COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

ESTABELECIMENTO DE METODOLOGIAS DE EXTRAÇÃO DE HEXACLOROBENZENO (HCB) DE SEDIMENTO E ÁGUA DE ESTUÁRIO E DO MAR

T.M.Z. Azevedo; M.M. Andréa

Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Proteção Ambiental, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: tania_zendron@yahoo.com.br

RESUMO

O hexaclorobenzeno (HCB) foi amplamente utilizado como fungicida e é também subproduto de vários processos industriais, como na fabricação de solventes. Suas características químicas o tornam pouco disponível à degradação química e biológica, levando a bio-acumulação e bio-magnificação ao longo da cadeia alimentar. Assim, sua detecção e quantificação em organismos e no ambiente são importantes e, para isto, metodologias eficientes devem possibilitar o rastreamento e a quantificação de contaminação ambiental da maneira mais econômica. Este trabalho comparou diferentes métodos de extração de HCB de sedimentos e águas de estuário e de mar, avaliando as vantagens de cada método. Os testes de recuperação utilizaram amostras de sedimentos e águas de estuário e mar tratadas com HCB em mistura com ^{14}C -HCB como radiotraçador e quantificação do radiocarbono por espectrometria de cintilação em líquido (ECL). A recuperação de ^{14}C -HCB das águas foi comparada por extração das amostras com hexano em coluna C18 e extração líquido-líquido também com hexano como solvente. Nos sedimentos testou-se extração com mistura de hexano:acetona e energia de microondas. A extração por fase sólida (C18) foi o melhor método de extração de água, com 88,3% e 83,4% de recuperação, respectivamente de água de estuário e de mar. A extração de sedimento por microondas recuperou 99,5% e 99,9% de radiocarbono, respectivamente de sedimentos de estuário e de mar. A análise custo/benefício indica a extração por coluna C18 para águas e a extração por microondas para sedimentos como os melhores métodos de recuperação e que possibilitarão boa detecção de HCB em estudos de poluição.

PALAVRAS-CHAVE: Recuperação, ^{14}C -HCB, diferentes matrizes, relação custo/benefício.

ABSTRACT

EXTRACTION METHODOLOGIES OF HEXACHLOROBENZENE (HCB) FROM ESTUARY AND SEA WATERS AND SEDIMENTS. Hexachlorobenzene (HCB) has been widely used as a fungicide and is also a by-product of several industrial processes, such as solvent manufacturing. Its lipophilic and hydrophobic nature, besides its low rate of chemical and biological degradation, can lead to its bio-accumulation and bio-magnification throughout the food net. Therefore, its detection and quantification in organisms and environment are extremely important, and this creates the need for efficient methodologies allowing for its detection and quantification for environmental contamination studies, in a low-cost way. The present study compared different methods of HCB extraction from estuary and sea sediments and waters, assessing the advantages of each method. The recovery tests were performed with samples of estuary and sea sediments, and waters previously treated with HCB in mixture with ^{14}C -HCB as a radiotracer, and the radiocarbon in the extracts was quantified by liquid scintillation counting (LSC). The recovery of ^{14}C -HCB from waters was compared by hexane extraction in C18 cartridges and liquid-liquid extraction, also using hexane. The recovery of ^{14}C -HCB from the sediments was tested with the mixture hexane:acetone and microwave energy. The solid phase (C18) extraction was the best method for water extraction, accounting for 88.3% and 83.4% of recovery, respectively, from estuary and seawater. The microwave extraction recovered 99.5% and 99.9% of ^{14}C -HCB, respectively from estuary and sea sediments. The cost/benefit ratio indicates the C-18 solid phase extraction for waters and the microwave extraction for sediments as the best recovery methods, which allow for good detection of HCB in pollution studies.

KEY WORDS: Recovery, ^{14}C -HCB, different matrices, cost/benefit ratio.

Agrotóxicos vêm sendo aplicados na agricultura e no controle de populações de pragas agrícolas e vetores de doenças em diversos países, inclusive no Brasil. Atualmente, de 90.000 a 100.000 substâncias químicas com propriedades agrotóxicas são utilizadas regularmente no mundo todo. Estas substâncias alcançam diversos compartimentos do ambiente, de tal forma que são encontradas no solo, água ou ar, dependendo de fatores como local, forma e volume de aplicação, e características físico-químicas dos próprios compostos e do ambiente que atingem (SPADOTTO *et al.*, 2004).

Dentre os agrotóxicos, os compostos organoclorados foram utilizados amplamente e por vários anos. A natureza lipofílica e hidrofóbica os tornam pouco disponíveis levando à baixa taxa de degradação química e biológica de muitos destes compostos, e podem levar à sua acumulação em tecidos biológicos e ao conseqüente aumento de concentração em organismos ao longo da cadeia alimentar (MWEVURA *et al.*, 2002; BURATINI; BRANDELLI, 2006). O hexaclorobenzeno (HCB) faz parte deste grupo por ser uma molécula composta por um anel aromático totalmente halogenado e apresenta as mesmas características de recalcitrância à degradação e afinidade química com lipídios (USEPA, 1999).

O HCB foi sintetizado na década de 40 e utilizado primeiramente como fungicida em culturas de cereais, até o final da década de 70, quando seu uso foi banido. Entretanto, o HCB pode ainda ser gerado através de processos intermediários de manufatura, incluindo a produção de solventes clorados e agrotóxicos (USEPA, 1999).

Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, apesar de ser pouquíssimo solúvel em água, quando o HCB está dissolvido, ele sofre partição entre a coluna d'água, o material em suspensão e o sedimento. A parte dissolvida na água tende a migrar para a microcamada de superfície, de onde ele volatiliza rapidamente, podendo ser transportado por longas distâncias, aumentando as vias de poluição. Já se verificou que o HCB acumula-se em peixes, animais marinhos, aves, líquens e animais que se alimentam de peixes e líquens. Nestas espécies, o HCB apresenta uma acumulação significativa em tecidos, incluindo depósitos de gordura e nos rins, onde não são degradados. Seres humanos também podem ser expostos ao HCB através da inalação, ingestão de alimentos contaminados e contato da pele com o solo contaminado (USEPA, 1999).

Ainda entre as características do HCB, cita-se sua persistência no ambiente e, por isso, é freqüentemente detectado em vários compartimentos do ambiente (BINNELLI & PROVINI, 2003; BRITO *et al.*, 2002; CARVALHO *et al.*, 2002; GARDNER *et al.*, 2003; KIM *et al.*, 2002; MONIRITH *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2002; UENO *et al.*, 2003; ZULIN *et al.*, 2002), sendo classificado como um dos poluentes orgânicos persistentes ou POPs (FAPESP, 2005).

No Estado de São Paulo existe um solo da área costeira que foi contaminado por HCB quando foi utilizado como área de depósito de resíduos industriais. Após determinação da CETESB, as aproximadamente 30.000 toneladas deste solo foram escavadas, ensacadas e removidas para uma Estação de Espera porque esta fonte de contaminação pode se espalhar para outras áreas mais distantes, pontos ainda desconhecidos, pois as características do solo, tipicamente arenoso, facilitam a dissipação deste poluente. Desta forma, persiste ali, como fonte potencial de poluição local, até a descoberta de processos de tratamento eficiente para serem adotados (MATHEUS, 2003). Devido à existência desta contaminação a céu aberto e das características do solo desta área, a contaminação pode ter se espalhado por este ambiente pouco conhecido.

Desta forma, a detecção e a quantificação do nível de contaminação por HCB no ecossistema são importantes e podem ser feitas por meio de análises da água, do sedimento ou da biota, sendo que a análise do sedimento é de extrema importância, uma vez que esta pode representar uma fonte potencial do composto (ARAÚJO *et al.*, 2006). Entretanto, essas análises devem ser feitas por métodos comprovadamente eficientes.

Para escolha de metodologias de recuperação de compostos deve-se levar em consideração não só a eficiência de quantificação, como também a relação custo / benefício dos métodos a serem utilizados, pois é preciso analisar quais metodologias viabilizam maior possibilidade de realização de detecções. Este trabalho testou a eficiência e o custo de diferentes processos de extração de HCB de águas e sedimentos de estuário e de mar, para possibilitar o rastreamento e a quantificação de contaminação ambiental da maneira mais econômica.

Amostras de sedimentos e águas

Os sedimentos de estuário e mar coletados de áreas não poluídas, respectivamente em Cananéia e Ubatuba, foram secos à temperatura ambiente e peneirados em peneira de 2 mm de malha para retirada de pedras, pedaços grandes de conchas e galhos de árvores. Amostras destes sedimentos foram analisadas quanto às principais características físico-químicas pelo Depto. de Solos e Nutrição de Plantas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo.

As amostras de águas de estuário e mar também, respectivamente coletadas em Cananéia e Ubatuba, foram armazenadas com capa escura em laboratório por, pelo menos, 15 dias antes de serem usadas para evitar a eventual proliferação de algas, sendo freqüentemente analisadas quanto a pH, salinidade

e presença de nitrato. O pH foi verificado por meio de papel indicador (Merck – pH 0-14). A salinidade foi medida por meio de densitômetro (Assistant – 1,000 – 1,060, Alemanha) e o nitrato foi verificado por meio de teste comercial (Nitrate, Marine & Freshwater Test. Lab, França).

Recuperação de ^{14}C -HCB de sedimento

Antes do processamento das amostras, o conteúdo de umidade dos sedimentos foi determinado em balança Metler LJ16 Moisture Analyser, por meio de pesagem de (3×) amostras de, aproximadamente, 3 g e determinação do conteúdo de água. Os pesos das amostras experimentais foram todos corrigidos para equivalente em peso seco.

Para verificação da recuperação das metodologias de extração, as amostras de água e sedimentos foram tratadas com solução em hexano de HCB grau técnico (com pureza maior que 95%, doado pela Rhodia do Brasil) em mistura com ^{14}C -HCB (com 185 MBq mmol⁻¹ de atividade específica; adquirido da “International Isotopes” Munique, Alemanha) como radiotraçador.

A recuperação de ^{14}C -HCB de sedimentos de mar e de estuário foi testada por meio de tratamento de 25 g de sedimento de mar com 4,5 mg de HCB e 2,00 kBq de ^{14}C -HCB. Os 25 g de sedimento de estuário foram tratados com 3,25 mg de HCB e 2,24 kBq de ^{14}C -HCB.

Alíquotas de 500 mg dos sedimentos tratados foram submetidas à combustão em aparelho “Biological Oxidizer” (OX 600) para determinar a quantidade real de ^{14}C -HCB presente na amostra, conforme ANDRÉA *et al.* (1997). A eficiência do método foi calculada por meio da queima de ^{14}C -glicose e comparação com quantificação de radiocarbono na mesma quantidade deste composto pipetado diretamente na solução de cintilação. Esta relação fornece um fator de correção que é utilizado no cálculo das amostras experimentais.

Outras subamostras de 3 g cada foram extraídas por energia de microondas com hexano : acetona (3:1 v/v), usando-se 25 ciclos de 160 W de energia, sendo cada ciclo de 25 segundos, intercalados com banho de gelo, de acordo com ANDRÉA *et al.* (2001). O volume total recuperado foi anotado e levado em conta para cálculo da radioatividade total após quantificação da radioatividade por espectrometria de cintilação em líquido

(ECL) de (2×) alíquotas de 2 mL de cada subamostra. Para verificação da eficiência do método de extração, os resultados obtidos foram comparados com os resultados obtidos por combustão.

Recuperação de ^{14}C -HCB de água

A recuperação de ^{14}C -HCB de águas de estuário e de mar foi testada após tratamento de 500 mL de cada tipo de água limpa com 125,5 µg de HCB e 0,24 kBq (6,48 10⁻³ µCi) de ^{14}C -HCB em hexano. A solução foi aplicada em Erlenmeyers e, após evaporação do solvente, as águas foram adicionadas e as soluções resultantes foram agitadas mecanicamente junto com pérolas de vidro por 4 dias. A quantidade de radiocarbono presente na água foi verificada por ECL de (3×) alíquotas de 2 mL. Outras alíquotas (3×) de 120 mL de cada tipo de água foram extraídas por fase sólida (SPE) utilizando-se cartuchos C18 (Varian) que retêm compostos orgânicos. As colunas foram previamente acondicionadas com (2×) 5 mL de metanol e (2×) 5 mL de água Milli-Q para extração, conforme ZULIN *et al.* (2002). O material retido na fase sólida foi eluído com 10 mL de hexano e a radioatividade de (2×) alíquotas de 2 mL de cada extrato foi medida por ECL. Os volumes remanescentes das soluções aquosas foram extraídos com 10 mL de hexano por extração líquido-líquido em funis de separação (VILLENEUVE & CATTINI, 1986) e a radioatividade de (2×) alíquotas de 2 mL foi também medida por ECL.

Análise de custo das metodologias

Além da eficiência de recuperação, o custo final de cada metodologia foi verificado baseando-se nos custos e quantidades dos materiais empregados: vidrarias, solventes e reagentes, assim como no consumo de energia elétrica e de água corrente, tempo de execução da metodologia e quantidade da amostra necessária.

Os sedimentos de estuário e de mar, respectivamente de Cananéia e Ubatuba, utilizados no experimento, são bastante diferentes em todos os aspectos físico-químicos, conforme determinação feita pelo Depto. de Solos da ESALQ/USP (Tabela 1). Entretanto, as recuperações de ^{14}C -HCB dos sedimentos de mar e de estuário foram, além de altas, muito próximas (Tabela 2).

Tabela 1 - Principais características físico-químicas dos sedimentos de estuário e de mar provenientes, respectivamente de Cananéia e Ubatuba (SP).

Substrato	Areia (g kg ⁻¹)	Limo (g kg ⁻¹)	Argila (g kg ⁻¹)	Matéria orgânica (g dm ⁻³)	pH (CaCl ₂)
Mar	920	20	60	16	6,4
Estuário	650	100	250	49	3,8

Tabela 2 - Testes de eficiência de recuperação de ^{14}C -HCB aplicado em amostras de sedimentos de estuário e de mar provenientes, respectivamente de Cananéia e Ubatuba (SP).

Método de recuperação	Sedimento de estuário (%*)	Sedimento de mar (%*)
Extração por microondas	99,5 ± 3,7	99,9 ± 4,6
Combustão	81,9 ± 5,1	86,7 ± 6,1

*% média ± d.p.

A diferença entre os resultados dos métodos de extração e de combustão (Tabela 2) é, provavelmente, devida a o tamanho das subamostras que se utiliza em cada método. Na combustão, além do peso ser menor (0,5 g) em relação ao da amostra (25 g) tratada, é também menor do que o peso que se utilizou para extração (3 g). Desta forma, apesar do método de combustão ter sido utilizado para verificação da quantidade aplicada, a utilização de energia de microondas foi mais eficiente, pois a recuperação foi maior, provavelmente por causa de diferenças decorrentes do tamanho das amostras.

Verificou-se que a alta recuperação (> 99,5%, Tabela 2) obtida por meio de microondas foi ainda maior do que os 97,1% de ^{14}C -HCB recuperados por NAKAGAWA (2003) utilizando Soxhlet e a mesma proporção hexano: acetona e o mesmo tipo de solo utilizados neste experimento.

Em relação aos custos (Tabela 3), verificou-se que a recuperação do ^{14}C -HCB por extração com microondas de amostras dos diferentes sedimentos tratados além de ser mais alta é também a mais barata. Esta metodologia é mais simples, pois utiliza vidraria mais comum, menor quantidade de solventes, é feita em menor tempo, consumindo menos energia elétrica e água para sua realização. Sendo assim a extração por microondas apresenta melhor relação custo/benefício.

A recuperação de ^{14}C -HCB das águas de mar e de estuário foi maior por SPE (> 83%) do que pelo método de extração líquido-líquido, que recuperou no máximo 67% (Tabela 4). Assim, apesar do método de extração líquido-líquido ser mais simples e de menor custo (Tabela 5), a extração por fase sólida apresentou maior porcentagem de recuperação de HCB e então, para obtenção de dados mais precisos, deve ser a metodologia de escolha.

Os melhores métodos de recuperação de ^{14}C -HCB de sedimento e águas de estuário e mar foram, respectivamente, extração por microondas e extração por fase sólida (coluna C18).

A metodologia que utiliza microondas para extração de sedimentos também foi a mais barata, porém para extração de águas, deve-se escolher a extração por fase sólida que, apesar de ser mais cara, é a mais eficiente.

Tabela 3 - Comparação dos custos e eficiência de extração de ^{14}C -HCB de sedimentos por microondas e por Soxhlet.

Material e tempo/replicata	Microondas	Soxhlet
Solventes:		
proporção (v/v)	(12:4 hexano:acetona)	(75:25 hexano:acetona)
volume (mL)	16	150
Quantidade de sedimento (g)	3	10
Tempo (horas)	1,5	7
Vidraria	Vidros simples com tampas de plástico	Conjunto específico para Soxhlet
Recuperação (% ± d.p.)	99,7 ± 4,1*	97,1 ± 1,5**

*Média entre as recuperações de sedimentos de estuário e mar.

**conforme NAKAGAWA (2003)

Tabela 4 - Testes de eficiência de recuperação de ^{14}C -HCB aplicado em amostras de águas de estuário e de mar provenientes, respectivamente, de Cananéia e Ubatuba - SP (n=3).

Matriz (mL)	Método de extração	^{14}C -Recuperado (% ± d.p.)
Água de estuário (120)	Fase sólida (C18 eluída com 10 mL hexano)	88,32 ± 3,58
Água de mar (120)	Fase sólida (C18 eluída com 10 mL hexano)	83,42 ± 10,73
Água de estuário (120)	Líquido-líquido (com 10 mL hexano)	67,45*
Água de mar (120)	Líquido-líquido (com 10 mL hexano)	47,62*

*(n = 1)

Tabela 5 - Comparação dos custos e eficiência de extração de ^{14}C -HCB de água por extração em fase sólida e extração líquido-líquido.

Material e tempo/ replicata	Método	
	Fase sólida	Líquido-Líquido
Solventes (mL)	(5) metanol (5) água Milli-Q (10) hexano	(10) hexano
Quantidade de água (mL)	360	140
Tempo (horas)	3	1
Vidraria	—	Funil de separação
Material específico	Coluna C18 (Varian); bomba de vácuo	—
Recuperação*(% $\pm$ d.p.)	85,87 $\pm$ 7,15	57,53**

*Média entre as recuperações (águas de estuário e mar).

**n = 1

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao CNPq pela bolsa concedida por meio do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq/IB à Tânia M. Z. de Azevedo. Este trabalho é parte de projeto de pesquisa parcialmente financiado pela Agência Internacional de Energia Atômica (RC-BRA-12502), pela FAPESP (04/04968-0) e pelo CNPq (300074/2005-0).

REFERÊNCIAS

- ANDRÉA, M.M.; MATALLO, M.B.; TOMITA, R.Y.; LUCHINI, L.C. Effect of temperature on dissipation of [^{14}C]-atrazine in a Brazilian soil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.32, p.95-100, 1997.
- ANDRÉA, M.M.; PAPINI, S.; NAKAGAWA, L.E. Optimizing microwave-assisted solvent extraction (MASE) of pesticides from soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, v.36, p.87-93, 2001.
- ARAÚJO, R.P.A.; SHIMIZU, G.Y.; BOHRER, M.B.C.; JARDIM, W. Avaliação da Qualidade de Sedimentos. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). *Ecotoxicologia aquática. Princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa, 2006. cap. 13, p.293-326.
- BINNELL, A.; PROVINI, A. POPs in edible clams from different Italian and European markets and possible human health risk. *Marine Pollution Bulletin*, v.46, p.879-885, 2003.
- BRITO, A.X.P.; BRÜNING, I.M.R.A.; MOREIRA, I. Chlorinated pesticides in mussels from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, v.44, p.71-81, 2002.
- BURATINI, S.V.; BRANDELLI, A. Bioacumulação. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). *Ecotoxicologia aquática. Princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa, 2006. cap. 4, p.56-88.
- CARVALHO, F.P.; GONZALEZ-FARIAS, F.; VILLENEUVE, J.-P.; CATTINI, C.; HERNÁNDEZ-GARZA, M.; MEE, L.D.; FOWLER, S.W. Distribution, fate and effects of pesticide residues in tropical coastal lagoons of Northwestern Mexico. *Environmental Technology*, v.23, p.1257-1270, 2002.
- GARDNER, S.C.; PER, M.D.; WESSELMAN, R.; JUÁREZ, J.A. Organochlorine contaminants in sea turtles from Eastern Pacific. *Marine Pollution Bulletin*, v.46, p.1082-1089, 2003.
- KIM, S.-K.; OH, J.R.; SHIM, W.J.; LEE, D.H.; YIM, U.H.; HONG, S.H.; SHIN, Y.B.; LEE, D.S. Geographical distribution and accumulation features of organochlorine residues in bivalves from coastal areas of South Korea. *Marine Pollution Bulletin*, v.45, p.268-279, 2002.
- MATHEUS, D.R. *Otimização da biodegradação de hexaclorobenzeno por fungos basidiomicetos em solos contaminados com resíduos industriais*. 2003. 129f. Tese (Doutorado - Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2003.
- MONIRITH, I.; UENO, D.; TAKAHASHI, S.; NAKATA, H.; SUDARYANTO, A.; SUBRAMANIAN, A.; KARUPPIAH, S.; ISMAIL, A.; MUCHTAR, M.; ZHENG, J.; RICHARDSON, B.J.; PRUDENTE, M.; HUE, N.D.; TANA, T.S.; TKALIN, A.V.; TANABE, S. Asia-Pacific mussel watch: monitoring contamination of persistent organochlorine compounds in coastal waters of Asian countries. *Marine Pollution Bulletin*, v.46, p.281-300, 2003.
- MWEVURA, H.; OTHMAN, O.C.; MHEHE, G.L. Organochlorine pesticide residues in sediments and biota from the coastal area of Dar es Salaam city, Tanzania. *Marine Pollution Bulletin*, v.45, p.262-267, 2002.
- NAKAGAWA, L.E. *Alteração de características do solo para remoção de hexaclorobenzeno de área contaminada*. 2003. 55f. Tese (Doutorado - Departamento de Ecologia Geral) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO – FAPESP. Quatro novos candidatos. 2005. Disponível em: <<http://www.agencia.fapesp.br>>. Acesso em: 11 mai. 2005.
- SHIN, P.K.S.; YAU, F.N.; CHOW, S.H.; TAI, K.K.; CHEUNG, S.G. Responses of the green-lipped mussel *Perna viridis* (L.) to suspended solids. *Marine Pollution Bulletin*, v.45, p.157-162, 2002.

- SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F.; LUCHINI, L.C.; ANDRÉA, M.M. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 29p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 42).
- UENO, D.; INOUE, S.; IKEDA, K.; TANAKA, H.; YAMADA, H.; TANABE, S. Specific accumulation of pesticides in Japanese common squid as a bioindicator. *Environmental Pollution*, v.125, p.227-235, 2003.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Hexachlorobenzene (HCB): Sources and Regulation. 1999. Disponível em: <<http://www.p2pays.org/ref/06/05728.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2003.
- VILLENEUVE, J.P.; CATTINI, C. Input of chlorinated hydrocarbons through dry and wet deposition to the western Mediterranean. *Chemosphere*, v.15, p.115-120, 1986.
- ZULIN, Z.; HUASHENG, H.; XINHONG, W.; JIANQING, L.; WEIQI, C.; LI, X. Determination and load of organophosphorus and organochlorine pesticides at water from Jiulong River Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin*, v.45, p.397-402, 2002.
- Recebido em 4/9/06
Aceito em 3/7/07