

AVALIAÇÃO TEMPORAL DO TEOR DE MERCÚRIO TOTAL EM *CATHOROPS SPIXII* SUBMETIDOS AO MÉTODO DE CONSERVAÇÃO PARA COLEÇÕES DE ICTIOLOGIA

Jéssica Zickwolf Ramos

Aluna de Graduação da Licenciatura em Química 3º período, UFRJ

Período PIBIC/CETEM: outubro de 2011 a julho de 2012

jramos@cetem.gov.br

Zuleica Carmen Castilhos

Orientadora, Bioquímica, D.Sc.

zcastilhos@cetem.gov.br

Lillian Maria Borges Domingo

Coorientadora, Química Industrial, M.Sc.

ldomingos@cetem.gov.br

1. INTRODUÇÃO

A contaminação ambiental por mercúrio (Hg) é um problema de interesse mundial. Há estudos que mostram um incremento de 2 a 5 vezes nos teores de Hg nos sistemas aquáticos como resultado de emissões antropogênicas, desde o período pré-industrial no Hemisfério Norte (NATER&GRIGAL, 1992; MONTEIRO & FURNESS, 1997). Nos sistemas aquáticos, o Hg pode ser metilado formando o metilmercúrio (MeHg), que bioconcentra e biomagnifica na cadeia trófica aquática. Devido à complexidade das análises de MeHg, a quantificação de mercúrio total (HgT) em tecido muscular de peixe tem sido amplamente utilizada como indicador de qualidade ambiental. Essa correlação é válida, pois em diversos trabalhos realizados foi encontrado que o percentual de MeHg em peixes em relação ao HgT varia entre 75 a 90%.

Séries históricas referentes à contaminação por Hg em pescado são raras para ecossistemas aquáticos brasileiros e poderiam ser obtidas através da determinação em exemplares de acervo de museus de ictiologia. Contudo, são escassos os estudos nestes acervos, bem como pesquisas que tratam do efeito de métodos de preservação de amostras utilizados em museus na concentração de metais tóxicos em músculo de peixe.

O CETEM em conjunto com o MNRJ realizaram projeto de pesquisas na Amazônia Brasileira, tendo capturado mais de 50.000 espécimes de peixes, atualmente conservados no acervo do MNRJ, que podem vir a ser objeto de análises de Hg no tecido muscular.

2. OBJETIVOS

O presente projeto visa avaliar e compreender a variação dos teores de HgT em tecido muscular de peixes conservados em álcool ao longo do tempo, visando a utilização de peixes de acervo para avaliação temporal e espacial de Hg em diferentes sistemas aquáticos brasileiros.

3. METODOLOGIA

Em dezembro de 2010 foi realizado o trabalho de campo para a coleta dos peixes na Baía de Guanabara, próximo à Ilha de Paquetá, Rio de Janeiro/RJ. A coleta ocorreu em parceria com o Departamento de Geoquímica da Universidade Federal Fluminense (UFF). A Baía de Guanabara localiza-se no Estado do Rio de Janeiro, entre os paralelos 22°24' e 22°57' de latitude Sul, e meridianos 43°33' e 43°19' Oeste.

Os peixes da espécie *Cathorops spixii* de nome popular bagre-amarelo, foram coletados através da técnica de arrasto de fundo. Foram capturados dezenove peixes da mesma espécie com

tamanho/massa suficientes para a realização da amostragem de tecido muscular antes e depois do uso de substâncias para preservação (FERREIRA, *et al.*, 2011).

A metodologia de preservação usada nos peixes coletados seguiu o mesmo padrão do Museu Nacional do Rio de Janeiro que consiste em: armazenar os exemplares em formol 10% por um período máximo de sete dias para adequada fixação e, posteriormente, lavá-los em água corrente e armazená-los em álcool 70% por tempo indefinido. (FERREIRA, *et al.*, 2011).

Para a determinação do teor de HgT utilizou-se o equipamento LUMEX (RA 915+), específico para análise desse metal por espectrofotometria de absorção atômica acoplado a uma câmara de pirólise. O equipamento trabalha de acordo com o princípio da destruição térmica da amostra seguida da quantificação de vapor de Hg. O limite de detecção do método é de 5,0 ng/g.

Diante das dificuldades encontradas para se quantificar HgT em tecido biológico impregnado no formol e/ou álcool, foi buscado na literatura diversas abordagens (WHALING *et al.* 1984, CARBONELL *et al.* 2009). A que se mostrou mais facilmente utilizável preconiza lavar a amostra em água corrente para retirar o excesso de preservativo; secá-la com auxílio de papel absorvente (EVANS *et al.* 1972) para posteriormente, analisá-la no aparelho LUMEX.

Procedeu-se a análise de HgT dos 19 peixes coletados após 7 dias de exposição ao formol, após armazenamento de 30 dias em álcool e desse total, sete peixes conservados em álcool 70 v/v foram analisados após 18 meses. A acuracidade foi avaliada utilizando amostra certificada IAEA 407- *Trace Metals and Methyl Mercury in Fish Homogenate* (222 ng/g) com resultado médio de 235,5 ng/g, obtendo-se 6% de erro.

O método utilizado para a determinação de MeHg de 3 peixes preservados em álcool após 16 e 17 meses foi a extração com ditizona seguida da cromatografia gás-líquido com detecção de elétron (GLC-ECD). Esse método envolve os seguintes passos: pré-tratamento da amostra, extração por ditizona, extração de volta em sulfeto de sódio alcalino, re-extração em ditizona e a medida das concentrações em GLC.

A umidade de uma amostra de peixe preservado em álcool 70% por 18 meses foi determinada gravimetricamente em estufa à 105°C (AOAC, 1990).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho dá continuidade ao projeto “Avaliação temporal e espacial de teores de mercúrio em peixes de acervos de ictiologia”. Na primeira fase deste projeto, os resultados foram oriundos da análise da variação dos teores de HgT em função do uso do formol e da primeiro mês em meio do álcool para a preservação do tecido muscular de peixes. Os resultados mostraram que, de modo geral, houve uma diminuição na concentração de HgT depois de armazenados em formol e um aumento na concentração depois da conservação em álcool por 7 dias. Os resultados (FERREIRA *et al.*, 2011), são mostrados no Quadro 1.

Quadro 1: Médias dos teores de HgT nas amostras de músculo de peixe em função de conservantes e de tempo de permanência.

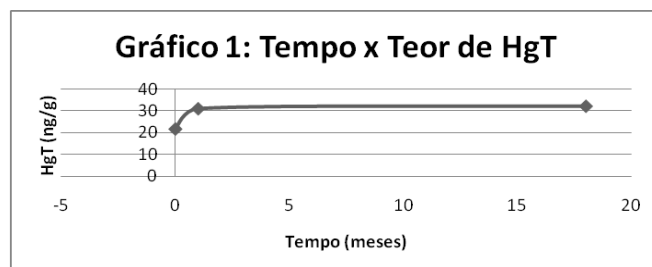
Tempo decorrido	Média do teor de HgT (ng/g)
In natura	19,3 ± 3,8 (n=19)
7 dias no formol 10	11,7 ± 2,2 (n=19)
30 dias no álcool 70	29,9 ± 12,0 (n=19)

Foram analisados os resultados da variação dos teores de HgT em função do tempo de conservação dos peixes em álcool, pós-formol, pois é esta a condição da grande maioria dos peixes em acervos. A média dos resultados de HgT dos peixes analisados em diferentes momentos encontra-se na Tabela 1 e estão representados, também, no Gráfico 1.

Tabela 1: resultados HgT nas de	Tempo decorrido	Média do teor de HgT (ng/g)	Média dos de teor de amostras músculo
	In natura	21,7 ± 3,8 (n=7)	
	1 mês no álcool 70%	31,1 ± 7,2 (n=7)	
	18 meses no álcool 70%	32,3 ± 11,9 (n=7)	

de peixe em função do tempo de permanência em álcool.

Gráfico 1: Médias dos resultado do teor de HgT nas amostras de músculo de peixe.



Como se pode observar no Gráfico 1, no primeiro mês de conservação dos peixes em álcool 70% a concentração de HgT teve um expressivo aumento médio de 37,54%. No entanto, após 18 meses de conservação notou-se que o aumento médio relativo ao teor do metal após 1 mês, foi de apenas 18,32%. Indicando que aumento da concentração de HgT tende a estabilizar. Segundo *Hill et al. 2009* a explicação para o aumento na concentração do mercúrio em peixes após processos de conservação é a interação entre álcoois e lipídeos, de modo que álcool utilizado no processo extrai os lipídeos do músculo do peixe. Uma vez ocorrida essa extração o peso do peixe diminui, aumentando a concentração de HgT no animal.

Além disso, o outro fator que pode ter contribuído significativamente para esse aumento de concentração é variação da umidade. Embora não tenha sido medida a umidade dos peixes quando *in natura*, pode-se estimar essa, de acordo com *Natarajan & Sreenivasan et al. 1961* e em experiências prévias no LEMA/CETEM, valores entre 67,90% e 83,60%. E, o percentual de umidade no peixe pós-processo de conservação em álcool por 18 meses foi de 46,03%. Portanto, houve uma expressiva diminuição na umidade. Assim, do mesmo modo que a extração de lipídios, a perda de água também contribuiu para o aumento no teor de HgT em peixes preservados. Essa variação na umidade pode ter sido ocasionada pelo próprio processo de conservação, ou pela metodologia de secagem pós-lavagem para retirar a substância preservativa.

Faz-se necessário uma nova coleta de peixes, a fim de avaliar como a perda de lipídios e de água no músculo do peixe, causados pelo processo de preservação de espécimes, contribui no aumento da concentração de HgT. Para tal, é preciso extrair e quantificar os lipídios dos peixes *in natura*, determinar a umidade e liofilizar os peixes antes das análises de HgT, controlando, assim, os possíveis interferentes. Com isso, é possível tentar estabelecer a relação da concentração de HgT em diferentes espécies de peixes, *in natura* e pós conservação.

Outra possibilidade de estudo seria a busca por uma taxa de incremento de HgT em diferentes espécies de peixes, o que poderia corrigir os teores de HgT pós-conservação, uma vez que foi observada a tendência à estabilização dos valores de HgT. Desta maneira, as próximas análises serão realizadas *in natura* e em diferentes tempos de conservação considerando diferentes espécies de peixes, visando verificar a reprodução da estabilidade obtida com a espécie *Cathorops spixii*.

Adicionalmente, foram analisados os teores de MeHg em 03 amostras de peixes, em diferentes tempos de conservação em álcool, conforme mostrado abaixo, na Tabela 2.

Tabela 2. Teores de HgT e de MeHg nas amostra em diferentes tempos de conservação.

Amostras	27/04/2012		04/06/2012	
	HgT (ng/g)	MeHg (ng/g)	HgT (ng/g)	MeHg (ng/g)

Peixe 15	58,0	48,16	61,0	54,80
Peixe 5	30,5	29,18	31,0	29,23
Peixe 8	37,08	34,52	36,0	37,08

A razão entre os teores de HgT e MeHg variou entre 83 a 103% , seguindo o esperado. A máxima variação dos teores de HgT e de MeHg em função dos diferentes tempos de preservação foi de 13% para o espécime n. 15 sendo que os demais demonstraram pouca variação. Estes resultados corroboram com a hipótese de que a análise de HgT pode ser utilizada em um primeiro momento como um bom indicador de MeHg em tecido muscular de peixes e que, por estes resultados preliminares, indicam que as alterações nos teores de MeHg em função do tempo de preservação tem padrão similar com a variação observada nos teores de HgT.

Conclui-se que o padrão de conservação de peixes em acervos, utilizando formol e em seguida álcool, por um longo período tem algumas variações nos teores de HgT em músculo de peixes, mas atinge a estabilidade ao longo do tempo. Tais variações, uma vez compreendidas, poderão ser padronizadas, permitindo a comparação espacial de HgT em peixes de sistemas aquáticos brasileiros, com resultados de séries históricas, o que ampliará o conhecimento sobre a contaminação por Hg em ambientes tropicais.

4 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida, à minha orientadora Zuleica Carmen Castilhos pela confiança e ensinamentos, à minha co-orientadora Lillian Maria Borges Domingos pela boa vontade e ao Departamento de Geoquímica da UFF pelos espécimes de peixes cedidos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC.(ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington: AOAC, 1990.

CASTILHOS, Z. C. (2001) **Manual de quantificação de mercúrio total e de metilmercúrio em amostras ambientais e biológicas no Laboratório de Especificação de Mercúrio do CETEM**. CETEM, 40p.

FERREIRA, A. R. L.; BUCKUP, P. A.; CASTILHOS, Z. C.; ARAÚJO, P.; (2011) **Avaliação temporal e espacial de teores de mercúrio em peixes de acervos**. Relatório Parcial CNPq.

EVANS, R. J., BAILS, J. B.; **Mercury Levels in Muscle Tissues of Preserved Museum Fish**. *Environmental Science & Technology*, 1972.

GIBBS R. H.; JAROSEWICH E.; WINDOW H.L. (1974). Heavy metal concentrations in museum fish specimens: Effects of preservatives and time. **Science** 184:475–477.

HILL, J.J.; CHUMCHAL, M. M.; DRENNER R. W.; PINDER III J. E.; DRENNER S. M. 2009. Use of preserved museum fish to evaluate historical and current mercury contamination in fish from two rivers in Oklahoma, USA. **EnvironMonitAssess** (2010) 161:509-516.

MONTEIRO L.R.; COSTA V.; FURNESS R.W.; SANTOS R.S. 1996. Mercury concentrations in prey fish indicate enhanced bioaccumulation in mesopelagic environments. **Mar EcolProgSer** 141:21–25.

NATARAJAN, V.M. & SREENIVASAN, A., 1961. Proximate and mineral composition of freshwater fishes. *Ind. J. Fish.*, **Bhavanisagar**, 8(2):422-9.

NRIAGU, J. O. (Ed.). *The biochemistry of mercury in the environment*. Amsterdam: **Elsevier North Holland**, 1979, p. 277-302.

RODRIGUES, A. P.; CASTILHOS, Z. C.; SILVA, L. C. C.; **Avaliação de risco ecológico em ecossistemas aquáticos contaminados por mercúrio Comunicação técnica ao IX Congresso Brasileiro de Limnologia**, 20 – 25 de Julho de 2003, UFJF, Juiz de Fora, MG.

WHALING, J. P., BARBER, R. T.; **Mercury in Recent and Century-Old Deep-sea Fish**, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 18, No. 7, 1984