



Método multianalitos para determinação da bioacumulação e bioacessibilidade de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em pescado

  <https://doi.org/10.56238/tecavanaborda-028>

Fabiola Helena dos Santos Fogaça

Doutora em Aquicultura, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro/RJ

Pamella Talita da Silva Melo

Mestre em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

Leonardo Rocha Vidal Ramos

Doutor em Aquicultura, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ

Carlos German Massone

Doutor em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rio de Janeiro/RJ

Ana Paula de Oliveira Ribeiro

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro/RJ

Flavia dos Santos Gomes

Doutora em Ciência de Alimentos, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro/RJ

Renata Galhardo Borguini

Doutora em Saúde Pública, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro/RJ

Taina M. S. F. Inakake de Souza

Estudante de biologia, Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP/SP), São Jose do Rio Preto/SP

Renato da Silva Carreira

Doutor em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rio de Janeiro/RJ

João Paulo Machado Torres

Doutor em Biofísica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ

1 INTRODUÇÃO

O oceano costeiro engloba ecossistemas diversos, conectando entre si os rios, estuários, baías e a plataforma continental (BAUER et al., 2013). Possuem altas taxas de produção primária e secundária, grande abundância e biodiversidade de flora e fauna, e tem papel relevante no ciclo de vida de uma grande variedade de vertebrados e invertebrados aquáticos. Isso explica porque a maior parte

RESUMO

Anualmente, o meio ambiente recebe uma elevada carga de contaminantes químicos que podem ser dispersar ou bioacumular através da cadeia trófica dos ecossistemas. Em casos de acidentes com o derramamento de óleo bruto de petróleo, os efeitos são agudos e crônicos e podem ser medidos antes, durante e após a presença da mancha de óleo. Em 2019, inúmeras praias do litoral brasileiro receberam manchas de óleos, ainda de origem desconhecida. Para avaliar se a presença desse produto poderia contaminar o ambiente e seus organismos vivos, o governo financiou inúmeras pesquisas a fim de obter dados importantes e confiáveis sobre o nível de contaminação e seus riscos associados. Nossa equipe monitorou o efeito do óleo nas espécies marinhas durante (agosto de 2019) e após (setembro de 2021) o acidente. Para isso, avaliou a ocorrência de HPAs em amostras de pescado (moluscos, crustáceos e peixes) oriundas da região do Delta do Rio Paraíba utilizando um método multianalitos desenvolvido para análise de sardinhas. O método foi eficiente na determinação de 35 HPAs em amostras de mariscos, 25 HPAs em tainhas e 12 HPAs em caranguejos. Os níveis encontrados foram baixos e não representam risco associado ao consumo dessas espécies. Recomenda-se o uso desse método multianalitos para tornar as análises mais rápidas, eficientes e menos onerosas, que possam subsidiar o monitoramento da presença de HPAs em pescado após acidentes como o ocorrido em 2019, ou mesmo em áreas com elevada poluição ambiental.

Palavras-chave: Ambiente, Caranguejo, Contaminantes, Marisco, Risco, Tainha.

das populações no mundo situa-se próxima ao litoral (RUDDIMAN, 2013), influenciando direta e/ou indiretamente esses ecossistemas. O litoral Brasileiro não é diferente, possui zona costeira com mais de 500 mil km², que abriga 19 metrópoles onde vivem 45,7 milhões de pessoas (24% da população do país) (IBGE, 2017).

Aliado a esse contexto, está a produção de petróleo e gás natural extraída do subsolo marinho, concentrada nas áreas litorâneas e de mar. A instalação e operação de plataformas e dutos, trânsito de embarcações e instalações de terra interferem diretamente na zona costeira, determinando o crescimento de cidades e modificando as atividades socioeconômicas das populações locais (TAVARES, 2018). A contaminação direta de ambientes marinhos pode decorrer durante a exploração, produção, transporte, refino e consumo de petróleo e derivados, de forma crônica ou aguda (NRC, 2003), como no caso do derramamento. Há também impactos ambientais indiretos, devido a infraestrutura portuária, a produção de rejeitos domésticos e de indústrias diversas; e utilização de diversos produtos químicos (inibidores de corrosão, tintas anti-incrustantes, emulsificantes, etc.) durante o processo de produção (PATIN, 1999).

O petróleo ou óleo bruto é uma mistura complexa de ocorrência natural formada por diversos componentes orgânicos e inorgânicos; entre os compostos orgânicos, encontram-se principalmente hidrocarbonetos parafínicos, naftênicos e aromáticos (HENRIQUES, 2011). Em termos de elementos químicos, a composição varia conforme a origem, sendo que a presença de metais é de apenas 0,3%. Entre os hidrocarbonetos, há um maior interesse do ponto de vista de efeitos ambientais nos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA): formados por dois ou mais anéis benzênicos, constituídos exclusivamente por átomos de carbono e hidrogênio (NETTO et al., 2000), são contaminantes ubíquos em ambientes aquáticos, derivados de fontes petrogênicas (óleo bruto e derivados) e pirolítica (queima de combustíveis fósseis e madeira) (NRC, 2003). Alguns são classificados como poluentes orgânicos persistentes (POP) no âmbito da Comissão Europeia e dezesseis são considerados poluentes prioritários pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA, 2005). No organismo, atuam como agentes de desregulação endócrina, mutagênicos (IARC, 2010; WHO, 2013) ou de efeito sinérgico, potencializando o efeito cancerígeno de outros HPAs (HWANG et al., 2012).

A correta identificação da origem e a avaliação dos efeitos ambientais decorrentes da contaminação por hidrocarbonetos requerem análise química para quantificar compostos específicos que permitam avaliar o nível e a distribuição de contaminantes em diferentes matrizes (WANG et al., 2002), obtendo-se informações sobre o tipo e origem (natural ou antrópica) dos hidrocarbonetos, a época da sua introdução e o seu grau de intemperização, assim como o potencial de ocorrência de efeitos tóxicos sobre a biota em determinada área contaminada, que depende da bioacumulação,

biodisponibilidade do contaminante e da sua capacidade de biotransformação pelo metabolismo do organismo (DJOMO et al., 1996). Assim, enquanto mexilhões são excelentes bioindicadores da contaminação por hidrocarbonetos, os vertebrados marinhos tendem a apresentar comparativamente menores taxas de bioacumulação de HPAs em seus tecidos. Nesses casos, uma abordagem complementar para avaliação de risco ambiental é a consideração do nível de exposição dos organismos aos contaminantes de interesse. Isso pode ser realizado pela detecção e quantificação de metabólitos de HPAs, que são considerados biomarcadores de exposição ao contaminante de interesse.

Os HPAs de 2 a 6 anéis representam uma preocupação em relação à segurança alimentar no curto e médio prazo (YENDER et al., 2002). Apesar de reconhecido o potencial tóxico dos HPAs, para avaliar se há risco no consumo de pescado de áreas contaminadas por óleo é necessário estabelecer um nível de preocupação (GOHLKE et al., 2011). No Brasil, a ANVISA determina que o nível de preocupação para HPAs em pescado é de 6 µg/kg de BaP equivalente para peixes, adotando o critério de “concentrações de carcinogênicos expressos em BaP equivalente”. As doses toleráveis de ingestão são combinadas com dados de consumo de alimentos ou cenários de consumo (SCHOLL et al., 2012), para determinar o risco/benefício associado ao consumo do pescado.

No entanto, esses limites, assim como a avaliação dos riscos na ingestão do pescado em geral, são questionáveis, pois não avaliam a real quantidade de contaminantes biodisponível no alimento (MARQUES et al., 2011). A bioacessibilidade refere-se à porção do alimento que é realmente absorvida após a digestão no trato gastrointestinal (SAURA-CALIXTO et al., 2007), atingindo a circulação sistêmica e tornando-se biodisponível. A quantificação da bioacessibilidade desses compostos, tornaria as avaliações de risco/benefício mais realistas (AFONSO et al., 2015). Recentemente, estudos demonstraram que a bioacessibilidade reduziu o nível de ingestão diária de HPAs em amostras de mexilhões (FOGAÇA et al., 2018) e ostras (HONG et al., 2016). Os dados de bioacessibilidade dos compostos combinados a ferramentas estatísticas com base na Teoria Extrema Especial (EVT) (TRESSOU et al., 2004), podem inferir em avaliações simultâneas e muito mais precisas os riscos e benefícios associados ao consumo de pescado.

Assim, o presente estudo otimizou a técnica multianálitos desenvolvida para determinar a presença de HPAs em sardinha (MASSONE et al., 2021) para avaliar a ocorrência de HPAs em amostras de pescado (moluscos, crustáceos e peixes) oriundas da região do Delta do Rio Parnaíba, após o derramamento de óleo no Litoral Brasileiro em 2019, subsidiando políticas públicas e informando aos pescadores e consumidores sobre os possíveis riscos associados ao consumo do pescado daquela região. Esse estudo fez parte do projeto - Derramamento de óleo nas praias Brasileiras do NE e seu impacto nos organismos aquáticos: estudos da bioacumulação, bioacessibilidade e

avaliação de risco associado ao consumo do pescado, financiado pelo Edital Capes Entre Mares n. 26/2019.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Amostras de caranguejo uca (*Ucides cordatus* – 25 unidades), tainha (*Mugil spp.* – 25 unidades) e mariscos (*Anomalocardia brasiliiana* - 2 kg) foram adquiridas de pescadores da região do Delta do Rio Parnaíba/PI, considerando-se a estação do ano (verão). O protocolo para coleta e transporte das amostras foi baseado nos procedimentos estabelecidos pela União Europeia para seus programas de monitoramento ambiental. As amostras foram pesadas em balança digital, medidas com auxílio de um paquímetro para determinação do seu comprimento total (cm) ou largura do exoesqueleto, com identificação do sexo biológico (masculino ou feminino) para os peixes. Foi retirada a parte edível (músculo), congelada a – 80 °C para preservar a qualidade das amostras.

3 BIOACESSIBILIDADE IN VITRO DOS HPAS

A simulação da digestão in vitro foi realizada segundo o protocolo de Minekus et al. (2014) e Brodkorb et al. (2019). Na etapa oral, 5 g de amostra foram digeridas em 4,0 ml de saliva artificial, durante 2 minutos, a 37°C com agitação constante. Na fase gástrica, a digestão foi realizada em 8,5 ml de suco gástrico, em pH 3, durante 2 horas a 37°C, em banho-maria com agitação. Na fase intestinal, a digestão foi realizada pela adição de 8,5 mL do suco duodenal (pancreatina + bile) em pH 7, durante 2 horas a 37°C, em banho-maria com agitação. Após essa etapa, a amostra foi centrifugada a 4000 RPM durante 5 minutos a 4°C, a fim de separar a fração não digerida da bioacessível.

A fração bioacessível foi submetida ao método de extração para identificação e quantificação dos HPAs nas amostras antes e após a digestão, sendo calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Bio (\%)} = ([\text{PAHs}]_{\text{bio}} \times 100) / [\text{PAHs}]_{\text{amostra fresca}}$$

Onde Bio (%) é a bioacessibilidade de um composto específico, [PAH] bio é a concentração do PAH na fração bioacessível e [PAHs] amostra fresca é a concentração do composto na amostra fresca (adaptado de Manita et al., 2017).

3.1 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO MULTIANALITOS PARA ANÁLISE DE HPA

A extração dos HPAS, nas amostras in natura, foi realizada com diclorometano aplicando-se o protocolo EPA-3545A (EPA, 2007a), com remoção de lipídeos dos tecidos. A extração dos HPAs da porção bioacessível foi realizada através da técnica de extração líquido-líquido segundo o protocolo EPA-3510C (EPA, 1996). Os extratos concentrados foram submetidos ao fracionamento por

cromatografia líquida em coluna de sílica/alumina e 100 ng de uma mistura de HPA deuterados, adicionados como padrão interno para quantificação. A identificação e quantificação dos PAH seguiram o protocolo EPA-8270D (EPA, 2007b).

3.2 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS HPAS

A extração do HPAs seguiu dois métodos diferentes devido as especificidades das matrizes obtidas antes e após a digestão. Para validar o método, foi calculada a taxa de recuperação dos HPAs por meio de um experimento de fortificação das amostras de ostras *in natura*, com uma solução composta por 16 HPAs, em um nível alto (200 ng/g) e em um nível baixo (50 ng/g de amostra). As amostras foram fortificadas 24 h antes da extração ou digestão.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos em média e desvio padrão. Foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($\alpha=5\%$). Amostras com níveis de PAHs abaixo do limite de quantificação (LOQ) não foram utilizadas para análise estatística. Um modelo linear geral (ANOVA e teste de Tukey) foi usado para determinar as diferenças de significância ($p<0,05$) entre as amostras. O software Assistat versão 7.7 (Silva; Azevedo, 2016) foi usado nas análises.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 1 e 2 apresentam os dados da biometria das amostras coletadas entre 2019 e 2021, na época de verão ou seca do NE. Os dados mostram que não houve diferença entre o peso e tamanho dos caranguejos coletados em 2019. Porém, as tainhas coletadas em 2021, apresentaram maior peso e rendimento de file (Tabela 2), enquanto os mariscos coletados no mesmo ano, apresentaram pesos menores. Em setembro de 2021, o peso dos mariscos estava menor, porém, a largura da concha maior, o que mostra que os animais estavam em fase de crescimento e expansão dentro das conchas. Em dezembro de 2019, a porção edível representava 51,32% do peso do animal, enquanto em 2021 essa porcentagem era de somente 13,20% (Tabela 1).

Tabela 1 – Biometria dos caranguejos e mariscos.

Amostra	Peso total (g)	Largura (cm)	Peso carne (g)
Marisco / dez 2019	4,19 + 0,81 ^a	1,28 + 0,26 ^b	2,15 + 0,11 ^a
Marisco / set 2021	3,41 + 1,12 ^b	2,47 + 0,26 ^a	0,45 + 0,14 ^b
Caranguejo / Ago 2019	139,34 + 19,49 ^a	69,42 + 3,74 ^a	22,67 + 11,31 ^a
Caranguejo / dez 2019	158,30 + 21,80 ^a	71,63 + 3,20 ^a	21,78 + 5,03 ^a

Caranguejo (n=25), marisco (n=40). Média + DP.

Tabela 2 – Biometria das tainhas.

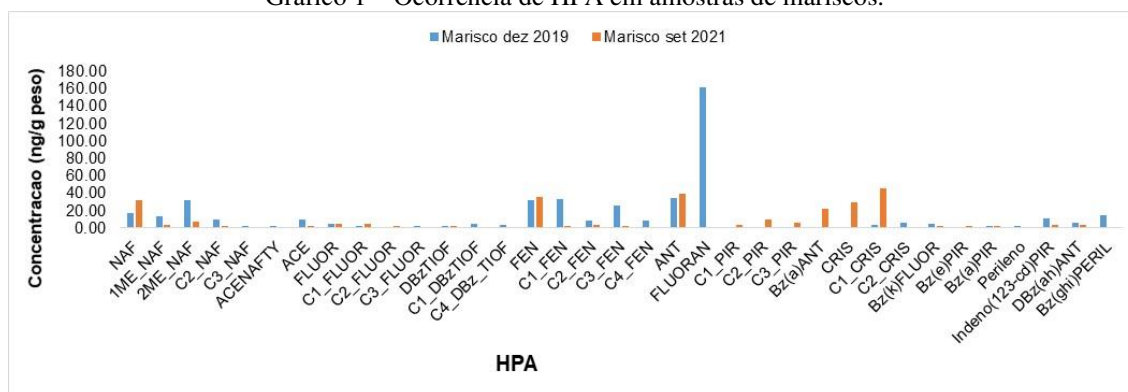
Amostra	Peso total (g)	Comprimento Total (cm)	Peso do fígado (g)	Peso eviscerado (g)	Peso do Filé (g)
Tainha / dez 2019	150,63 + 29,37 ^b	24,98 + 1,77 ^b	2,00 + 0,46 ^a	135,40 + 31,87 ^b	46,74 + 11,29 ^b
Tainha / set 2021	231,81 + 79,44 ^a	27,62 + 3,29 ^a	1,33 + 0,70 ^b	202,80 + 70,84 ^a	70,76 + 25,89 ^a

N = 25. Media + DP.

O tamanho do peixe pode estar relacionado com uma maior deposição de gordura muscular e visceral, o que pode ocasionar maior bioacumulação de HPA, já que esses compostos são lipossolúveis (TFOUNI et al., 2009). No entanto, estudos recentes observaram redução nas concentrações para alguns PAHs (Naftaleno e Pireno em músculos) em amostras de peixes com maiores classes de peso (OURO-SAMA et al., 2023).

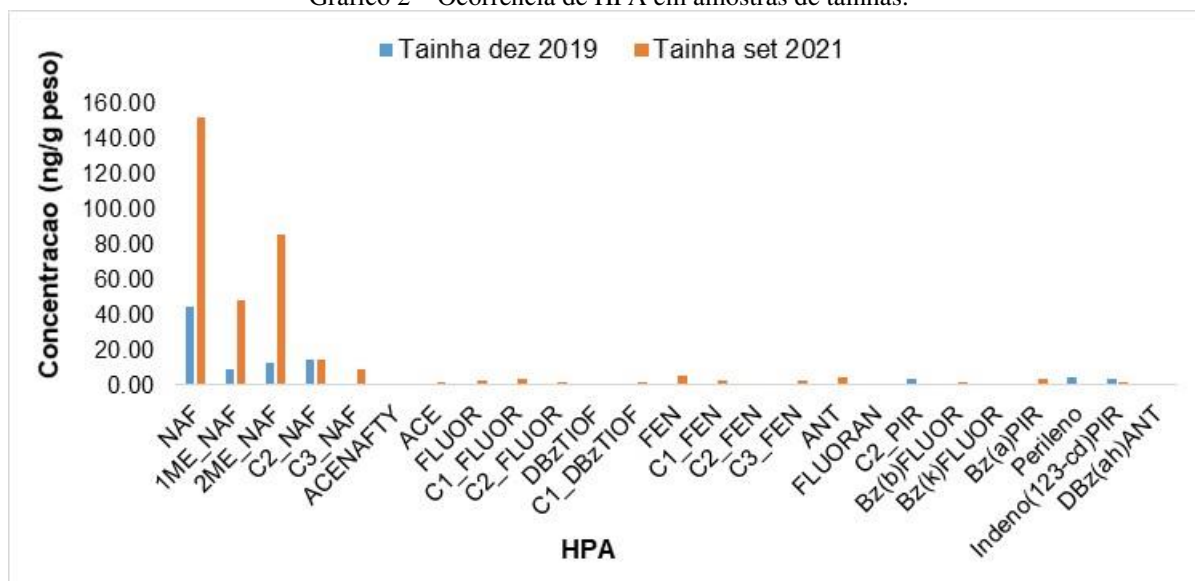
Diferentes níveis e analitos foram identificados e determinados nas três espécies estudadas. O marisco apresentou 35 HPAs, nas duas estações de coleta, com destaque para a maior concentração para o Fluoranteno nas amostras de 2019 (160,72 ng/g peso seco, Gráfico 1). Pelo seu hábito filtrador e por apresentarem baixa capacidade de metabolização dos HPAs (VARANASI, 1989), os moluscos são considerados bioindicadores ambientais (EÇA et al., 2021).

Gráfico 1 – Ocorrência de HPA em amostras de mariscos.



As amostras de tainha apresentaram 25 HPAs, com destaque para as concentrações de Naftaleno e seus isômeros nas amostras coletadas em 2021. É interessante notar que a mancha de óleo ocorreu em 2019 e atingiu essa região alguns meses depois. Porém, a presença desses compostos pode ser determinada pela bioacumulação nos peixes após dois anos do acidente. Isso porque, a tainha tem hábito detritívoro e fuça o sedimento dos estuários procurando por alimento. Conforme citamos acima, os peixes maiores tendem a bioacumular mais contaminantes do que os menores. Isso ficou evidente usando-se a tainha como modelo no projeto (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Ocorrência de HPA em amostras de tainhas.



As amostras de caranguejo apresentaram 12 HPAs, com maior ocorrência nos animais coletados em 2019. Ao contrário das tainhas, os caranguejos foram diretamente afetados pelo seu hábito alimentar de degradar a matéria orgânica dos mangues, e por isso, a bioacumulação foi mais rápida, porém, em menores concentrações se comparada aos peixes (10 vezes menor) (Gráfico 3).

Os peixes são capazes de metabolizar os HPAs, mas tendem a bioacumular esses compostos de forma mais intensa quando vivem próximos a uma fonte de contaminação. Os crustáceos já possuem um sistema de desintoxicação bem desenvolvido, cuja atividade enzimática aumenta em um nível dependente da dose na exposição aos HPAs (REN et al., 2014). Isso explicaria os baixos níveis de HPAs nas amostras de caranguejo.

A análise das ostras, para validação do método, apresentou identificação e quantificação de 24 HPAs, sendo que apenas Bz(b)Fluoreno e Perileno foram determinados nas amostras digeridas (Gráfico 4). A média da recuperação dos HPAs nas amostras in natura foi de 76,44% e nas amostras digeridas foi de 77,72%, mostrando a eficiência de extração dos HPAs em ambas as metodologias utilizadas.

Gráfico 3 – Ocorrência de HPA em amostras de caranguejo.

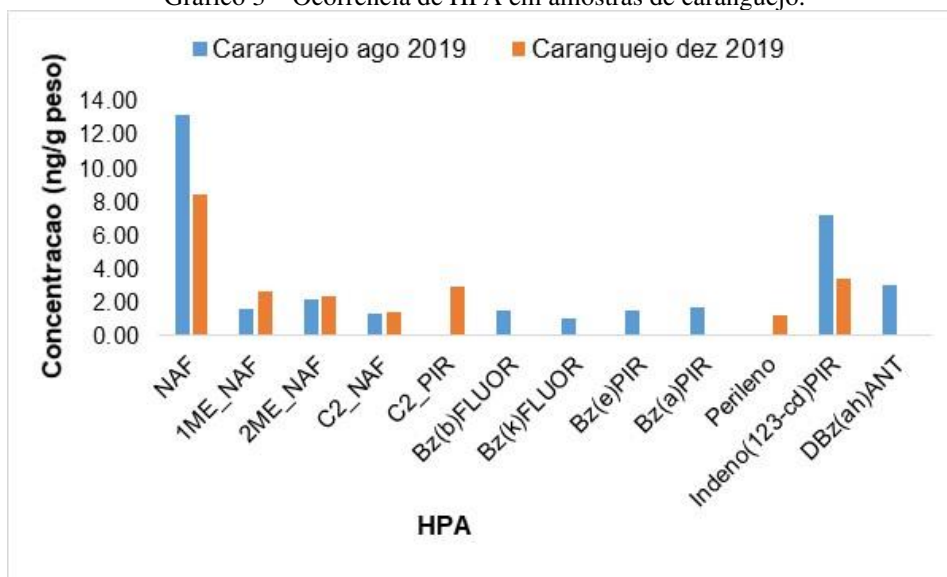
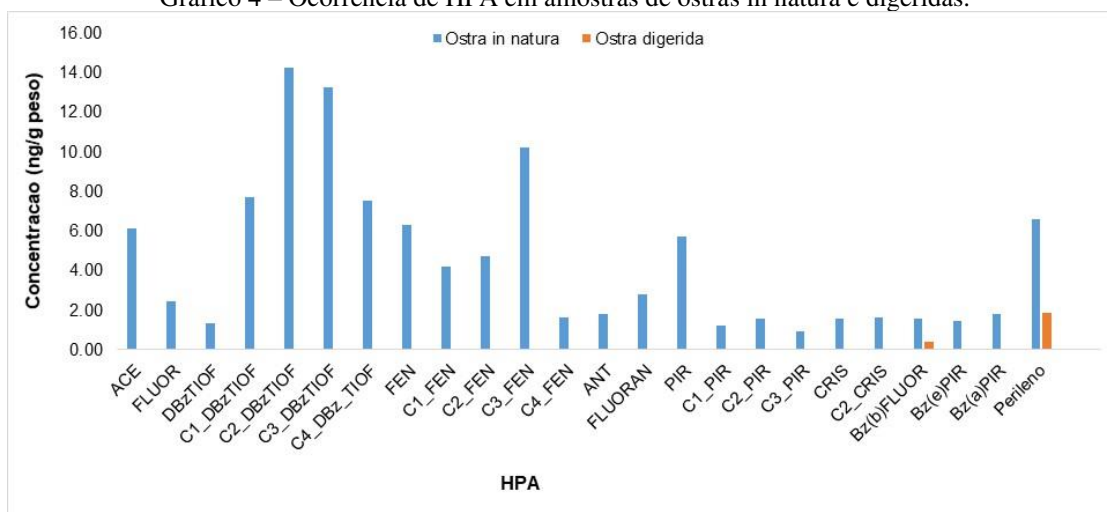


Gráfico 4 – Ocorrência de HPA em amostras de ostras in natura e digeridas.



A baixa bioacessibilidade de HPAs em amostras de pescado e um bom indicativo do baixo risco desses contaminantes a saúde dos consumidores. O benzo(k)Fluoranteno apresentou 22,0% de bioacessibilidade na amêijoia crua (FOGACA et al., 2018). Estudos anteriores avaliaram a bioacessibilidade de HPAs em camarões marinhos, observando 30,8% para pireno e 35,6% de bioacessibilidade para fluoreno (YU et al., 2012). Wang et al. (2010) relataram que a bioacessibilidade de HPA, em peixes adquiridos nos mercados de Hong Kong, variou de 12,6% a 42,6% usando o método de digestão in vitro. No presente estudo, a bioacessibilidade do benzo(k)Fluoranteno foi de 26,51% e do Perileno de 28,64%.

6 CONCLUSÃO

O método multianalitos para determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em pescado foi eficiente na determinação de 35 HPAs em amostras de mariscos, 25 HPAS em tainhas e 12 HPAs em caranguejos. Também foi eficiente na determinação dos HPAS em amostras digeridas, com taxa de recuperação acima de 70%. Recomenda-se o uso desse método para agilizar as análises que possam subsidiar o monitoramento da qualidade e segurança do pescado após acidentes como o ocorrido em 2019, ou mesmo em áreas com elevada poluição ambiental.

REFERÊNCIA

- Afonso, c., costa, s., cardoso, c., bandarrra, n., batista, i., coelho, i., castanheira, i., nunes, m.l. evaluation of the risk/benefit associated to the consumption of raw and cooked farmed meagre based on the bioaccessibility of selenium, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, total mercury, and methylmercury determined by an *in vitro* digestion model. Food chemistry, v. 170, p. 249-256, 2015.
- Bauer, j.e., cai, w.-j., raymond, p.a., bianchi, t.s., hopkinson, c.s., regnier, p.a.g. the changing carbon cycle of the coastal ocean. Nature, v. 504, p.61-70, 2013.
- Brodkorb, a. Et al. Infogest static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. Nlm, v.14, p.991-1014, 2019.
- Djomo, j.e., garrigues, p., narbonne, j.f. uptake and depuration of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediment by the zebrafish (*bracydanio rerio*). Environmental and toxicology chemistry, v.15, p.1177-1181, 1996.
- Eça, g.f., albergaria-barbosa, a.c.r., souza, m.m., costa, p.g., leite, a.s., fillmann, g., hatje, v. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and shellfish from todos os santos bay, brazil. Marine pollution bulletin, v.173, part a, p.112944, 2021.
- Epa. Guidelines for carcinogen risk assessment. Washington: environmental protection agency. Disponível em <http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/cancer_guidelines_final_3-25-05.pdf> acesso em: 21/02/2015.
- Epa. Method 3545a: pressurized fluid extraction (pfe). U.s. epa, february, 2007a.
- Epa. Method 3510c: separatory funnel liquid-liquid extraction. U.s. epa, december 1996.
- Epa. Method 8270d: semi volatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (gc/ms). U.s. epa, january 2007b.
- Fogaça, f.h.s.; soares, c.; oliveira, m.; alves, r.n.; maulvault, a.l.; barbosa, v.l.; anacleto, p.; magalhães, j.a.; bandarrra, n.; ramalhosa, m.j.; morais, s.; marques, a. Polycyclic aromatic hydrocarbons bioaccessibility in seafood: culinary practices effects on dietary exposure. Environmental research, v.64, p.165-172, 2018.
- Gohlke, j.m.; doke, d.; tipre, m.; leader, m.; fitzgerald, t. A review of seafood safety after the deepwater horizon blowout. Environ. Health perspect, v.119, p.1062-1069, 2011.
- Henriques, c. B. Caracterização prévia de petróleo com vistas à otimização de processos. Tese (doutorado em engenharia química), unicamp, campinas, 2011. 284 p.
- Hong, w.-j., et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (pahs) and alkylated pahs in the coastal seawater, surface sediment and oyster from dalian, northeast china. Ecotoxicology and environmental safety, v.128, p.11-20, 2016.
- Hwang, k.; woo, s.; choi, j.; kim, m. Survey of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine products in korea using g. C. / m. S. Food additives & contaminants, part b, p.1-7, 2012.
- Iarc. Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. Iarc monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, v.92, p.773, 2010.

Ibge. Pesquisa agrícola municipal. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam>>. Acesso em: 2 dez. 2017.

Manita, d., et al. In vitro bioaccessibility of the marine biotoxins okadaic acid, dinophysistoxin-2 and their 7-o-acyl fatty acid ester derivatives in raw and steamed shellfish. Food and chemical toxicology, v.101, p.121-127, 2017.

Marques, a.; lourenço, h.m.; nunes, m.l.; roseiro, c.; santos, c.; barranco, a.; rainieri, s.; langerholc, t.; cencic, a. New tools to assess toxicity, bioaccessibility and uptake of chemical contaminants in meat and seafood. Food research international, v.44, p.510–522, 2011.

Massone, c.g.; santos, a.a.; ferreira, p.g.; carreira, r.s. a baseline evaluation of pah body burden in sardines from the southern brazilian shelf. Marine pollution bulletin, v.163, p.111949, 2021.

Minekus, m. Et al. A standardized static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. Food funct., v.5, p.1113-1124, 2014.

Netto, a.d.p.; moreira, j.c.; dias, a.e.x.o.; arbilla, g.; ferreira, l.f.v.; oliveira, a.s.; barek, j. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (hpas) e seus derivados nitrados (nhpas): uma revisão metodológica. Química nova, v.23, p.765-773, 2000.

Nrc. Oil in the sea - inputs, fates and effects, 2 ed. National academy press: washington. 2003.

Ouro-sama, k. Et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (pahs) contamination in *chrysiichthys nigrodigitatus* lacépède, 1803 from lake togo-lagoon of aného, togo: possible human health risk suitable to their consumption. Int. J. Environ. Res. Public health, v.20, p.1666, 2023.

Patin, s. Environmental impact of the offshore oil and gas industry. Ecomonitor publishing: new york.1999.

Ren, x. Et al. Metabolic enzyme activities, metabolism-related genes expression and bioaccumulation in juvenile white shrimp *litopenaeus vannamei* exposed to benzo(a)pyrene. Ecotoxicol. Environ. Saf., v.104, p.79-86, 2014.

Ruddiman, w.f. the anthropocene. Annu. Rev. Earth planet. Sci, v. 41, p.45-68, 2013.

Saura- calixto, f.; serrano, i.; goni, i. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in whole diet .food chemistry, v.101, p.492-501, 2007.

Scholl, g.; huybrechts, i.; humblet, m.f.; scippo, m.l.; de pauw, e.; eppe, g.; saegerman, c. Risk assessment for furan contamination through the food chain in belgian children. Food additives and contaminants, part a, v.29, p.1219–1229, 2012.

Silva, f.a.s.; azevedo, c.a.v. the assistat software version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. African journal of agricultural research, v.11, p.3733-3740, 2016.

Tavares-dias; m. Atual situação dos mares, oceanos e regiões costeiras. In: vida na água: contribuições da embrapa. Fogaça, f.h.s.; furtado, a.m.; tavares-dias, m.; routledge, e. (ed.). Brasília, df: embrapa, 2018.

Tfouni, s.a.v.; souza, n.g.; neto, m.b.; loredo, i.s.d.; leme, f.m.; furlani, r.p.z. polycyclic aromatic hydrocarbons (pahs) in sugarcane juice. Food chemistry, v. 116, n. 1, p.391-394, 2009

Tressou, j.; crépet, a.; bertail, p.; feinberg, m. H.; leblanc, j. C. Probabilistic exposure assessment to food chemicals based on extreme value theory. Application to heavy metals from fish and sea products. Food and chemical toxicology, v.42, p.1349-1358, 2004.

Varanasi, usha. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Crc press, 1989.

Wang, z., li, k., fingas, m., sigouin, l., menard, l. Characterization and source identification of hydrocarbons in water samples using multiple analytical techniques. J. Chromatog., v. A 971, p.173-184, 2002.

Wang, h.-s. Et al. Oral bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons (pahs) through fish consumption, based on an in vitro digestion model. J. Agric. Food chem., v.58, p.11517-11524, 2010.
Who. State of the science endocrine disrupting chemicals 2012.united nation environment programme and the world health organization: geneva. 2013.

Yender, r., michel, j., lord, c. Managing seafood safety after an oil spill. Office of response and restoration, national oceanic and atmospheric administration: seattle, p. 72, 2002.

Yu, y-x et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in animal-based foods from shanghai: bioaccessibility and dietary exposure. Food addit. Contam., part a, v.29, p.1465-1474, 2012.