

VI-016 - IDENTIFICAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS NO SEDIMENTO EM ESTUÁRIO TROPICAL/BRASIL

Valderi Duarte Leite⁽¹⁾

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-Universidade Estadual da Paraíba-UEPB,Campus I, R. Baraúnas, Universitário,58429-500, Campina Grande, Paraíba, Brasil

Eliane de Andrade Araújo Pereira⁽²⁾

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-Universidade Estadual da Paraíba -UEPB,Campus I, R. Baraúnas, Universitário,58429-500, Campina Grande, Paraíba, Brasil

Jéssika Lorena Bandeira Cruz da Silva⁽³⁾

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba -UEPB, Campus I, R. Baraúnas, Universitário,58429-500, Campina Grande, Paraíba, Brasil

Wilton Silva Lopes⁽⁴⁾

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba -UEPB, Campus I, R. Baraúnas, Universitário,58429-500, Campina Grande, Paraíba, Brasil

Endereço⁽¹⁾: Rua Baraúnas, 351 - Bairro Universitário - Campina Grande-PB, CEP 58429-500, Fone/Fax: (83) 3315-3300 - e-mail: mangabeiraleite@gmail.com

RESUMO

Poluentes orgânicos são substâncias de origem antrópica, dificilmente degradados por processos físicos, químicos ou biológicos. Por serem utilizados em uma diversidade de produtos industriais e agrícolas, esses poluentes são amplamente detectados em ambientes aquáticos, como estuários. Os poluentes orgânicos atingem esse ambiente por meio do escoamento superficial, descarga de efluentes municipais, industriais, agrícolas e deposição atmosférica, representando, assim, uma ameaça para a saúde humana e meio ambiente. Diante disso, o objetivo deste estudo é investigar a presença de poluentes orgânicos em amostras de sedimentos coletadas em três estações de acordo com o gradiente salino distribuídas em nove sites ao longo do estuário do Rio Mamanguape, localizado no Nordeste do Brasil. Esse estuário é intensamente impactado por atividades antrópicas, tendo em vista que é circundado por extensas áreas de plantações de cana-de-açúcar, em suas proximidades são desenvolvidas atividades de carcinicultura, além de ser receptor de efluentes e resíduos domésticos. Os poluentes presentes nos sedimentos foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Anteriormente à etapa de identificação, foi utilizada uma técnica pré-cromatográfica, denominada QuEChERS, para realizar a extração dos analitos e a remoção de interferentes que podem influenciar negativamente na identificação dos poluentes. De acordo com as moléculas identificadas nas amostras de sedimentos, pode-se concluir que o estuário do Rio Mamanguape pode estar sendo impactado por atividades antrópicas, devido à presença de moléculas que são utilizadas na fabricação de pesticidas, a exemplo da ureia e o sulfeto de carbonila, ou que são utilizadas na indústria como aditivos plástico, como o 2,4-Di-tert-butilfenol e a caprolactama.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminação, Cromatografia Gasosa, Espectrometria de Massa, QuEChERS.

INTRODUÇÃO

Os estuários são ambientes de transição na diluição mensurável da água salgada do mar pela água doce do rio (Santana et al. 2015), resultando em um gradiente de condições ambientais dinâmico, caracterizado por grande variabilidade na salinidade e pela instabilidade dos seus fatores ambientais. Deste modo, os estuários estão dentre os ecossistemas aquáticos que mais passam por mudanças (U.S.EPA 2002). Eles também são receptores de substâncias naturais e produtos de atividades antrópicas (PRITCHARD 1967; MIRANDA et al. 2002).

Alguns trabalhos realizados em estuários, que estão distribuídos em várias partes do mundo, têm apresentado níveis de contaminação por contaminantes ambientais, a exemplo de fármacos, pesticidas, surfactantes, metais e

plásticos (AKHBARIZADEH et al. 2017, WU et al. 2013, LI et al. 2017, NAIDOO et al. 2015). A questão relacionada à contaminação e a poluição dos ambientes aquáticos tem sido uma crescente preocupação.

O presente trabalho foi realizado no Estuário do Rio Mamanguape em um estuário localizado ao norte do litoral brasileiro o qual faz parte de uma Área de Proteção Ambiental (APA). Suas riquezas naturais geram renda para população local através da pesca e da comercialização de crustáceos como o camarão (*Litopenaeus schmitti*), de bivalves, como a ostra de mangue (*Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828)), de mariscos (*Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767)) e de peixes como (*Mugil curema* (Valenciennes, 1836)) (ALMEIDA e SILVA, 2016). Por serem abundantes na área, estes são utilizados como fonte de alimento pela população local e comercializados no litoral paraibano.

Este estuário tem indícios de está sendo impactado por vários tipos de desenvolvimento de atividades antrópicas que são desenvolvidas, como atividades de lazer e pesca extensiva, práticas agrícolas como o cultivo de cana-de-açúcar, aquicultura. Além de sofrer influência na bacia hidrográfica pela ocupação do solo com atividades, de despejo de esgoto, indústrias de papel, de eletroeletrônicos, de fármacos, metalúrgicas, alimentícias e têxteis e deposição inadequada de resíduos sólidos (RODRIGUES ET AL., 2008). Portanto, estas podem ser algumas possíveis rotas de entrada de poluentes orgânicos no estuário, pois alguns poluentes podem chegar até o corpo hídrico por processos de lixiviação, tendo em vista que a ação das chuvas podem carregar os contaminantes até o estuário

A cromatografia gasosa (Gas Chromatography, GC) acoplada a espectrometria de massas (Mass Spectrometry, MS) tem sido uma técnica analítica muito utilizada para identificação de contaminantes ambientais em diversas matrizes. A cromatografia pertence ao grupo de técnicas de separação, porém, com frequência, ela precisa recorrer a outras técnicas, principalmente espectroscópicas, como a Espectrometria de massas (EM), para identificação de analitos separados pela técnica.

Assim, a análise cromatográfica de uma amostra que contenha substâncias químicas, em geral, envolve etapas de: preparação da amostra, cromatografia e identificação, a fim de garantir a qualidade necessária dos resultados analíticos. Todas as técnicas analíticas necessitam de um método eficiente de preparo de amostras, pois a etapa pré-cromatográfica pode ser um fator limitante para a recuperação dos analitos a serem identificados. Portanto, o método QuEChERS (ANASTASSIADES et al. 2003) foi escolhido para o preparo das amostras de sedimento por ser considerado um método mais rápido e que utiliza-se uma quantidade menor de reagentes em relação a outros métodos pré-cromatográficos.

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo a identificação da presença de Poluentes orgânicos no sedimento estuarino. Considerando que não há relato de estudos sobre esses contaminantes nos estuários Paraibanos, torna-se importante, do ponto da saúde pública e ambiental, o conhecimento da existência de Poluentes orgânicos, levando em consideração que, esses poluentes podem causar riscos toxicológicos para a população.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido em um ambiente estuarino, localizado a 22 km da costa nordeste do Brasil, entre 6°43'-6°51'S e 35°67'-34°54'W, Estuário Mamanguape (Figura 1). A sua extensão é cerca de 25 km no sentido leste-oeste e de 5 km no sentido norte-sul constituindo uma área de 16.400 hectares que faz parte da área de Proteção Ambiental (APA) criada através do Decreto Nº 924, de 10 de setembro de 1993. Esta APA possui um grande valor do ponto de vista ecológico, devido a sua produtividade e diversidade biológica. O estuário também apresenta grande beleza paisagística, sendo opção de lazer para muitos turistas como provedor de alimento e renda para a comunidade local. O estuário mamanguape esta cercado por três cidades: Rio Tinto, Marcação e Mamanguape, totalizando 73.000 habitantes. A região de Mamanguape possui a maior área de mangue do estado da Paraíba, embora tenha sido observada a retirada da vegetação para extração da madeira por ribeirinhos, além de plantações de cana-de-açúcar e atividades de carcinicultura (ROCHA et al., 2008).



Figura1. Localização geográfica da Área de estudo no Estuário do rio Mamanguape, Paraíba-Brasil com locais de amostragem ao longo das três estações, Estação 1 (1,2,3), Estação 2 (4,5,6) e Estação 3 (sites 7,8,9).

PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM E DE LABORATÓRIO

AMOSTRAGEM NO SEDIMENTO

As amostras de sedimento foram coletadas em três estações de acordo com gradiente salino distribuídas em 9 sites ao longo do estuário. A coleta de sedimento foi realizada de 0-10 cm de profundidade utilizando uma espátula de aço inoxidável. Em cada ponto, foram coletadas cinco amostras simples compondo 1 kg de amostra composta, compondo um total de 18 amostras. Ainda em campo as amostras foram armazenadas e acondicionadas em caixas térmicas sob -4°C de refrigeração.

Em laboratório, as amostras foram quarteadas e colocadas para secar em um local aberto, longe da presença de animais, onde ficaram secando ao ar livre. Para posterior identificação dos Poluentes Orgânicos, foram retiradas duas partes compondo 100 g, das quais seguiram para o processo de desmanche dos torrões. Posteriormente, as amostras foram maceradas e, em seguida, passadas em uma peneira de 0,063 mm para obtenção de uma amostra homogênea.

TÉCNICA PRÉ-CROMATOGRÁFICA

O processo de extração dos agrotóxicos no sedimento e em níveis tróficos foi baseado no método QuEChERS (ANASTASSIADES et al., 2003). Os reagentes que foram utilizados para a fase *clean up* do método QuEChERS foram adquiridos da Agilent (Part Number 5982-5122) (Figura 2). Esse método para preparação de amostra é caracterizado por utilizar o solvente polar acetonitrilo seguido por uma extração em fase sólida dispersiva (d SPE) (LEHOTAY et al., 2005). Para o presente trabalho, o método QuEChERS foi escolhido por ser um método oficial utilizado pela AOAC 2007 e pela União Europeia 2008.

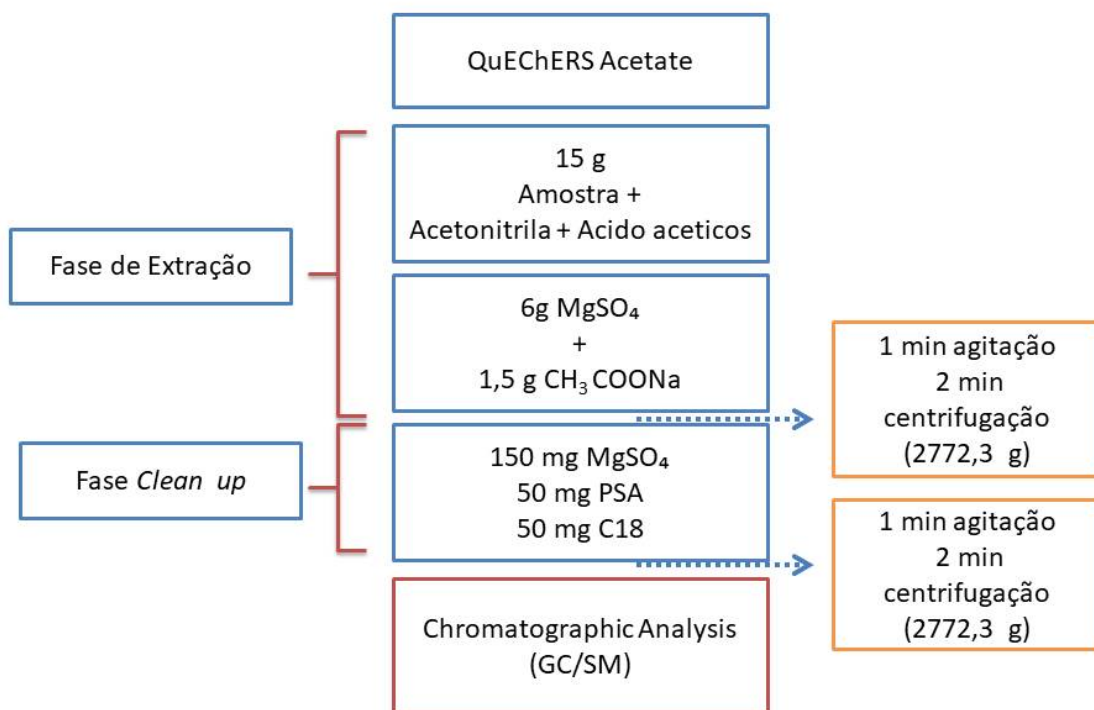


Figura 2. Método QuEChERS utilizado para preparo das amostras de sedimento e cadeia trófica.

MÉTODO ANALÍTICO

A identificação dos Poluentes orgânicos presentes no sedimento foi realizada por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). As análises foram realizadas em um Cromatógrafo Gasoso (CG) (Thermo Scientific, TRACE 1300) acoplado a um Espectrômetro de Massas (EM) com analisador quadrupolos (Thermo Scientific ISQ-QD). A separação cromatográfica foi realizada com a coluna HP-5MS de sílica fundida, (30 m×0,25 mm×0,25 µm) da Varian Technologies (EZ- Guard columns). A temperatura da coluna foi programada em um tempo de retenção de 45 min, usando rampas de 65°C com um equilíbrio inicial de tempo de 2 min, 20°C/min até 180°C, e de 5°C/min até 280°C por 20 min. O gás de arraste utilizado foi o gás Hélio, com 99,99997% de pureza, com um fluxo constante de 1 ml . min⁻¹. A temperatura da porta do injetor foi ajustada a 250°C e ambos os recursos dos íons e a linha de transferência foram ajustados a 280°C. O volume injetado de amostra foi de 1 µl no modo splitless. A detecção foi realizada por um detector seletivo de massas equipado com uma fonte de impacto de elétrons a 70 V. A separação em CG foi alcançada pela avaliação de diferentes rangers de temperatura e condições de injeção usando o modo full-scan. A faixa de varredura de m/z foi de 50-500 com um tempo de corte do solvente igual a 5 min. Os espectros de massa foram comparados com os compostos de referência da biblioteca NIST.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Substâncias identificadas no estuário Mamanguape

Os compostos alvos foram identificados a partir do tempo de retenção e pelo monitoramento dos íons-filhos. As substâncias encontradas no sedimento estão descritas na tabela 1.

Tabela 1- Poluentes Orgânicos encontrados no sedimento por CG/EM

Tempo de retenção (min)	Nomes dos compostos	Fórmula	Massa molecular
3,19	Sulfeto de Carbonila	$C_{14}H_{28}$	60
3,24	Urea	C_8H_8	60
3,43	Isopreno	$C_{12}H_{26}$	68
3,93	3-metil-1-butilamina	$C_{11}H_{22}$	87
5,86	Caprolactama	$C_{10}H_{22}$	113
16,69	2,4-di-terc-butilfenol	$C_{14}H_{22}O$	206

A ureia é um fertilizante nitrogenado comumente utilizado nos campos agrícolas para aumentar a produção (SAMAL et al., 2017). Além disso, compostos orgânicos derivados de ureia são utilizados como pesticidas com atividade herbicida e inseticidas, os quais incluem o monolinurom, o clorotolurom, o diurom, o isoproturom, o linurom o dimefurom, o diflubenzurom, o teflubenzurom e o lufenurom. A ureia é um resíduo de pesticida amplamente identificado em sistemas aquáticos onde há intensa atividade agrícola (DIVYA e BELAGALI, 2012) de acordo com esses autores a ureia penetra nas águas superficiais e subterrâneas através da lixiviação e escoamento superficial de terras agrícolas. Sua entrada na água superficial depende das propriedades físicas do solo, como a textura.

O sulfeto de carbonila (OCS) é um gás incolor, inodoro (quando puro) e relativamente estável com um ponto de ebulição de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ele é pouco solúvel em água, tendo uma solubilidade de $3,56\text{--}1,49\text{ g L}^{-1}$ a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (BARTHOLOMAEUS e HARITOS, 2005). O sulfeto de carbonila é um gás que ocorre naturalmente no ambiente. Ele está presente naturalmente na atmosfera, plantas e solo, bem como em muitos alimentos crus e processados, incluindo cereais e oleaginosas (REN e DESMARCHELIER, 2001). É produzido naturalmente em solos, raízes, brotos de plantas, por microorganismos e é um subproduto do metabolismo aeróbio dos mamíferos. A sua ocorrência natural está relacionada à do dissulfeto de carbono e com o ciclo do enxofre (BARTHOLOMAEUS e HARITOS, 2005). Os solos são conhecidos por terem o potencial de serem fontes ou sumidouros de OCS, dependendo da qualidade e fonte do solo, e de vários fatores, como a concentração atmosférica de OCS, temperatura ou teor de água no solo.

Dentre suas aplicações, o sulfeto de carbonila pode ser utilizado como inseticida fumigante (RAJASHEKAR, 2016). Ele foi desenvolvido para substituir o brometo de metila, que foi eliminado devido a suas propriedades de esgotamento do ozônio, e para suplementar o gás fosfina devido ao desenvolvimento da resistência nos insetos (BARTHOLOMAEUS e HARITOS, 2005).

Esse gás pode ainda estar presente no ambiente por ser um produto da decomposição dos tiocarbamatos. A decomposição de tiocarbamatos leva à formação do metabólito de isocianato altamente reativo ou metabólito de sulfeto de carbonila, como mostra a Figura X. Tiocarbamatos são compostos amplamente utilizados como pesticidas, bem como aceleradores na indústria da borracha, repelentes de animais e biocidas em produtos domésticos. Como o sulfeto de carbonila pode estar presente no ambiente de fontes biogênicas ou antropogênicas, para confirmar se a presença desse gás em sedimentos do estuário do rio Mamanguape é devido às atividades antropogênicas, é necessário fazer a quantificação para comprovar se sua concentração no ambiente excede os valores naturais.

A Caprolactama é uma amida cíclica de ácido capróico e é amplamente utilizada como precursor para polímero sintético. Ela possui melhor combinação de propriedades termomecânicas adequadas para fabricação de compósitos poliméricos devido à sua estrutura flexível ($-\text{NH}-\text{CO}-$) formada durante reação in situ da caprolactama alifática cíclica com benzoxazina. Apresenta alta solubilidade em água (KLEIN et al., 2018). A

caprolactama (CPL) é uma importante matéria-prima química orgânica, usada principalmente para produzir fibras sintéticas e plásticas de poliamida 6 (comercialmente, conhecida com nylon 6) (SHI et al., 2015). O nylon 6 é um tipo de poliamida sintetizada a partir da polimerização de monômeros da caprolactama (CAP). Em 2001, 73% do nylon 6 produzido destinava-se, sob forma de fibras, à fabricação de tapetes e vestuário, enquanto os 27% restantes, sob a forma de resinas, eram utilizados pela indústria para a produção de plásticos. A caprolactama também tem amplas aplicações em engenharia médica para a produção de antiagregantes plaquetários 6-aminocapróicos. A produção mundial de caprolactama é de aproximadamente 4,5 bilhões de quilos por ano (SHI et al., 2015).

O 3-metil-1-butilamina é um semioquímico, composto orgânico volátil produzido por micro-organismos. Esses compostos voláteis atuam como mensageiros dentro ou entre espécies de insetos, induzindo comportamentos particulares, como a localização de uma fonte de alimentos, a orientação para um local adequado de oviposição, a seleção de um local de reprodução adequado e a localização de anfitriões ou presas (LEROY; SABRI, 2011). Além disso, semioquímicos produzidos por determinados fungos e bactérias podem ser utilizados no controle de pragas (DAVIS et al., 2013).

O isopreno é um líquido volátil, odorífero e incolor (temperatura de ebulição 34°C; pressão de vapor saturado de 53,2 kPa (20 °C)). Ele tem amplas aplicações industriais, sendo utilizado como aditivo de combustível, matéria prima para produção de borracha sintética e natural, poliisobutileno e butílico, fabricação de perfumes e pesticidas (LV et al., 2016; YAO et al., 2018). O isopreno é derivado de matérias primas do petróleo (LV et al., 2015). Entretanto, ele pode ser emitido no ambiente por plantas terrestres, microalgas (principais produtoras no ambiente aquático) e solo, sendo considerado o composto orgânico volátil biogênico (COVB) que é mais abundantemente produzido na terra. Esse COVB é altamente reativo e pode ter efeitos atmosféricos diversos e frequentemente prejudiciais, que afetam o clima e a saúde. Isso ocorre, pois, o isopreno emitido na atmosfera, ao sofrer oxidação, pode formar aerossóis secundários que contribuem com a formação de material particulado (RATTANAVARAHA et al., 2016).

O 2,4-di-terc-butilfenol é um composto fenólico, amplamente, utilizado como aditivo plástico. Esse composto é frequentemente identificado na água e sedimentos aquáticos de regiões onde há intensa atividade industrial e que são densamente povoadas (DEKIFF et al., 2014; LI et al., 2015). Sua presença nessas matrizes ambientais é atribuída, principalmente, à presença de microplásticos (FRIES et al., 2013). No presente estudo o 2,4-di-terc-butilfenol foi identificado no sedimento em todas as estações do estuário do Rio Mamanguape (Figura 3).

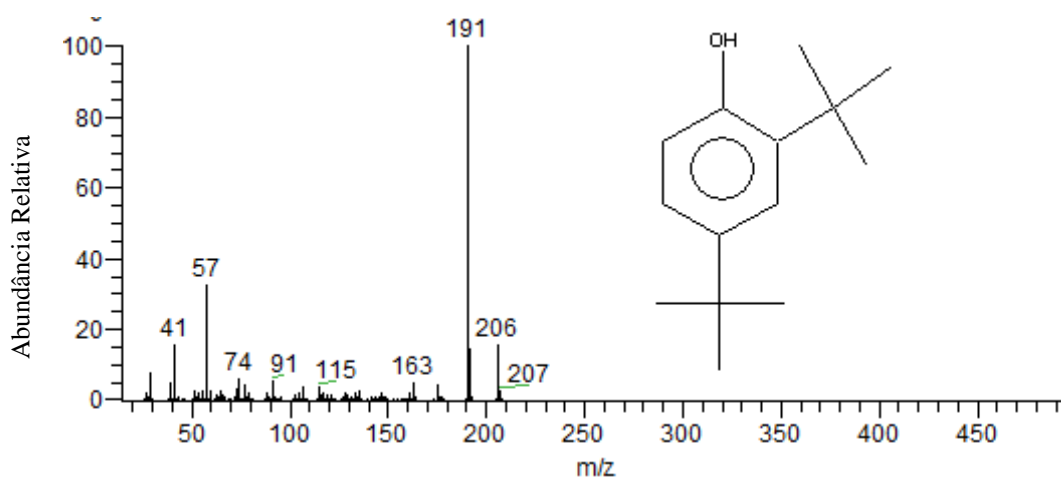


Figura 3. CG/EM revelando o 2,4-di-terc-butilfenol e o padrão de fragmentação em Sedimentos do estuário do Rio Mamanguape.

CONCLUSÃO

Das substâncias identificadas, foram consideradas como Poluentes Orgânicos a ureia por serem tóxicas às espécies aquáticas, apesar de não causar nenhuma toxicidade aguda nesses organismos. Como também o Sulfeto de carbonila, por ser utilizado como inseticida. O Caprolactama pode ser utilizado na indústria química para produzir fibras sintéticas e plásticas e o 2,4-Di-tert-butilfenol por ser considerado um desregulador endócrino. Diante dos resultados obtidos, foi possível observar a escassez de literatura a respeito das substâncias identificadas no que diz respeito a ecossistemas estuarinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKHBARIZADEH R., MOORE F., KESHAVARZI B., MOEINPOUR A. Microplastics and potentially toxic elements in coastal sediments of Iran's main oil terminal (Khark Island). *Environmental Pollution*, v.220, p.720-731, 2017
2. ANASTASSIADES M., LEHOTAY S. J., Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile. *Journal of AOAC International* (86) 412–431, 2003.
3. BARTHOLOMAEUS, A. R.; HARITOS, V. S. Review of the toxicology of carbonyl sulfide , a new grain fumigant. v. 43, p. 1687–1701, 2005.
4. DAVIS, T. S. et al. Microbial Volatile Emissions as Insect Semiochemicals. 2013
5. DEKIFF, J. H. et al. Occurrence and spatial distribution of microplastics in sediments from Norderney. *Environmental Pollution*, v. 186, p. 248–256, 2014.
6. DIVYA, J.; BELAGALI, S. L. Impact of chemical fertilizers on water quality in selected agricultural areas of Mysore district , Karnataka , India. v. 2, n. 3, p. 1449–1458, 2012.
7. FRIES, E. et al. Environmental Science Processes & Impacts scanning electron microscopy †. p. 1949–1956, 2013.
8. KLEIN, S. et al. Analysis , Occurrence , and Degradation of Microplastics in the Aqueous Environment. p. 51–67, 2018.
9. LEHOTAY, S.J., MAŠTOVSKÁ, K., YUN, S.J., 2005. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes. *J. AOAC Int.* 88, 630–638, 2005.
10. LEROY, P. D.; SABRI, A. The semiochemically mediated interactions between bacteria and insects. p. 113–122, 2011.
11. LI HONGJUN., LIN LIN., SHENG YE., HONGBO LI., JINGFENG FAN. Assessment of nutrient and heavy metal contamination in the seawater and sediment of Yalujiang Estuary. *Marine Pollution Bulletin* 499-506. doi:10.1016, 2017.
12. LI, B. et al. Occurrence and distribution of phthalic acid esters and phenols in Hun River Watersheds. 2015
13. LV, X. et al. production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature Communications*, v. 7, p. 1–12, 2016.
14. MIRANDA L. B., CASTRO B. M., KJERFVE B. Princípios de oceanografia física de estuários. São Paulo., 2002.
15. NAIDOO T., GLASSOM D., SMIT A. J. Plastic pollution in five urban estuaries of KwaZulu-Natal, South Africa. *Marine Pollution Bulletin* 101 473–480. ISSN:0025-326, 2015.
16. PRITCHARD D. W. What is an estuary: physical viewpoint. *American Association for the Advancement of Science*, v.15, p.200- 257, 1967.
17. RAJASHEKAR, Y. Toxicity of coumaran to stored products beetles. *Journal of Stored Products Research*, v. 69, p. 172–174, 2016.
18. RATTANAVARAHA, W. et al. Assessing the impact of anthropogenic pollution on isoprene-derived secondary organic aerosol formation in PM_{2.5} collected from the Birmingham , Alabama , ground site during the 2013 Southern Oxidant and Aerosol Study. n. 3, p. 4897–4914, 2016.
19. REN, Y. L.; DESMARCHELIER, J. M. Natural occurrence of carbonyl sulfide and ethyl formate in grains. p. 639–649, 2001.
20. ROCHA M. S. P., MOURÃO J. SOUTO M. S. W., BARBOZA R. R. D., RÔMULO A. O uso dos recursos pesqueiros no estuário do rio Mamanguape, estado da Paraíba, Brasil. *Interciencia*. 33(33) 903-909, 2008.
21. RODRIGUES, G.S., RODRIGUES, I.A., BUSCHINELLI, C., QUEIROZ, J.F., FRIGHETTO, R.T.S., ANTUNES, L.R., NEVES, M.C.M., FREITAS, G.L. DE, ROMANA RODOVALHO, B. Gestão Ambiental Territorial na Área de Proteção Ambiental da Barra do Rio Mamanguape (PB). Jaguariúna Embrapa Meio Ambient. 89, 2008.

22. SAMAL, S.; SAHOO, S.; MISHRA, C. S. K. Morpho-histological and enzymatic alterations in earthworms *Drawida willsi* and *Lampito mauritii* exposed to urea , phosphogypsum and paper mill sludge. *Chemistry and Ecology*, v. 0, n. 0, p. 1–15, 2017.
23. SHI, K. et al. Dissipative particle dynamics study of the water / benzene / caprolactam system in the absence or presence of non-ionic surfactants. *Chemical Engineering Science*, v. 122, p. 185–196, 2015.
24. WU Y., SHI J., ZHENG G. J., PING LI., LIANG, BO., CHEN T., LIU W. Evaluation of organochlorine contamination in Indo-Pacific humpback dolphins (*Sousa chinensis*) from the Pearl River Estuary, China *Science of the Total Environment*, p.423–429, 2013.
25. YAO, Z. et al. Enhanced isoprene production by reconstruction of metabolic balance between strengthened precursor supply and improved isoprene synthase in *Saccharomyces cerevisiae* Enhanced isoprene production by reconstruction of metabolic balance between strengthened precursor supply and improved. 2018.