

ESTUDO PRELIMINAR DA BIODISPONIBILIDADE DE MAGNÉSIO E ZINCO EM ESPÉCIMES DE ARMADO (*Pterodoras granulosus*), CAPTURADOS NO RESERVATÓRIO DE ITAIPU

José Dilson Silva de OLIVEIRA¹; Deoclécio José BARILLI¹; Giovano NEUMANN²; Paulo Sérgio THEODORO¹; Robie Allan BOMBARDELLI¹; Pitágoras Augusto PIANA³; Affonso Celso GONÇALVES JÚNIOR⁴

RESUMO

O estudo da biodisponibilidade de elementos-traço em peixes pode contribuir para a avaliação do desenvolvimento dos animais no ambiente aquático em condições saudáveis. Assim, foram avaliadas as concentrações de magnésio e zinco presentes em diferentes partes do corpo do armado (*Pterodoras granulosus*): filé, barriguinta (musculatura abdominal), vísceras, coração e fígado, bem como se tais concentrações variam na medida em que o peixe cresce. Foram selecionados 24 espécimes, com peso entre 125 g e 1.558 g. As alíquotas foram submetidas à digestão com o emprego de solução nitro-perclórica e diluídas com água destilada e deionizada. As concentrações dos metais foram determinadas por Espectrometria de Absorção Atômica. Dentre os órgãos analisados, o coração apresentou os maiores níveis de magnésio ($4,8485 \pm 2,2286 \text{ mg g}^{-1}$) em indivíduos menores, diminuindo à medida que o peixe cresce. Observaram-se, ainda, maiores concentrações de zinco no coração ($0,0239 \pm 0,0098 \text{ mg g}^{-1}$) e fígado ($0,0430 \pm 0,0130 \text{ mg g}^{-1}$), também com maior incidência nos juvenis. Observou-se que esses elementos têm importância no processo metabólico deste peixe durante seu desenvolvimento corporal.

Palavras chave: concentração; metais essenciais; tecidos; peixe

PRELIMINARY STUDY OF THE BIODISPONIBILITY OF MAGNESIUM AND ZINC IN SPECIMENS OF "ARMADO" (*Pterodoras granulosus*), CAPTURED IN THE RESERVOIR OF ITAIPU

ABSTRACT

The study of the bioavailability of trace elements in fish can contribute to the evaluation of the animals development in healthy aquatic environment conditions. It was proposed to evaluate the concentrations of magnesium and zinc present in different parts of the "armado" (*Pterodoras granulosus*): filet, "belly" (abdominal musculature), viscera, heart and liver, if such concentrations vary in so far as the fish grows. For this purpose, we selected 24 animals weighing between 125 g and 1,558 g. The brackets were subjected to digestion with the use of nitro-perchloric solution and diluted with distilled and deionized water. Metals concentrations were determined by Atomic Absorption. Among the analyzed organs, the heart presented bigger levels of magnesium ($4.8485 \pm 2.2286 \text{ mg g}^{-1}$) in smaller individuals, decreasing as the fish grow. Bigger concentrations of zinc were observed in the heart ($0.0239 \pm 0.0098 \text{ mg g}^{-1}$) and liver ($0.0430 \pm 0.0130 \text{ mg g}^{-1}$), also with bigger incidence in the youthful ones. It was noticed that these elements are important in the metabolic process of this fish species during his physical development.

Keywords: concentration; essential metals; tissues; fish

Artigo Científico: Recebido em 24/06/2013 – Aprovado em 14/04/2014

¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Grupo de Pesquisa em Química, Meio Ambiente e Aquicultura (QUIBIMA). Caixa Postal 320 – CEP: 85.903-000 - Toledo – PR – Brasil. e-mail: jose.oliveira2@unioeste.br (autor correspondente)

² Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Centro de Engenharias e Ciências Exatas (CECE)

³ Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Grupo de Pesquisa em Recursos Pesqueiros e Limnologia (GERPEL)

⁴ Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Grupo de Estudos em Solo e Meio Ambiente (GESOMA)

INTRODUÇÃO

Atualmente, muitos trabalhos relacionados à poluição de reservatórios por elementos-traço têm sido desenvolvidos, mas o estudo da distribuição desses elementos em peixes ainda é limitado. Dentre estes, pode-se mencionar o estudo de teores de zinco em diferentes espécies de peixes capturados no rio São Francisco (MG, Brasil), abordando a bioacumulação do metal em tecidos como brânquias, carcaça, fígado e musculatura, como ferramenta para avaliação da poluição ambiental (LABARRÈRE *et al.*, 2012). Outro estudo trata da avaliação de elementos-traço em amostras de tecidos de peixes do rio São Francisco (PR, Brasil), aplicando-se com sucesso a técnica SR-TXRF (Fluorescência de Raios-X com Radiação Síncrotron) para determinação de multi-elementos (ESPINOZA-QUINONES *et al.*, 2010).

Outros estudos têm sido realizados acerca da bioacumulação de elementos-traço em peixes e o uso destes como biomarcadores para estudo dos ambientes aquáticos (LINS *et al.*, 2010; MOL, 2011; MANSILLA-RIVERA e RODRÍGUEZ-SIERRA, 2011; QIU *et al.*, 2011; TÜRKMEN *et al.*, 2011; ALHASHEMI *et al.*, 2012; SQUADRONE *et al.*, 2013).

Elementos-traço possuem papel importante como catalisadores de sistemas enzimáticos, favorecendo várias reações químicas, especialmente reações de oxidação-redução, com mudanças reversíveis do estado de oxidação do íon metálico (HILTON, 1989; WATANABE *et al.*, 1997; SÁ *et al.*, 2004). São bons condutores de eletricidade e participam de reações químicas como íons positivos (WALKER *et al.*, 1996). Dependendo de suas concentrações no ecossistema, podem aumentar ou reduzir suas características tóxicas para com os diversos organismos e afetar suas características biológicas (WOOD *et al.*, 2012).

Com relação às condições ambientais, os metais incorporados ou adsorvidos nos sedimentos podem ser liberados na coluna d'água, tornando-se biodisponíveis, e os organismos aquáticos podem incorporá-los através da água e do sedimento, ou ainda da cadeia alimentar, por um processo de biomagnificação, que implica num acúmulo crescente de substâncias tóxicas dos níveis mais

baixos para os mais elevados da cadeia trófica (QUEIRÓZ *et al.*, 2008).

Outros fatores, como a adsorção a sítios de troca catiônica, floculação, precipitação, coprecipitação e complexação com moléculas orgânicas também permitem regular a disponibilidade destes elementos metálicos em ambientes aquáticos (GIBBS, 1977). Desta forma, a identificação e a quantificação de elementos químicos participantes do organismo da espécie têm grande importância para avaliações da sua qualidade nutricional.

Considerando a importância social para o setor extrativista, a pesca no Reservatório de Itaipu, segundo MIRANDA *et al.* (2000), explora mais de 60 espécies nesta região, dentre as quais o armado (*Pterodoras granulosus*, Siluriformes, Doradidae) representa a espécie com maior incidência de captura neste reservatório (GOMES *et al.*, 2002;). Por se tratar de uma espécie onívora com tendência à herbívora, para a sua captura, na maioria das vezes, são empregados espinhéis, utilizando-se como iscas vegetais e pequenos peixes (HAHN *et al.*, 1992).

Pterodoras granulosus é um importante modelo biológico para a realização de estudos voltados à biodisponibilidade de elementos-traço nos tecidos, em função de características como o potencial produtivo e econômico no Reservatório de Itaipu, e pelo fato de ser uma espécie onívora, com hábito de fundo, com alta capacidade migratória e elevado rendimento pesqueiro.

Neste contexto, o estudo de metais essenciais como o magnésio e o zinco se justifica, pois são participantes obrigatórios do metabolismo dos organismos, particularmente de processos envolvendo compostos enzimáticos do sistema aceptor/doador de elétrons. Ambos estão entre os metais mais frequentemente ligados às proteínas, devido às suas propriedades como a densidade, pequeno raio atômico, interação eletromagnética e força eletrostática (GAO *et al.*, 2003).

Especificamente, o magnésio está presente nos músculos e ossos e trata-se de um macromineral ativador de sistemas enzimáticos que controlam o metabolismo de carboidratos, gorduras, proteínas e eletrólitos e serve como cofator da fosforilação oxidativa. Este metal também exerce influência sobre a integridade e o transporte da membrana celular e nas transmissões de impulsos nervosos,

auxiliando na contração muscular e no metabolismo energético (PINHEIRO *et al.*, 2005).

O zinco também participa do metabolismo de diversas enzimas nos organismos vivos (SALEH *et al.*, 2009). PINHEIRO *et al.* (2005) salientam que este microelemento exerce funções específicas, atuando no crescimento e replicação celular, função fagocitária, imunitária celular e humoral, maturação sexual, fertilidade e reprodução, na estabilização de lisossomas nos processos de síntese proteica e de membrana para a circulação de elementos celulares. Assim, devido a sua grande amplitude de ação, variações nas concentrações desse elemento nos tecidos podem estar associadas a muitos processos patológicos (MCCALL *et al.*, 2000).

Portanto, o estudo da biodisponibilidade de metais em diferentes tecidos de peixes torna-se importante para avaliação do desenvolvimento das espécies no ambiente aquático e, desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar a biodisponibilidade de magnésio e zinco presentes em diferentes tecidos do armado *P. granulosus* e a possível correlação com o tamanho corporal.

MATERIAL E MÉTODOS

Selecionaram-se 24 espécimes de armado (*P. granulosus*), com peso corporal entre 125 g e 1.558 g, coletados no período de maio a outubro de 2008, no Reservatório de Itaipu, município de Pato Bragado, Paraná, Brasil. Após a coleta, os animais foram eutanasiados por choque térmico, segundo BOMBARDELLI e SANCHES (2008), e mantidos sob congelamento até o preparo das alíquotas analíticas.

Inicialmente, os peixes foram divididos em três classes de tamanho correspondentes a animais com peso corporal <500 g, 501 a 800 g e >800 g, sendo oito espécimes por classe. Com o auxílio de um ictiômetro, foram determinados os parâmetros morfométricos de comprimento total, comprimento padrão, largura do tronco, comprimento da cabeça, comprimento do tronco, altura do tronco e altura da cabeça e as relações entre estas medidas e o peso corporal, segundo BOMBARDELLI *et al.* (2007) e BOMBARDELLI e SANCHES (2008). Os peixes foram pesados, eviscerados, descabeçados, com retirada da pele e nadadeiras. Ao término deste procedimento, foram coletados o filé, barriguiha (musculatura

abdominal), vísceras, coração e fígado, os quais foram triturados e homogeneizados separadamente. De cada unidade amostral foi retirada uma alíquota de cerca de 1 g, a qual foi submetida à digestão com o emprego de solução nitro-perclórica (2:1). As soluções resultantes foram transferidas para balão volumétrico e diluídas para 100 mL. Para o preparo da solução nitro-perclórica, utilizaram-se reagentes da marca Merck, de grau analítico.

Foi utilizado um Espectrômetro de Absorção Atômica marca GBC 932AA, modalidade da chama (mistura de gás acetileno-ar), com lâmpada de cátodo oco, sistema de duplo feixe com correção de fundo, calibrado em condições específicas de comprimento de onda para zinco e magnésio, empregando-se os gases ar e acetileno e soluções-padrão do metal marca Ultra Scientific para as determinações das concentrações presentes em cada um dos 24 espécimes.

Os resultados obtidos foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) e com o teste de Tukey *a posteriori* para comparações múltiplas de médias. As possíveis influências do tamanho dos espécimes sobre as concentrações dos metais em cada órgão em separado foram avaliadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson. Transformações nos dados foram realizadas para atingir os pressupostos de normalidade e homogeneidade dos resíduos da ANOVA pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, sendo os resultados considerados satisfatórios. Todos os testes e checagem de pressupostos foram avaliados ao nível de significância de 5%, utilizando-se o software Statistica 7.0®.

RESULTADOS

De acordo com as classes de tamanho, os peixes apresentaram pesos médios de $387,45 \pm 120,66$ g, $713,69 \pm 162,52$ g e $1.410,80 \pm 232,80$ g, para as classes de peso <500 g, 501 a 800 g e >800 g, respectivamente.

Na Tabela 1 estão apresentadas as relações morfométricas com o peso, evidenciando que os exemplares utilizados eram saudáveis, de acordo com BOMBARDELLI e SANCHES (2008).

Os valores de concentração dos metais obtidos para os órgãos dos peixes estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 1. Relações morfométricas do armado (*Pterodoras granulosus*) capturados no Reservatório de Itaipu em três classes de peso, considerando-se oito espécimes para cada classe.

Variáveis	Classes de peso (g)		
	< 500	501 - 800	> 800
CC/CP	0,24 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,25 ± 0,01
CC/AC	1,34 ± 0,12	1,28 ± 0,12	1,26 ± 0,10
CP/CT	0,85 ± 0,03	0,85 ± 0,03	0,87 ± 0,03
LTR/CTR	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,02	0,24 ± 0,03
LTR/ATR	0,93 ± 0,07	0,92 ± 0,11	0,84 ± 0,14
ATR/CTR	0,24 ± 0,01	0,27 ± 0,04	0,30 ± 0,06

CC/CP - comprimento da cabeça/comprimento padrão; CC/AC - comprimento da cabeça/altura da cabeça; CP/CT - comprimento padrão/comprimento total; LTR/CTR - largura do tronco/comprimento do tronco; LTR/ATR - largura do tronco/altura do tronco; ATR/CTR - altura do tronco/comprimento do tronco.

Tabela 2. Concentração média ± desvio padrão (mg g⁻¹) de magnésio (Mg) e zinco (Zn) nos órgãos dos exemplares do armado (*Pterodoras granulosus*).

Órgãos	Metal	
	Mg	Zn
Filé	0,9453 ± 0,5726 ^b	0,0046 ± 0,0015 ^d
Barriguinha	0,6992 ± 0,4609 ^b	0,0053 ± 0,0017 ^d
Vísceras	0,6233 ± 0,4449 ^b	0,0136 ± 0,0038 ^c
Coração	4,8485 ± 2,2286 ^a	0,0239 ± 0,0098 ^b
Fígado	0,8780 ± 0,4570 ^b	0,0430 ± 0,0130 ^a

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Na Figura 1 são apresentados os valores médios do logaritmo natural de concentração de

magnésio determinados para as partes dos espécimes analisadas por classe de peso.

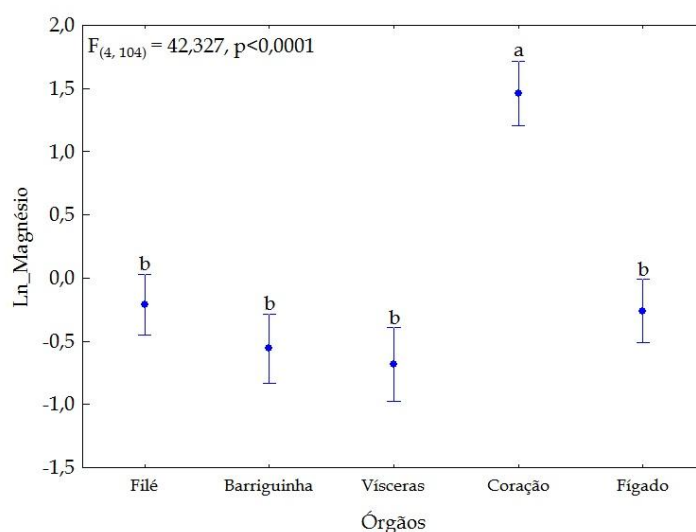


Figura 1. Valores médios do logaritmo natural da concentração de magnésio (pontos) ± intervalo de 95% de confiança (barras) determinados para as partes do corpo com base nos 24 espécimes analisados, para os quais letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os órgãos pelo teste de Tukey.

A partir dos dados relativos às concentrações de magnésio, obtidos da análise

espectrofotométrica de cada órgão, foram obtidas as correspondentes curvas (Figura 2).

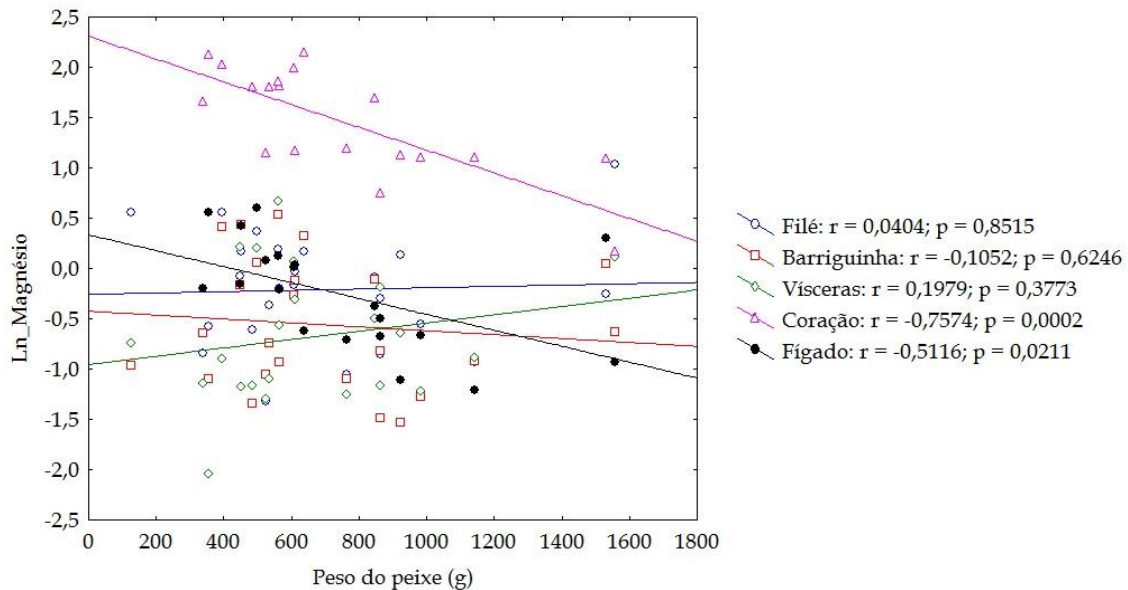


Figura 2. Concentrações de magnésio (ln) nos órgãos analisados em relação ao peso dos 24 espécimes analisados, para os quais valores dos coeficientes de correlação de Pearson (r) com suas probabilidades de erro tipo I (p) também são apresentados.

A Figura 3 ilustra os valores médios do logaritmo natural da concentração de zinco

determinada para as partes dos espécimes analisadas por classe de peso.

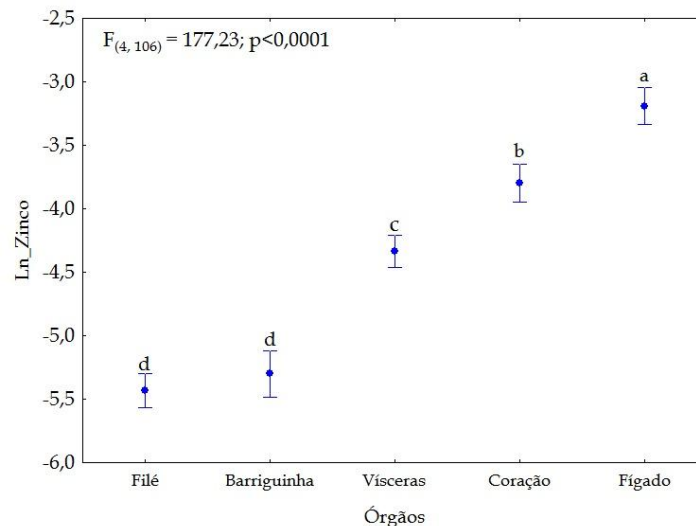


Figura 3. Valores médios do logaritmo natural da concentração de zinco (pontos) \pm intervalo de 95% de confiança (barras) determinados para as partes do corpo com base nos 24 espécimes analisados, para os quais letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os órgãos pelo teste de Tukey.

As curvas do logaritmo natural das concentrações de zinco determinados para as

partes dos espécimes analisados estão representadas na Figura 4.

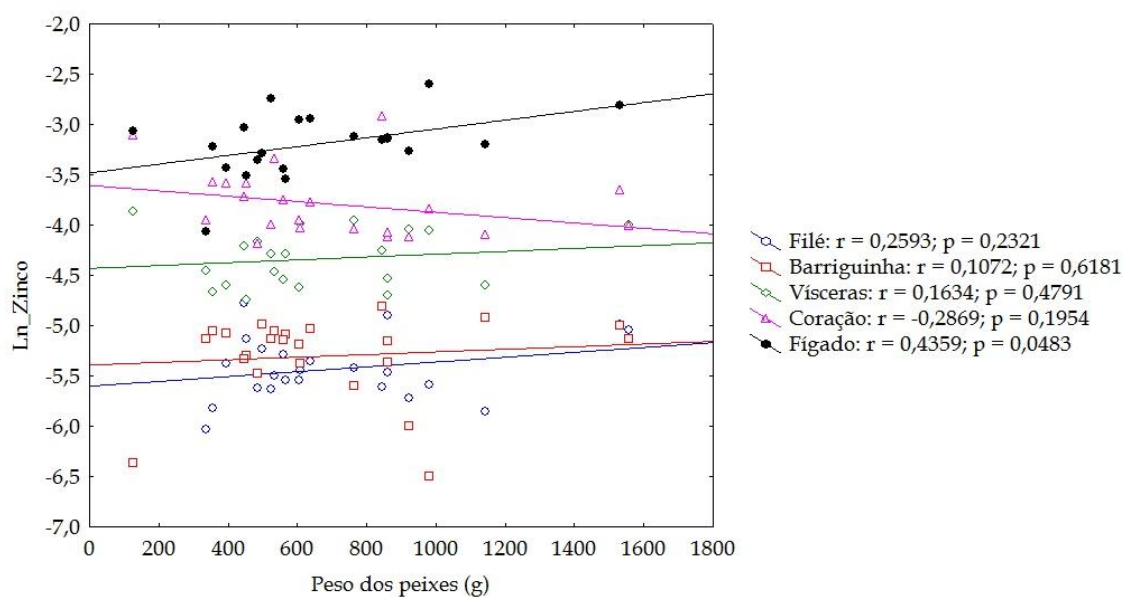


Figura 4. Concentrações de zinco (Ln) nos órgãos analisados em relação ao peso dos 24 espécimes selecionados, para as quais valores dos coeficientes de correlação de Pearson (r) com suas probabilidades de erro tipo I (p) também são apresentados.

DISCUSSÃO

A avaliação dos níveis dos metais nas diferentes porções do corpo do armado demonstrou maior concentração de magnésio no coração, a qual diminuiu acentuadamente à medida que o tamanho corporal aumentou. O mesmo comportamento foi verificado para o fígado.

Para as demais partes corporais observou-se pequena diferença entre os valores médios de concentração do magnésio, mantendo-se esses valores com relativa estabilidade à medida que o tamanho do animal aumentou. Em todos os casos, o metal teve maior incidência das concentrações nos órgãos dos peixes de menor tamanho corporal.

Pode-se inferir que a maior concentração do magnésio no coração apresenta correlação com a atuação do mineral no processo de contração/relaxamento muscular e no metabolismo energético do órgão no animal, durante a fase de crescimento, o que pode estar relacionado à maior intensidade de movimentação do peixe (PINHEIRO *et al.*, 2005).

Quanto à presença do zinco nas diferentes porções corporais analisadas, observou-se que o coração e o fígado apresentaram concentrações

superiores, e que a maior concentração do zinco nesses órgãos teve maior incidência nos peixes de menor tamanho corporal. Contudo, para o coração notou-se uma diminuição da concentração do metal e um aumento para o fígado, ambos os casos ocorrendo com o aumento do tamanho corporal dos peixes e, para os demais órgãos, observou-se uma correlação fraca quanto às concentrações do zinco em relação ao tamanho dos peixes.

A diminuição da concentração de zinco no coração e o aumento no fígado em relação ao peso dos espécimes estão relacionados a aspectos fisiológicos dos peixes (SALEH *et al.*, 2009; PINHEIRO *et al.*, 2005) para manutenção do sistema imunológico sadio, com as variações de concentração sugerindo processo metabólico de eliminação e ocorrência natural no fígado do animal. A maior concentração de zinco observada para o fígado é concordante com dados verificados por LABARRÈRE *et al.* (2012) em estudo realizado com diferentes espécies de peixes capturados no rio São Francisco (Minas Gerais).

Os níveis de zinco determinados para cada amostra analisada apresentaram-se abaixo do limite máximo preconizado pela ANVISA (1965), permitindo assinalar que os peixes estudados apresentavam-se saudáveis.

CONCLUSÕES

Os dados observados neste estudo demonstram que a concentração dos metais é maior nos peixes com menor peso corporal. O magnésio apresentou maior influência sobre o coração e fígado e o zinco, somente sobre o fígado, ambos os elementos com maior concentração durante a fase juvenil, com diminuição à medida que os peixes crescem. Para os demais órgãos, a concentração dos metais não apresentou correlação significativa com o tamanho dos peixes.

As concentrações dos metais presentes nos tecidos do armado *Pterodoras granulosus* evidenciam importante participação desses elementos no processo metabólico do peixe durante seu desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

- ALHASHEMI, A.H.; SEKHAVATJOU, M.S.; KIABI, B.H.; KARBASSI, A.R. 2012 Bioaccumulation of trace elements in water, sediment, and six fish species from a freshwater wetland, Iran. *Microchemical Journal*, 104: 1-6.
- ANVISA. 1965 Limite máximo de tolerância de contaminantes inorgânicos em alimentos. Decreto n. 55.871, de 26 de março de 1965, Brasil. *Diário Oficial da União*, de 09 de abril de 1965, p.3610; *Diário Oficial da União*, Seção 1, de 20 de abril de 1965, p.3838 (Retificação).
- BOMBARDELLI, R.A. e SANCHES, E.A. 2008 Avaliação das características morfológicas corporais, do rendimento de cortes e composição centesimal da carne do armado (*Pterodoras granulosus*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 34(2): 221-229.
- BOMBARDELLI, R.A.; BENCKE, B.C.; SANCHES, E.A. 2007 Processamento da carne de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Acta Scientiarum Animal Science*, 29(4): 457-463.
- ESPINOZA-QUIÑONES, F.R.; MÓDENES, A.N.; PALÁCIO, S.M.; SZYMANSKI, N.; WELTER, R.A.; RIZZUTTO, M.A.; BORBA, C.E.; KROUMOV, A.D. 2010 Evaluation of trace element levels in muscles, liver and gonad of fish species from São Francisco River of the Paraná Brazilian state by using SR-TXRF technique. *Applied Radiation and Isotopes*, 68: 2202-2207.
- GAO, Y.; CHEN, C.; ZHANG, P.; CHAI, Z.; HE, W.; HUANG, Y. 2003 Detection of metalloproteins in human liver cytosol by synchrotron radiation X-ray fluorescence after sodium dodecyl sulfate polyacrilamide gel electrophoresis. *Analytica Chimica Acta*, 485: 131-137.
- GIBBS, R.J. 1977 Transport phases of transition metals in the Amazon and Yukon rivers. *Geological Society of American Bulletin*, 88: 829-843.
- GOMES, L.C.; MIRANDA, L.E.; AGOSTINHO, A.A. 2002 Fishery yield relative to chlorophyll *a* in reservoirs of the Upper Parana River, Brazil. *Fisheries Research*, 55(1): 335-340.
- HAHN, N.S.; MONFREDINHO JÚNIOR, A.; FUGI, R.; AGOSTINHO, A.A. 1992 Aspectos da alimentação do armado, *Pterodoras granulosus* (*Ostariophysi doradidae*) em distintos ambientes do alto rio Paraná. *Revista Unimar*, 14 (Suplemento): 163-176.
- HILTON, J.W. 1989 The interaction of vitamins, minerals and diet composition in the diet of fish. *Aquaculture*, 79: 223-244.
- LABARRÈRE, C.R.; MENEZES; B.D.; MELO, M.M. 2012 Avaliação dos teores de zinco em brânquias, carcaça, fígado e musculatura de diferentes espécies de peixes capturados no rio São Francisco (MG, Brasil). *Geonomos*, 20(1): 86-91.
- LINS, J.A.P.N.; KIRSCHNIK, P.G.; QUEIROZ, V.S.; CIRIO, S.M. 2010 Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Revista Acadêmica, Ciências Agrárias e Ambientais*, 8(4): 469-484.
- MANSILLA-RIVERA, I. e RODRÍGUEZ-SIERRA, C.J. 2011 Metal levels in fish captured in Puerto Rico and estimation of risk from fish consumption. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 60: 132-144.
- MCCALL, K.A.; HUANG, C.; FIERKE, C.A. 2000 The importance of zinc in human nutrition. *Journal of Nutrition*, 130: 1437-1446.
- MIRANDA, L.E.; AGOSTINHO, A.A.; GOMES, L.C. 2000 Appraisal of the selective properties of gill nets and implications for yield and value of the fisheries at Itaipu Reservoir, Brazil - Paraguay. *Fisheries Research*, 45(1): 105-116.

- MOL, S. 2011 Levels of selected trace metals in canned tuna fish produced in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24: 66-69.
- PINHEIRO, D.M.; PORTO, K.R.A.; MENEZES, M.E.S. 2005 *A Química dos Alimentos: carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais*. Alagoas: EDUFAL. 52p.
- QIU, Y.; LIN, D.; LIU, J.; ZENG, E.Y. 2011 Bioaccumulation of trace metals in farmed fish from South China and potential risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 284-293.
- QUEIRÓZ, J.F.; MOURA, M.S.G.; TRIVINHO-STRIXINO, S. 2008 *Organismos bentônicos: biomonitoramento de qualidade de água*. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente. 92p. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/download/LivroBentonicos.pdf>>. Acesso em: 06 jun. 2013.
- SÁ, M.V.C.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PADILHA, P.M. 2004 Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 238: 385-401.
- SALEH, M.A.D.; NEVES, R.C.F.; SILVA, F.A.; MORAES, P.M.; LOUREIRO, V.R.; ROLDAN, P.S.; PADILHA, P.M. 2009 GFAAS determination of zinc in fish feed and feces using slurry sampling. *Food Analytical Methods*, 2: 162-168.
- SQUADRONE, S.; PREARO, M.; BRIZIO, P.; GAVINELLI, S.; PELLEGRINO, M.; SCANZIO, T.; GUARISE, S.; BENEDETTO, A.; ABETE, M.C. 2013 Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian rivers. *Chemosphere*, 90: 358-365.
- TÜRKMEN, M.; TÜRKMEN, A.; TEPE, Y. 2011 Comparison of metals in tissues of fish from Paradeniz Lagoon in the coastal area of northern east mediterranean. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87: 381-385.
- WATANABE, T.; KIRON, V.; KIRON, S.; SATOH, S. 1997 Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151: 185-207.
- WALKER, C.R.; HOPKIN, S.P.; SIBLY, R.M.; PEAKALL, D.B. 1996 *Principles of Ecotoxicology*. London: Taylor and Francis. 321p.
- WOOD, C.M.; FARREL, A.P.; BRAUNER, C.J. 2012 *Homeostasis and toxicology of essential metals*. Fish Physiology Series, v. 31A. Copyright r. Elsevier Inc. DOI: 10.1016/S1546-5098(11)31003-5.