande, no litoral Sul, é uma cidade portuária e industrializada. A detecção de cinco dos sete PCBs indicadores analisados, confirmou a contaminação ambiental nos dois pontos de coleta das amostras de pescados disponibilizados para consumo no litoral do Estado do Rio Grande do Sul, pelos mesmos congêneres. A única diferença significativa entre as regiões foi atribuída ao PCB 81, detectado em maior concentração média nas amostras de pescados do litoral sul. Este PCB se caracteriza como um análogo das dioxinas (DL-PCB) e, por isso, sua detecção em peixes destinados ao consumo humano assume maior interesse por suas propriedades toxicológicas, além da sua caracterização como poluente orgânico persistente.

A representação gráfica das concentrações médias de PCBs em seis espécies de pescados marinhos disponibilizados para consumo pela população, estão apresentados e expressos em ng/g de gordura (Fig 2). Com exceção do PCB 126 e dos que não foram detectados (PCBs 28 e 52), todas as espécies de pescados marinhos analisadas diferiram entre si para todos os demais PCBs. Somente o PCB 138 teve significância  $\leq 0,05$  e todos os demais tiveram significância  $\leq 0,01$ . As anchovas apresentaram as maiores concentrações médias para o PCB 101 (59,90 ng/g de gordura), para o PCB 81 (14,29 ng/g de gordura), para o PCB 153 (260,56 ng/g de gordura), para o PCB 138 (242,57 ng/g de gordura) e para o PCB 180 (114,62 ng/g de gordura). Os bagres apresentaram as maiores concentrações médias para os demais PCBs analisados, o que se refere ao PCB 77 (36,35 ng/g de gordura), PCB 118 (242,40 ng/g de gordura), PCB 126 (11,88 ng/g de gordura) e ao PCB 169 (6,50 ng/g de gordura).

Dados obtidos na análise das concentrações médias dos congêneres de PCBs em estudo nas seis espécies de pescados marinhos analisados confirmaram diferenças nos níveis de contaminação dessas espécies. Essa variação entre os níveis de poluentes foi mencionada por Storelli et al. (2003), como decorrente da interação organismo sedimento. Segundo esses autores, organismos que vivem em estreita relação com os sedimentos, são expostos à PCBs sedimentares através de várias vias, tais como o contato direto com o sedimento, a respiração de água intersticial e por ingestão incidental de sedimentos. No entanto, a exposição dos peixes aos contaminantes, por via alimentar, foi indicada como predominante para a maioria das espécies (Burreau et al., 2004).

Em estudo realizado por STORELLI et al. (2003), no Mar Adriático, os congêneres individuais de PCBs analisados foram: 8, 20, 28, 35, 52, 60, 77, 101, 105, 118, 126, 138, 153, 156, 169, 180 e 209. Os valores encontrados para estes compostos estavam entre 32 e 235 ng/g de gordura para pescado bentônico, e entre 17 e 57 ng/g para pescado oceânico, sendo que os congêneres 28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180 foram os mais abundantes. Esses dados estão em acordo com os resultados obtidos no presente estudo, onde os bagres, espécie caracterizada como bentônica apresentou contaminação para cinco desses congêneres. As concentrações desses poluentes são apontadas como dependentes, basicamente, do ambiente em que as respectivas espécies são capturadas (Domingo & Bocio, 2007). Nesse sentido, esses autores indicam que alguns grupos da população, os

quais freqüentemente consomem grandes quantidades de certas espécies de pescados, podem aumentar significativamente os riscos de saúde pela exposição aos PCBs.

Os teores de gordura médio, por espécie analisada, indicaram o seguinte ranking: anchovas (5,64%) > tainhas (4,46%) > bagres (3,23%) > corvinas (1,87%) > sardinhas (1,63%) > peixe-rei (1,45%).

As análises referentes às concentrações médias de PCBs em tainhas, anchovas e bagres, espécies com maior percentual médio de gordura dentre as amostras analisadas, considerando-se as amostras dessas espécies coletadas no litoral norte e litoral sul estado do Rio Grande do Sul, são apresentadas, respectivamente, na figura 3 (A) e (B). Com base na estatística, aponta-se que as tainhas do litoral norte apresentaram maior contaminação pelo PCB 77 (média de 14,31ng/g de gordura) do que as do litoral sul (média de 0,50 ng/g de gordura). Os bagres do litoral sul apresentaram maior contaminação para os pcbs 81 (9,44 ng/g de gordura), 138 (263,65ng/g) e 180 (140 ng/g de gordura) do que os do litoral norte que, para esses congêneres, apresentaram concentrações médias de 0,5 ng/g de gordura, 107,34 ng/g de gordura e 34,59 ng/g de gordura, respectivamente. As anchovas do litoral norte e sul não diferiram significativamente entre si para nenhum dos PCBs.

Por terem sido as espécies com maiores percentuais médios de gordura desse estudo identificadas como as mais contaminadas pelos congêneres investigados, destaca-se as colocações de outros autores, os quais associaram o fato de que espécies com mais alto teor em lipídios apresentaram-se com a mais alta contaminação por PCBs (Coelhan et al., 2006; Trocino et al., 2009).

## **5. Conclusões**

Confirmou-se a contaminação por 9 dos 11 congêneres de PCBs investigados em seis espécies de peixes de consumo procedentes do litoral do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Os dados obtidos são indicativos da contaminação ambiental nessa região e sugere-se sua consideração como um fator de impacto na qualidade e segurança alimentar dos pescados de consumo, bem como a necessidade de adequação da legislação brasileira sobre o tema.

## Referências

- ASANTE, K.A.; TAKAHASHI, S.; ITAI, T.; ISOBE, T.; DEVANATHAN, G.; MUTO, M.; AGYAKWAH, S. K.; ADU-KUMI, S.; SUBRAMANIAN, A.; TANABE, S. Occurrence of halogenated contaminants in inland and coastal fish from Ghana: Levels, dietary exposure assessment and human health implications. **Ecotoxicology and environmental Safety**. 94, 123-130. 2013.
- BAPTISTA, J.; PATO, P.; PEREIRA, E.; DUARTE, A.C.; PARDAL, M. A. PCBs in the fish assemblage of a southern European estuary. **Journal of Sea Research** 76, 22–30. 2013.
- BAYARRI, S.; BALDASSARI, L. T. R.; IACOVELHA, N.; FERRARA, F.; DI DOMENICO, A.. PCDDs, PCDFs, PCBs and DDE in edible marine species from Adriatic Sea. **Chemosphere**, v.43, p.601-610, 2001.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry**, v.37, p.911-917, 1959.
- BÜTHER, A.; DENKER, E. Qualitative and Quantitative Determination of PCB Congeners By Using A HT-5 Column and an Efficient Quadrupole MS. **Chemosphere**, 30: 753-77. 1995.
- COELHAN, M.; STROHMEIER, J.; BARLAS, H. Coelhan .Organochlorine levels in edible fish from the Marmara Sea, Turkey. **Environ.Int.** V.32,775–780. 2006.
- COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Aspectos toxicológicos de los bifenilos policlorados: una recopilación. **Bol. BCTA**, Campinas, v.37(Supl.), p.1-10, dez., 2003.
- DOMINGO, J.L.; BOCIO, A.; Levels of PCDD/PCDFs and PCBs in edible marine species and human intake: A literatura review. **Environment International**. 33, 397-405. 2007.
- LIU, Y.; LI, J.; ZHAO, Y.; WEN, S.; HUANG, F.; WU, Y. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and indicator polychlorinated biphenyls (PCBs) in marine fish from four areas of China. **Chemosphere** 83. 168–174. 2011.
- MENG, X. Z., ZENG, E., YU, L. P., MAI, B. X., LUO, X. J., & RAN, Y. (2007). Persistent halogenated hydrocarbons in consumer fish of china: Regional and global implications for human exposure. **Environmental Science & Technology**, 41, 1821–1827
- MOHR, S.; COSTABEBER, I.H. Aspectos Toxicológicos e ocorrência dos bifenilos policlorados em alimentos. **Ciência Rural**. V.42, n.3. mar, 2012.
- PENTEADO, J.C.P., MOREIRA VAZ, J. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova** 24, 390-398, 2001.

SILVA, C.E.A.; AZEREDO, A.; LAILSON-BRITO, J.; TORRES, J.P.M.; MALM, O. Polychlorinated biphenyls and DDT in swordfish (*Xiphias gladius*) and blue shark (*Prionace glauca*) from Brazilian Coast. **Chemosphere**. 67. 548-553. 2007.

STORELLI, M.M.; GIACOMINELLI-STUFFER, R.; STORELLI, A., MARCOTRIGIANO, G.O. Polychlorinated biphenyls in seafood: contamination levels and human dietary exposure. **Food Chemistry**. V. 82. 491-496. 2003.

STORELLI, M.M., PERRONE, V.G. Detection and quantitative analysis of organochlorine compounds (PCBs and DDTs) in deep sea fish liver from Mediterranean Sea. **Environmental Science and Pollution Research International**, v.17, p.968-976, 2010.

STORELLI, M.M., BARONE, G., PERRONE, V.G., GIACOMINELLI-STUFFER, R. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxin and furans (PCDD/Fs): Occurrence in fishery products and dietary intake. **Food Chemistry**. V. 127, p. 1648-1652. 2011.

TROCINO, A.; MAJOLINI, D., XICCATO, PCBs contamination in farmed European sea bass from different Italian rearing systems. **Chemosphere**. 76,250–254. 2009

UNEP. United Nations Environmental Programme. **Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants**, 2001.

WALISZEWSKI, S.M., PARDÍO, V. T., WALISZEWSKI, K.N., CHANTIRI, J.N., AGUIRRE, A.A., INFANZÓN, R.M., RIVERA, J., 1997. Organochlorine pesticide residues in cow's milk and butter in Mexico. *The Science of the Total Environment* 208, 127-132.

WHO/PCBs (World Health Organization), **Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls, second ed. WHO**, Geneva, 1993.

Figura 1

Disposição dos locais de amostragem. As amostras de pescados foram obtidas no litoral norte e litoral sul do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

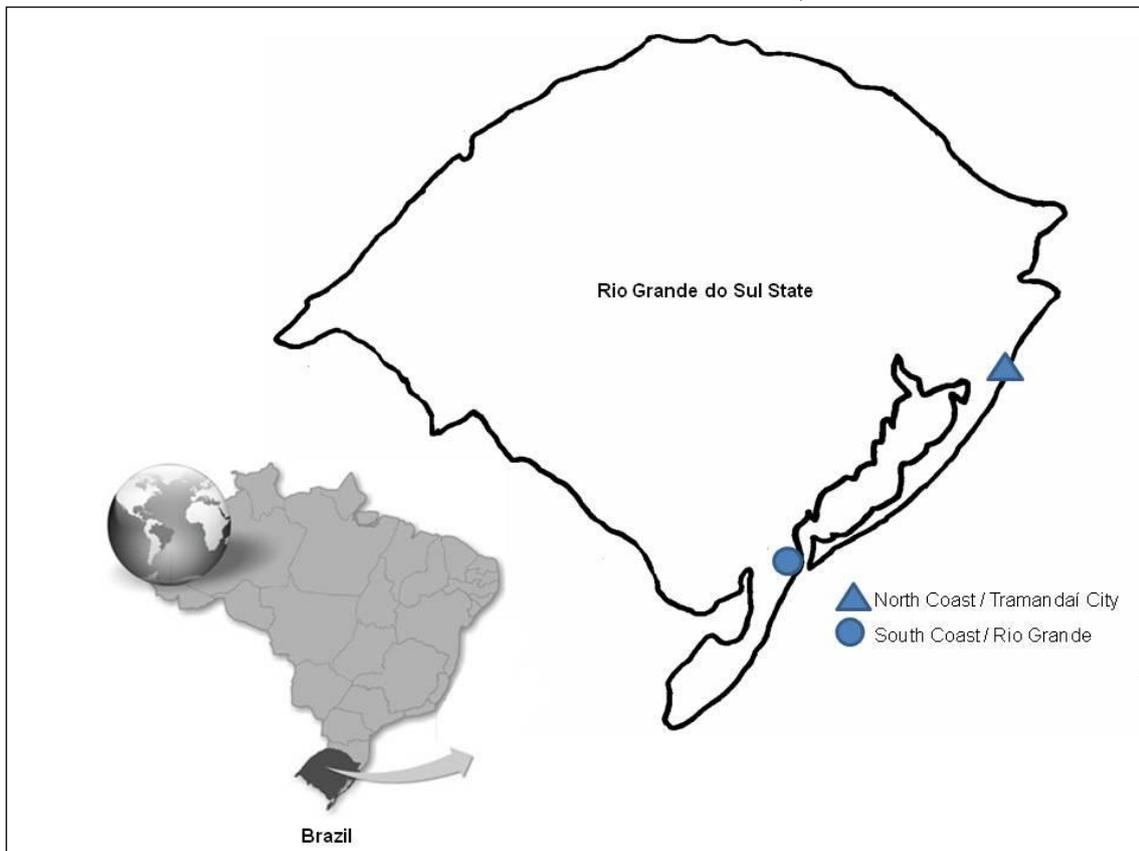


Figura 2  
Concentrações de PCBs (média e desvio-padrão) em ng/g de gordura de pescados dos litorais norte e sul do estado do RS.

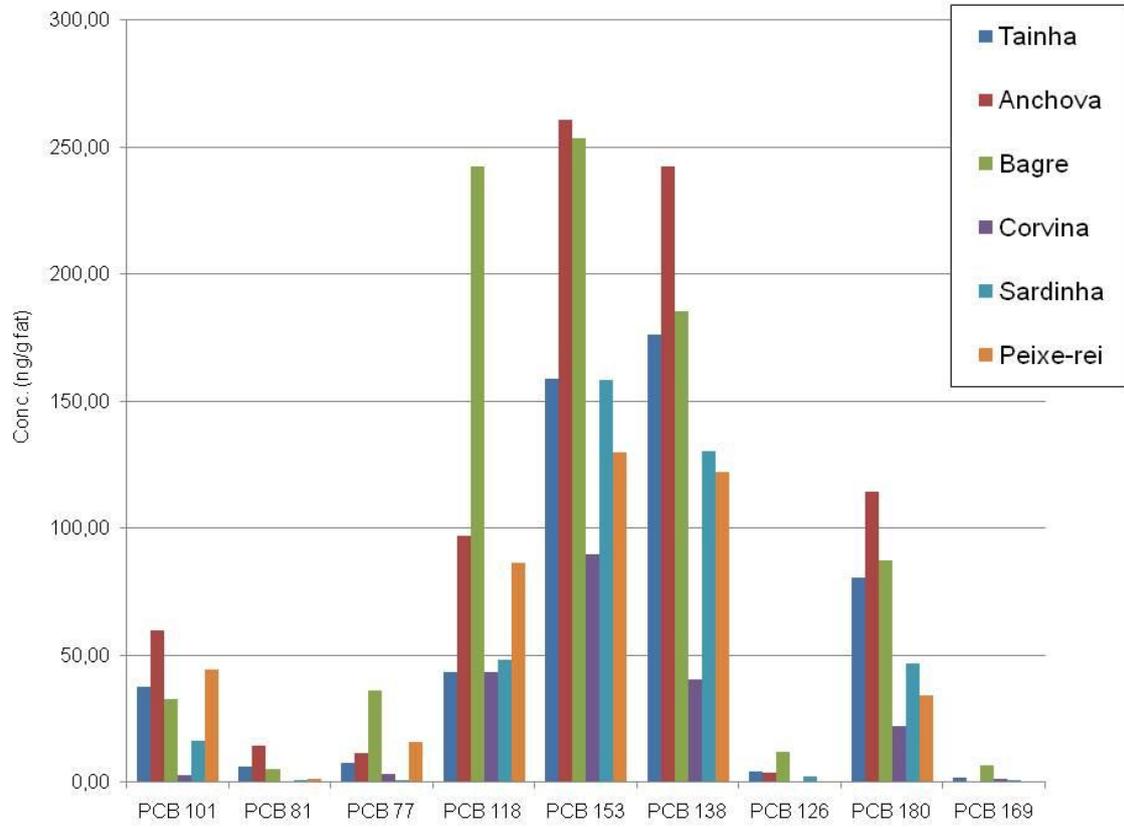


Figura 3 (A)  
Concentrações de PCBs (média e desvio-padrão) em ng/g de gordura de tainhas, anchovas e bagres do litoral norte (LN) do RS.

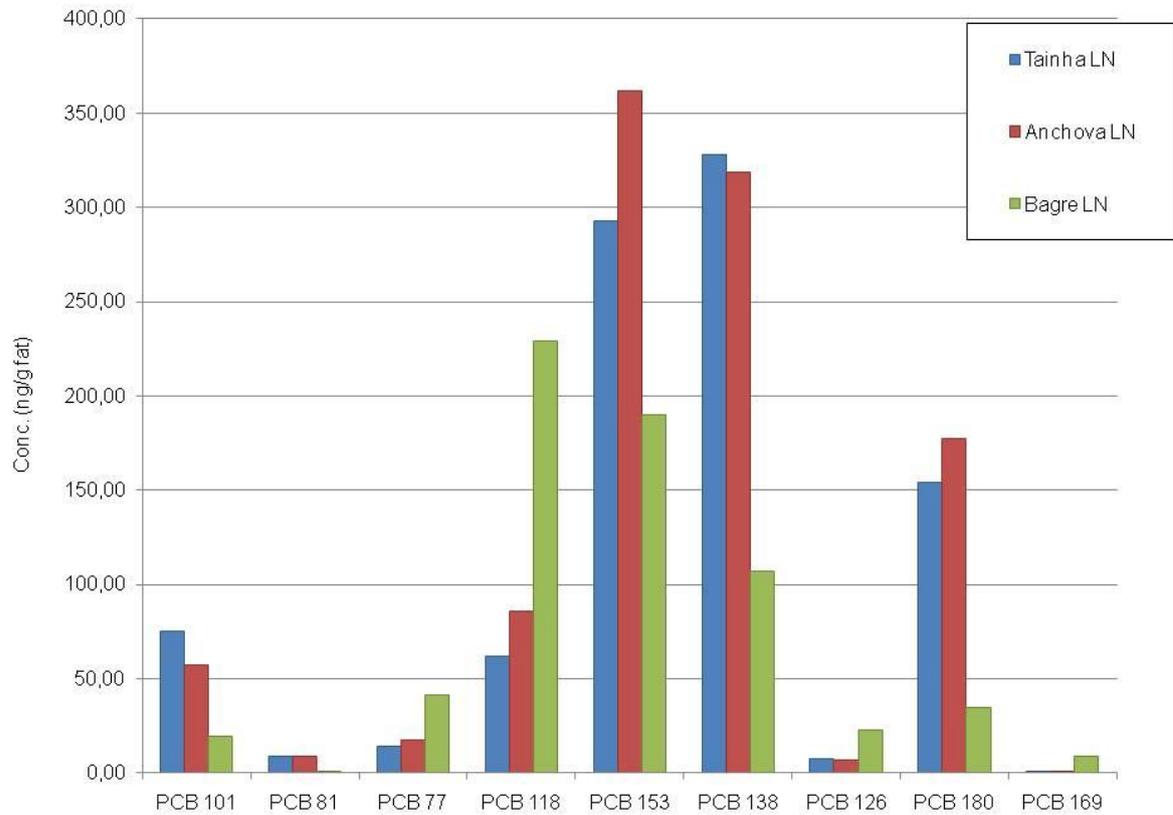


Figura 3 (B)

Concentrações de PCBs (média e desvio-padrão) em ng/g de gordura de tainhas, anchovas e bagres do Litoral Sul (LS) do Rio Grande do Sul.

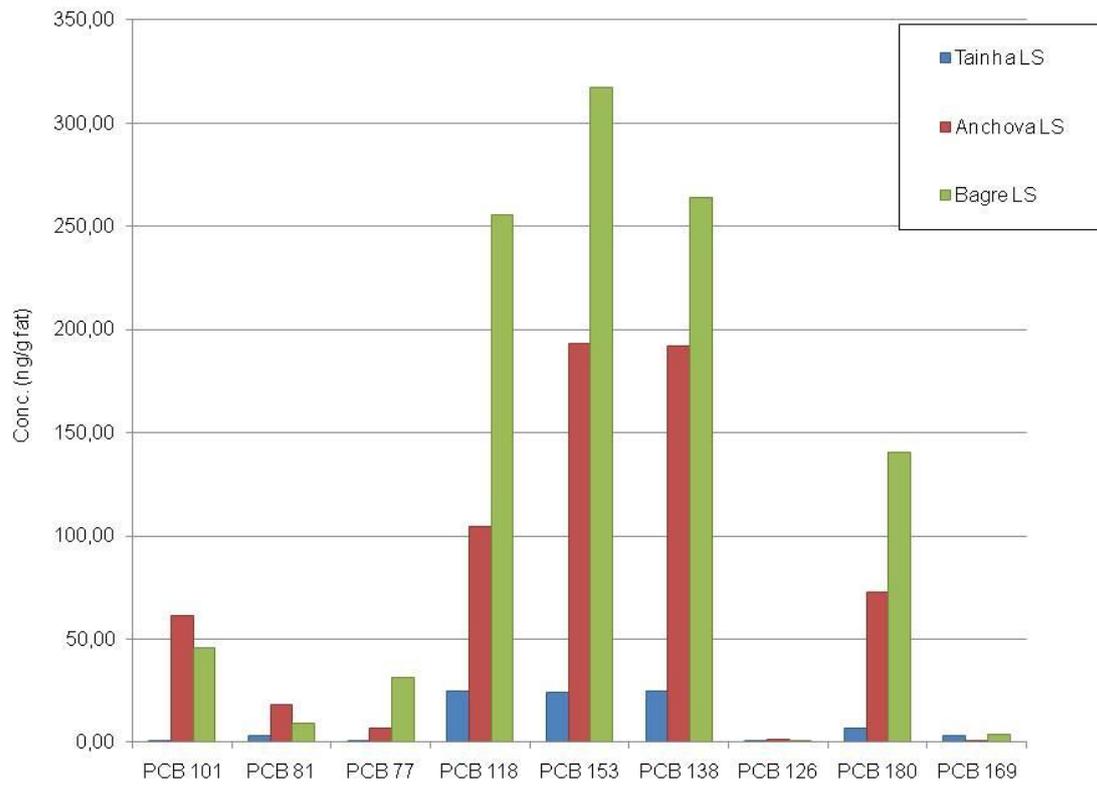


Tabela 1  
Informações sobre as amostras coletadas

Nome comum	Nome científico	Família	Número total de amostras da espécie	Número de amostras por região de coleta <sup>a</sup>	Habitat marinho
Tainha	<i>Mugil</i> spp.	Mugilidae	12	6 (LN) e 6 (LS)	Pelágico
Anchova	<i>Pomatomus saltatrix</i>	Pomatomidae	10	4 (LN) e 6 (LS)	Pelágico
Bagre	<i>Arius</i> spp.	Ariidae	12	6 (LN) e 6 (LS)	Bentônico
Corvina	<i>Micropogonias furnieri</i>	Sciaenidae	6	2 (LN) e 4 (LS)	Nectônico demersal
Sardinha	<i>Sardinella brasiliensis</i>	Clupeidae	13 <sup>b</sup>	13 (LN)	Pelágico
Peixe-rei	<i>Odontesthes bonariensis</i>	Atherinidae	7 <sup>c</sup>	7 (LS)	Pelágico

<sup>a</sup> LN se refere a amostras coletadas no litoral norte e LS se refere a amostras coletadas no litoral sul, ambos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>b</sup> Amostras de *Sardinella brasiliensis* foram analisadas em 13 lotes, cada um deles formado pelo agrupamento de 10 unidades desse pescado, de tamanhos similares.

<sup>c</sup> Amostras de *Odontesthes bonariensis* foram analisadas em 7 lotes, cada um deles formado pelo agrupamento de 5 unidades desse pescado, de tamanhos similares.

Tabela 2

Frequência de determinação e concentração de PCBs (média, mediana, desvio-padrão, mínimo e máximo) em ng/g de gordura de pescados (n=60)

Congêneres	$n >$ LOQ	% > LOQ	Média	Mediana	Desvio- padrão	Mínimo	Máximo
PCB 28	0	0,00%	0,50	0,50	0,00	0,50	0,50
PCB 52	0	0,00%	0,50	0,50	0,00	0,50	0,50
PCB 101	36	60%	32,99	13,98	40,90	0,50	204,74
PCB 81	19	31,67%	4,97	0,50	8,25	0,50	51,58
PCB 77	20	33,33%	12,95	0,50	33,83	0,50	183,22
PCB 118	56	93,33%	98,16	59,97	113,77	0,50	640,70
PCB 153	59	98,33%	184,36	144,13	153,31	0,50	658,20
PCB 138	57	95,00%	159,27	119,77	164,05	0,50	737,14
PCB 126	11	18,33%	4,49	0,50	17,42	0,50	133,11
PCB 180	57	95,00%	69,04	40,92	86,11	0,50	436,93
PCB 169	9	15,00%	2,08	0,50	3,96	0,50	17,71

$n$  = Número de amostras. Valores entre LOD e LOQ foram considerados como LOQ/2 e valores abaixo do LOD foram considerados como LOD/2 para o cálculo da média e mediana. LOD: 1ng/g de gordura de pescado; LOQ: 5 ng/g de gordura de pescado.

Tabela 3

Concentrações de PCBs (média e desvio-padrão) em ng/g de gordura de pescados dos litorais norte e sul do estado do Rio Grande do Sul

Congênera	Litoral Norte (n=31)		Litoral Sul (n=29)	
	Média	Mediana	Média	Mediana
PCB 28	0,50	0,00	0,50	0,00
PCB 52	0,50	0,00	0,50	0,00
PCB 101	32,52	47,13	33,50	33,82
PCB 81	3,30	5,81	6,75	10,05
PCB 77	13,85	34,12	11,99	34,10
PCB 118	89,71	122,29	107,19	105,30
PCB 153	212,84	172,62	153,92	125,47
PCB 138	181,20	201,36	135,83	110,29
PCB 126	7,91	23,87	0,83	1,42
PCB 180	79,86	105,38	57,48	58,79
PCB 169	2,40	4,61	1,74	3,17

*n* = Número de amostras. Valores entre LOD e LOQ foram considerados como LOQ/2 e valores abaixo do LOD foram considerados como LOD/2 para o cálculo da média e mediana. LOD: 1ng/g de gordura de pescado; LOQ: 5 ng/g de gordura de pescado.

\*  $p \leq 0,05$

## 5 CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- A ocorrência de contaminação por PCBs foi confirmada em todas as espécies de pescados analisadas nesse estudo e coletadas no litoral do Estado do Rio Grande do Sul.
- Os PCBs investigados não foram encontrados em todas as amostras analisadas e a frequência de determinação dos congêneres nas amostras de pescados foi encontrada de acordo com o seguinte ranking: PCB 153 (98,33%) > PCBs 138 e 180 (95% para cada um) > PCB 118 (93,33%) > PCB 101 (60%) > PCB 77 (33,33%) > PCB 81 (31, 67%) > PCBs 126 (18,33%) > 169 (15%). Os PCBs 28 e 52 não foram detectados.
- A quantificação dos compostos em estudo indicou que os pescados estavam contaminados por congêneres de PCBs no seguinte ranking de suas respectivas concentrações médias expressas em ng/g de gordura: PCB 153 (184,36 ng/g) > PCB 138 (159,27 ng/g) > PCB 118 (98,16 ng/g) > PCB 180 (69,04 ng/g) > PCB 101 (32,99 ng/g) > PCB 77( 12,95 ng/g) > PCBs 81 (4,97 ng/g) > PCB 126 (4,49 ng/g) > PCB 169 (2,08 ng/g).
- Ao comparar os níveis de PCBs detectados nas amostras de pescado *in natura* obtidas no litoral norte e no litoral sul do Rio Grande do Sul somente o PCB 81 teve diferença significativa entre as regiões onde foi detectado. Assim, foi possível determinar que as regiões do litoral (norte e sul) do Rio Grande do Sul estão contaminadas por cinco dos sete PCBs indicadores.
- A análise entre os níveis das concentrações médias detectadas para as diferentes espécies de pescados evidenciou, de modo geral, que as anchovas, tainhas e bagres, respectivamente, espécies com os maiores teores médios de gordura determinados, foram também as mais contaminadas pelos PCBs 118, 153, 138 e 180. Ressalta-se que as amostras foram coletadas aleatoriamente, diferindo em tamanhos, pesos e mês de captura.
- Sugere-se que os dados obtidos podem ser considerados como indicativos da contaminação ambiental por PCBs no litoral do RS, com possíveis impactos na qualidade e segurança alimentar dos pescados de consumo.

- Sugere-se, também, a continuidade nas pesquisas sobre a determinação de poluentes persistentes, como os PCBs, em pescados destinados ao consumo humano no Brasil. Isto pode ser útil como subsídio às autoridades sanitárias, pois, identifica-se a necessidade da elaboração de políticas públicas de controle da contaminação ambiental pelos PCBs em nosso país, especialmente de modo a cumprir as recomendações da Convenção de Estocolmo. Além disso, para contribuir com a necessária adequação da legislação brasileira referente a este tema, particularmente em relação aos pescados, e como subsídio indispensável na vigilância sanitária de alimentos.

## REFERÊNCIAS

AMBICARE – Documento técnico “PCB o que são?”. Disponível em: <http://www.ambicare.com> 2005. Acesso em março de 2013.

ANGULO, R; COSTABEBER, I.; GALLEGO, M.C.; SERRANO, S. and JODRAL, M. Clean-up distillation: critical points in the organochlorine residue analysis. **1<sup>st</sup> European Pesticide Residue Workshop**. Alkmaar-Netherlands. June 10-12, 1996: P-059.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. **Biotecnologia Industrial**. Vol 4. São Paulo: Blucher, 2001.

AZEVEDO e SILVA, C. E.; TORRES, J. P. M.; MALM, O.. Toxicologia das bifenilas policloradas. **Oecologia Brasiliensis – Ecologia de micro-poluente e metais pesados**, v.11, n.2, p.179-187, 2007.

BAPTISTA, J.; PATO. P.; PEREIRA, E.; DUARTE, A.C.; PARDAL, M. A. PCBs in the fish assemblage of a southern European estuary. **Journal of Sea Research** 76, 22–30. 2013.

BINELLI, A.; PROVINI, A. POPs in edible clams from different Italian and European markets and possible human health risk. **Marine Pollution Bulletin**, v.46, n.7, p.879-886, 2003.

BORJA, J.; TALEON, D. M.; AURESENIA, J.; GALLARDO, S. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. **Process Biochemistry**, v.40, p.1999-2013, 2005.

BRASIL. Portaria Interministerial N° 19, de 29 de janeiro de 1981. Disponível em: <<http://www.ipef.br/legislacao/bdlegislacao/detalhes.asp?Id=235>>. Acesso em: 5 out. 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. 2010**. Disponível em: <[http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes\\_e\\_Estatisticas/Boletim%20Estat%C3%A9stico%20MPA%202010.pdf](http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%C3%A9stico%20MPA%202010.pdf)> Acesso em 18 jul 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 17 de 29 de maio de 2013.

BROCHARDT, V. Construindo o conceito de segurança alimentar. Disponível em: <<http://www.rts.org.br/noticias/destaque-4/construindo-o-conceito-de-seguranca-alimentar-e-nutricional>>. Acesso em: 15 dez. 2010.

CARVALHO, M.L., SANTIAGO, S., NUNES, M.L. Assessment of the essential and heavy metal content of edible fish muscle. *Anal. Bioanal. Chem.* 382, 426–432, 2005.

CASTRO GONZÁLEZ, M.I.; MÉNDEZ-ARMENTA, M. Heavy metals: implications associated to fish consumption. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 26, 263–271, 2008.

COMMISSION REGULATION (EU) N° 1259/2011 de 2 de dezembro de 2011. *Official Journal of the European Union*.

COSTABEBER, I.; ANGULO, R.; SERRANO, S.; JODRAL, M. Organochlorine residues in chicken and sheep fat. **8<sup>th</sup> Symposium on Handling of Environmental and Biological Samples in Chromatography. 26<sup>th</sup> Scientific Meeting of the Group of Chromatography and Related Techniques of the Spanish Royal Society of Chemistry**, p. 88. Almería, España, Octubre 26-29, 1997.

COSTABEBER, I.; ANGULO, R.; JODRAL, M. Resíduos organoclorados em tecido adiposo mamário y su relación con el cáncer de mama. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.33, p.506-514, 2000.

COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Influence of alimentary habits, age and occupation on polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue. **Food and Chemical Toxicology**, v.41, p.73-80, 2003.

DEKONING, E. P.; KARMAUS, W. PCB Exposure in utero and via breast milk. A review. **Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology**, 10: 285-293. 2000.

FAO – Fisheries and aquaculture department, Japan, 2009. Disponível em:<[http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_japan/en](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_japan/en)>. Acesso em: 15 set. 2012.

FERRANTE, M.C., CLAUSI, M.T., MELI, R., FUSCO, G., NACCARI, C., LUCISANO, A. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in European eel (*Anguilla Anguilla*) from the Garigliano River (Campania region, Italy). **Chemosphere**, v.78, n.6, p.709-716, 2010.

GOTO, M.; HIGUCHI, K. The symptomatology of Yusho (chlorobiphenyls poisoning) in dermatology. **Fuoka Acta Medica**, 128: 993-996, 1969.

GROTH, E. Ranking the contributions of commercial fish and shellfish varieties to mercury exposure in the United States: implications for risk communication. *Environ. Res.* 110, 226–236, 2010.

HASSAN, J.; MANAVI, P. N.; DARABI, E..Polychlorinated biphenyls hot and cold seasons distribution in sea water, sediment, and fish samples in the Khour-e-Mousa (Mah-Shahr), Iran. **Chemosphere**. V.90. p. 2488-2482. 2013.

HU, G. C., DAI, J. Y., XU, Z. C., LUO, X. J., CAO, H., WAN, J. S. Bioaccumulation behavior of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the freshwater food chain of Baiyangdian Lake, North China. **Environment International**, 36, 309–315. 2010.

JORNAL “O ESTADO DE SÃO PAULO”. Greenpeace acha substância proibida. 05/01/01. 2001.

LEDERER, J. **Enciclopédia moderna de higiene alimentar**. São Paulo, Manole, 1991.

LEVANDIER, R.; QUINETE, N.; HAUSER-DAVIS, R.A; DIAS, S.P.; TANIGUCHI, S.; MONTONE, R.; MOREIRA, I. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and Polybrominated Diphenyl ethers (PBDEs) in three fish species from an estuary in the southeastern coast of Brazil. **Chemosphere**. V. 90, 2435–2443. 2013.

MALUF, R. S. ; MENEZES, F. **Caderno “Segurança Alimentar”**. Publicado em 2000. Disponível em: <<http://www.dhnet.org.br/direitos/sos/alimentacao/tconferencias.html>> Acesso em: 20 jun. de 2013.

MAERVOET, J., COVACI, A., SCHEPENS, P., SANDAU, C.D., LETCHER, R.J. A reassessment of the nomenclature of polychlorinated biphenyl (PCB) metabolites. **Environmental Health Perspectives**, v.112, n.3, p.291-294, 2004.

MEZZETTA, S.; CIRLINI, M.; CERON, P.; TECLEANU, A.; CALIGIANI, A.; PALLA, G.; SANSEBASTIANO, G.E. Concentration on DL-PCBs in fish from market of Parma city (north Italy): Estimated human intake. **Chemosphere**. 82, p. 1293-1300. 2011.

MIAO, X.S.; SWENSON, C.; WOODWARD, L.A.; LI, Q.X. Distribution of polychlorinated biphenyls in marine species from French Frigate Shoals, North Pacific Ocean. **Science of Total Environment**. 257: (1) 17-28. 2000.

MOHR, S., SCHWANZ, T.G., WAGNER, R., SOLDATELLI, L., COSTABEBER, I.H. Determinação de bifenilos policlorados em soro de cordão umbilical através de extração por hidrólise ácida seguida de cromatografia a gás acoplada a um microdetector de captura de elétrons. **Química Nova**, v.34, 444-449, 2011.

MOHR, S.; COSTABEBER, I.H. Aspectos Toxicológicos e ocorrência dos bifenilos policlorados em alimentos. **Ciência Rural**. V.42, n.3. mar, 2012.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnología de Alimentos. Alimentos de Origen Animal**. Vol. 2. Porto Alegre, Artmed. 2005. 279 p.

PENTEADO, J.C.P., MOREIRA VAZ, J. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova** 24, 390-398, 2001.

PERELLÓ, G.; GÓMEZ-CATALÁN, J.; CASTELL, V.; LLOBET, J.M.; DOMINGO, J.L. Assessment of the temporal trend of the dietary exposure to PCDD/Fs and PCBs in Catalonia, over Spain: Health risks. **Food and Chemical Toxicology**.V. 50, p 399-408. 2012.

PORTAL BRASIL. Produção de Pescados no país cresce incentivada por políticas de fomento. Publicação: 28/03/13. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/noticias/arquivos/2013/03/28/producao-de-pescado-no-pais-cresce>> Acesso em: 25 maio 2013.

RAMOS, L. et al. Levels of polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in commercial yoghurt samples in Spain. Comparison with different dairy products. **Analytica Chimica Acta**, v.402, p.241-252, 1999a.

ROSS, G. The public health implications of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.59, n.3, p. 275-291, nov. 2004.

SAFE, S. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): Biochemistry toxicology and mechanism of action. **CRC Critical Reviews of Toxicology**, v. 13, n. 4, p. 319-395, 1984.

SAFE, S., BANDIERA, S., SAWYER, T., ROBERTSON, L., SAFE, L., PARKINSON, A., THOMAS, P.E., RYAN, D.E., REIK, L.M., LEVIN, W., DENOMME, M.A., FUJITA, T. PCBs:

Structure-function relationships and mechanism of action. **Environmental Health Perspectives**, v.60, p.47-56, 1985.

SILVA, C.E.A., TORRES, J.P.M., MALM, O. Toxicologia das bifenilas policloradas. **Oecol Bras**, v.11, n.2, p.179-187, 2007.

SZPILMAN, M. **Peixes Marinhos do Brasil: guia prático de indentificação**. Rio de Janeiro. 2000.

SOLÉ, M.; PORTE, C.; ALBAIGES, J. Hydrocarbons, PCBs and DDT in the Mediterranean deep-sea fish *Mora moro*. **Deep-sea Research I**, v.48, p. 495-513, 2001.

STEFANELLI, P.; DI MUCIO, A.; FERRARA, F.; BARBIBI, D. A.; GENERALI, T.; PELOSI, P. AMENDOLA, G.; VANNI, F.; DI MUCCIO, S.; AUSILI, A. Estimation of intake of organochlorine pesticides and chlorobiphenyls through edible fishes from the Italian Adriatic Sea during 1997. **Food Control**, 15, 27-38, 2004.

STORELLI, M.M. Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). **Food Chem. Toxicol.** 46, 2782–2788, 2008.

STORELLI, M.M., PERRONE, V.G. Detection and quantitative analysis of organochlorine compounds (PCBs and DDTs) in deep sea fish liver from Mediterranean Sea. **Environmental Science and Pollution Research International**, v.17, p.968-976, 2010.

STORELLI, M.M., BARONE, G., PERRONE, V.G., GIACOMINELLI-STUFFER, R. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxin and furans (PCDD/Fs): Occurrence in fishery products and dietary intake. **Food Chemistry**. V. 127, p. 1648-1652. 2011.

TANABE, S. PCB problems in the future: foresight from current knowledge. **Environmental Pollution**, v.50, p.5-28, 1988.

UNEP. United Nations Environmental Programme. **Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants**, 2001.

USEPA - United States Environment Protection Agency. Method 8082A – Polychlorinated Biphenyls (PCBs) by gas Chromatography. USA, 2000.

WHO/IPCs (World Health Organization), **Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls, second ed. WHO**, Geneva, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Polychlorinated Biphenyls: Human Health Aspects**. (Concise International Chemical Assessment Document 55). Geneva: World Health Organization, 2003.

WU, J. P., LUO, X. J., ZHANG, Y., YU, M., CHEN, S. J., MAI, B. X. Biomagnification of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls in a highly contaminated freshwater food web from South China. **Environmental Pollution**, 157, 904–909. 2009.

XIA, C.; LAM, J.C.W.; W, X.; XIE, Z., LAM, P.K.S. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in marine fishes from China: Levels, distribution and risk assessment. **Chemosphere** v. 89, p 944-949. 2012.

ZIEBELL, C. Porto de Rio Grande é multado em 1,5 milhão por armazenagem de produto tóxico. Disponível em: <http://www.correiodopovo.com.br/Noticias/?Noticia=125192>. Acesso em 30 mar. 2011.

## APÊNDICE

Parâmetros utilizados por GC/MS para confirmação dos resultados obtidos na análise dos PCBs.

---

Volume injetado	1 µL, modo <i>splitless</i>
Temperatura do injetor	Constante a 250 °C
Gás de arraste	Hélio, pressão inicial 13.38 psi
Fluxo	Constante a 1.5 mL min <sup>-1</sup>
Programação da rampa	60 °C (1 min), 10 °C/min até 200 °C, 5 °C/min até 225 °C, 10 °C/min até 280 °C (9.5 min)
Temperatura de transferência	Constante a 290 °C
Temperatura da fonte	Constante a 230 °C
Temperatura do quadrupolo	Constante a 150 °C
Íons selecionados	<i>m/z</i> 256 186 258 e 260 (PCB 28) <i>m/z</i> 291 220, 222, 290 (PCB 52) <i>m/z</i> 326 254, 324 e 328 (PCBs 101 e 118) <i>m/z</i> 360 290 358 e 361. (PCBs 138 e 153) <i>m/z</i> 394 324 396 e 398 (PCB 180) <i>m/z</i> 292, 290, 294, 220 (PCB 77) <i>m/z</i> 292, 290, 294, 220 (PCB 81) <i>m/z</i> 326, 328, 324, 254 (PCB 126) <i>m/z</i> 360, 362, 358, 290 (PCB 169)

---

## ANEXO

### FOOD AND CHEMICAL TOXICOLOGY – Guide for authors

#### INTRODUCTION

**Food and Chemical Toxicology (FCT)** publishes original research articles, reviews, and case reports on the toxic effects, in animals or humans, of natural or synthetic chemicals occurring in the human environment with particular emphasis on food safety, chemical safety, and other areas of consumer product safety. Research papers with a clear scientific contribution to the field of food/ chemical toxicology will be given preference in the review process. Manuscripts concerning materials/ substances of only local interest for which the chemical composition of the material/substance is not clearly defined will not be considered. In addition to these areas, papers on industrial and agricultural chemicals and pharmaceuticals are encouraged. Furthermore new areas such as safety evaluation of novel foods and ingredients and biotechnologically derived products, including nanomaterials and inter-relationships between nutrition and toxicology are encouraged. Studies should address the physiological, biochemical or pathological changes induced by specific substances, techniques for assessing potential toxicity, including molecular biology or the mode/mechanisms underlying toxic phenomena. All aspects of in vivo toxicology are covered, including systemic effects on specific organ systems, immune functions, carcinogenesis and reproductive/developmental toxicology. Papers reporting the toxicological examination of specific chemicals or consumer products are published irrespective of the positive or negative nature of the results, provided the tests and reporting meet current standards of scientific adequacy. FCT encourages submission of in vitro papers, particularly those fostering the 3 Rs.

#### *Types of paper*

The Journal's main purpose is the publication of papers reporting and interpreting original unpublished toxicological research, particularly studies promoting an understanding of the mechanisms underlying toxic effects or improvements in methods for predicting adverse effects. Papers reporting the toxicological examination of specific foods, chemicals or consumer products will be published, irrespective of the positive or negative nature of the results, provided the tests and reporting meet current standards of acceptability. In addition, Brief Communications will also be considered, as will concise interpretative Reviews of toxicological topics of contemporary significance. Letters to the Editor will be limited to comments on contributions already published in the journal; if a letter is accepted, a response (for simultaneous publication) will be invited from the authors of the original contribution. All Letters to the Editor should be submitted to the Editor in Chief, A. Wallace Hayes at the following address: [awallacehayes@comcast.net](mailto:awallacehayes@comcast.net).

#### PREPARATION

##### *Use of wordprocessing software*

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc.

When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

### **Article structure**

#### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

#### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### *Material and methods*

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

#### *Results*

Results should be clear and concise.

#### *Discussion*

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### *Conclusions*

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

### **Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### **Abstract**

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

### **Graphical abstract**

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

### **Highlights**

Please amend your research highlights so that they consist of 3 to 5 brief bullet points which convey the core findings of your work. Please ensure EACH bullet point does NOT exceed 125 characters

(including spaces). An example is given below:

RESEARCH HIGHLIGHTS EXAMPLE:

\* Research highlights are a mandatory field of a submitted paper & therefore should not exceed 125 characters including spaces.

### **Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

### **Abbreviations**

Abbreviations should be used sparingly; they should be defined when first used in the paper but also listed in alphabetical order under *Abbreviations* as a footnote to the title page (see above).

### **Acknowledgements**

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

### ***Nomenclature and units***

All measurements should be expressed in metric, preferably SI, units. Test chemicals and enzymes must be clearly identified, IUPAC and CAS names being used, wherever possible with the aid of CAS Registry and EC numbers. Pesticides should be referred to be their ISO names and human and veterinary drugs by their INNs.

### ***Database linking***

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving their readers oneclick access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <http://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

### ***Footnotes***

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

#### *Table footnotes*

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

### ***Artwork***

#### *Electronic artwork*

##### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

#### *Formats*

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following

formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

**Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

*Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

*Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

**Tables**

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

**References**

*Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and

should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

#### *Reference management software*

This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to wordprocessing packages, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below.

#### *Reference style*

*Text:* All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown ....'

*List:* References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

#### *Examples:*

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

#### *Journal abbreviations source*

Journal names should be abbreviated according to:

List of title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; NLM Catalog (Journals referenced in the NCBI Databases): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>; CAS (Chemical Abstracts Service): via <http://www.cas.org/content/references/corejournals>.

#### **Video data**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring

to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### ***AudioSlides***

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

### ***Supplementary data***

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, highresolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### ***Submission checklist***

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions

- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.