

Concentrações de mercúrio em peixes do Museu Nacional do Rio de Janeiro: efeitos dos processos de preservação e do tempo

Aline Ribeiro Lessa Ferreira

Bolsista de Iniciação Científica, Engenharia Ambiental, UFRJ

Francisco Rego Chaves Fernandes

Orientador, Economista, D. Sc.

Ana Paula de Castro Rodrigues

Co-orientadora, Bióloga, D. Sc.

Zuleica Carmen Castilhos

Co-orientadora, Farmacêutica, D. Sc.

Paulo Andreas Buckup

Co-orientador, Biólogo, Ph. D.

Resumo

Séries históricas referentes à contaminação por mercúrio em pescado são raras para ecossistemas aquáticos brasileiros e poderiam ser obtidas através da determinação em exemplares de acervo de museus de ictiologia. O objetivo deste trabalho foi avaliar as variações da concentração de mercúrio total em amostras de músculo de peixes contendo formol (10%) para posterior avaliação de possíveis variações de mercúrio devido aos métodos de preservação de espécimes para coleções de ictiologia. Com o apoio do Departamento de Vertebrados do Museu Nacional do Rio de Janeiro, seis peixes de quatro espécies foram coletados e armazenados de acordo com suas práticas de preservação. As concentrações nas amostras preservadas em formol 10% não diferiram das amostras sem tratamento prévio. Como próxima etapa, será desenvolvida metodologia para determinação de mercúrio total em amostras de músculos de peixes em álcool 70%.

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). Considerado uma das seis substâncias químicas de maior toxicidade e prioritárias para estudos ambientais, tem no sistema aquático fluvial o mais importante compartimento ambiental, podendo ser oxidado e metilado, formando o metilmercúrio – MeHg. Este elemento possui a capacidade de se bioconcentrar nos organismos aquáticos e biomagnificar ao longo da cadeia trófica, atingindo os maiores teores em peixes piscívoros. Por esta razão têm-se utilizado amplamente os peixes como bioindicadores de qualidade ambiental. Para a avaliação de risco ecológico, faz-se necessário o conhecimento de valores referenciais de bioindicadores de efeitos; ou seja, seus valores na ausência da exposição ambiental (Souto, 2004). Entretanto, cada vez mais as áreas de referência tornam-se escassas e com elas, o conhecimento dos valores referenciais de contaminantes em peixes e valores referenciais de bioindicadores.

Séries históricas referentes à contaminação por mercúrio em pescado são raras para ecossistemas aquáticos brasileiros e poderiam ser obtidas através da determinação em exemplares de acervo de museus de ictiologia.

Estes acervos contemplam uma gama de espécies coletadas em distintas escalas temporais e espaciais. Contudo, são escassos os estudos nestes acervos biológicos, bem como pesquisas que tratam do efeito de métodos de preservação de amostras utilizados em museus na concentração de metais tóxicos em músculo de peixes. De fato, Barber et al. (1972) demonstram não haver nenhuma interação entre os métodos de preservação adotados em museus com a concentração de mercúrio no músculo do peixe. Entretanto, Gibbs et al. (1974) reportam uma possível fixação diferencial de metais ao longo do tecido de peixes em decorrência da exposição prolongada a substâncias preservativas. Ainda que interferências nos teores de mercúrio sejam identificadas em função da metodologia de preservação versus tecidos congelados, Martins e colaboradores (2006) sugerem comparar teores de mercúrio em peixes pertencentes a um mesmo museu que tenham sido coletados na mesma época, por terem ficado o mesmo tempo expostos aos preservativos e terem passado por tratamentos idênticos. Portanto, torna-se necessário avaliar a variação dos teores de mercúrio em peixes em função da metodologia de conservação em acervos.

2. Objetivos

Este trabalho tem como objetivo avaliar as variações da concentração de mercúrio total em amostras de músculo de peixes contendo formol (10%) para posterior avaliação de possíveis variações de mercúrio em tecido muscular de peixes submetidos aos métodos de preservação de espécimes para coleções de ictiologia.

3. Materiais e Métodos

3.1. Área de estudo

Em 27 de abril de 2010 foi realizado o trabalho de campo para a coleta dos peixes para este estudo. A amostragem ocorreu em parceria com o Setor de Ictiologia do Departamento Acadêmico de Vertebrados do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ), nos tributários do rio Macacu: rio Soarinho (Lat: 22°38'07,6" S; Long: 42°43'07,2" W) e rio Rabelo (Lat: 22°31'01,2" S; Long: 42°43'46,3" W), em Conceição de Macacu/RJ. O rio Soarinho possui drenagem Sudeste, pertence à sub-drenagem Macacu. Sua profundidade é de 0,4m com baixa correnteza, vegetação marginal moderada, substrato composto por lodo e coloração da água marrom. Já o rio Rabelo possui drenagem Sudeste, pertence à sub-drenagem Guapiaçú. Sua profundidade é de 0,8m com correnteza média, vegetação marginal moderada, substrato composto principalmente de cascalho e areia e coloração da água marrom. Como não se fazia necessária uma área de estudo específica, sua escolha ficou a critério do MNRJ em função de suas demandas.

3.2 Amostragem de peixes

Os peixes foram coletados utilizando-se puçás e picarés, preferencialmente em vegetações de margem e substrato dos rios. No total, foram capturados seis peixes com tamanho/massa suficientes para a realização da amostragem de tecido muscular antes e depois do uso de substâncias para preservação de amostras. Após a triagem nas redes, os peixes foram pesados em balança de precisão de 1 g, medidos e identificados através de rótulos coloridos numerados de acordo com a ordem de captura. Uma amostra do dorso, com cerca de 2 cm

cada, foi retirada com ajuda de um bisturi e armazenada em tubos Eppendorfs 1,5ml, sendo mantidas congeladas em gelo seco. Essas amostras foram encaminhadas diretamente ao Laboratório de Especificação de Mercúrio Ambiental (LEMA/CETEM) para determinação de mercúrio total. Após a retirada da amostra de músculo em campo, os peixes foram conservados em formol e levados pela equipe do MNRJ para passarem pelas práticas de preservação de amostras biológicas e identificação taxonômica.

A rotina de identificação e catalogação adotada pelo MNRJ compreende em armazenar os exemplares de peixes 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, necessitando apenas de adições periódicas de álcool devido às perdas por volatilização. O formol utilizado é da marca B. Herzog (Varejo de Produtos Químicos Ltda.), com dosagem de 36,% - 37,2%.

Após uma semana da campanha de campo e dos peixes permanecerem em formol 10%, foram retiradas novas amostras de músculo, que foram armazenadas em tubos Eppendorfs e mantidas congeladas até a realização das determinações de mercúrio total. Os dados referentes às amostras preservadas em álcool ainda estão em fase de desenvolvimento.

3.3. Determinação de Mercúrio Total

A determinação quantitativa de mercúrio total (HgT) em músculo de peixe foi realizada com o equipamento portátil LUMEX (RA 915+), específico para análises de HgT 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 pela determinação da quantidade de vapor de Hg. O limite de detecção do método é de 5ng/g. A acuracidade das análises foi acompanhada através do uso de amostra certificada IAEA 407 - *Trace Metals and Methyl Mercury in Fish Homogenate* (222ng/g), obtendo-se a média de 221,5±0,6ng/g. A precisão aceita é de, no mínimo, 90%. Em 2010, o LEMA participou com êxito de intercalibração laboratorial internacional coordenada pela *International Atomic Energy Agency* (IAEA).

3.4. Análises estatísticas dos dados

Para a verificação de possíveis diferenças entre as concentrações de mercúrio encontradas foram realizados testes estatísticos não paramétricos, utilizando o pacote estatístico SPSS versão 18.0.

4. Resultados e Discussões

Os peixes coletados foram identificados pelo Setor de Ictiologia do MNRJ em quatro espécies distintas: 1 exemplar de *Callichthys callichthys*, 1 exemplar de *Hoplias malabaricus*, 1 exemplar de *Rhamdia quelen* e 3 exemplares de *Hypostomus affinis*, conforme Figura 1.

Os resultados encontrados para as concentrações de mercúrio antes e depois da utilização do formol para fixação do material biológico podem ser visualizados na Tabela 1. De modo geral, as médias de mercúrio total em músculo de peixes encontradas foram menores do que o indicado como valor referencial em sistemas aquáticos fluviais de 200ng/g.

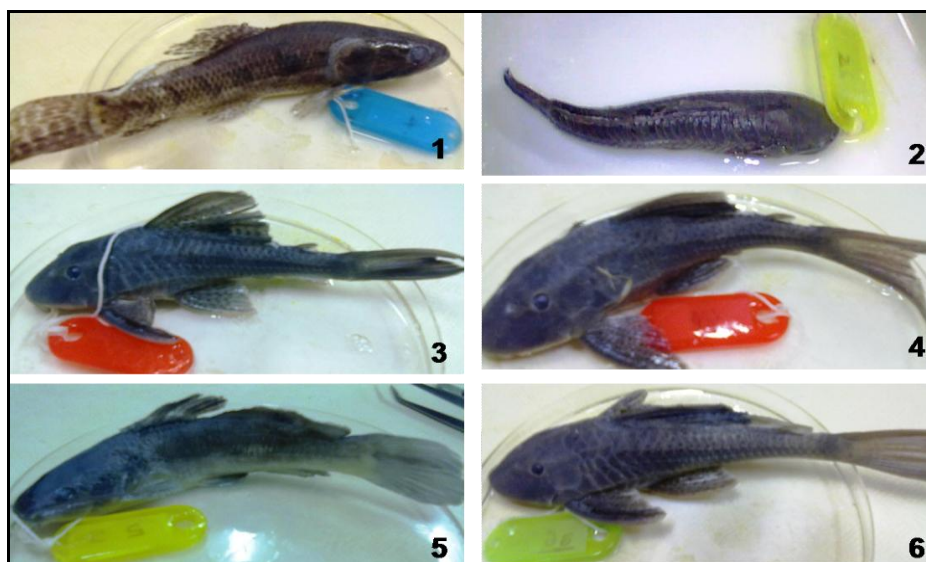


Figura 1: Amostras coletadas em Cachoeira de Macacu/RJ (1=*Hoplias malabaricus*; 2=*Callichthys callichthys*; 3=4=6=*Hypostomus affinis*; 5=*Rhamdia quelen*)

Dentre as espécies de peixes coletadas, a traíra *Hoplias malabaricus*, o tamboatá *Callichthys callichthys* e o bagre *Rhamdia quelen* possuem hábitos alimentares similares, tendo como itens-presa zoobentos e néctons. Já a espécie de cascudo *Hypostomus affinis* se alimenta principalmente de plantas (www.fishbase.org). Pode-se observar que há uma tendência dos níveis de mercúrio serem mais baixos na espécie herbívora *Hypostomus affinis* do que nas outras três espécies carnívoras, entretanto, esta diferença não foi estatisticamente significativa (teste não paramétrico; Mann-Whitney U; $p=0,05$).

Tabela 1: Concentrações em (ng/g) de mercúrio total em espécimes congelados e preservados em formol 10% por 7 dias, números de catálogo no Museu Nacional do Rio de Janeiro, comprimento total, peso e % da variação do mercúrio entre as amostras.

Nome Científico	Número de catálogo MNRJ	Comprimento total (cm)	Peso (g)	HgT (ng/g) <i>in natura</i>	HgT (ng/g) formol 10%
<i>Hypostomus affinis</i>	37069	16,6	12,7	61,0	48,5
<i>Hypostomus affinis</i>	37069	17,0	12,5	59,0	53,0
<i>Hypostomus affinis</i>	37069	20,0	14,5	62,0	48,0
<i>Hoplias malabaricus</i>	37038	17,0	44,0	120,0	91,5
<i>Rhamdia quelen</i>	37060	16,8	13,2	90,0	79,5
<i>Callichthys callichthys</i>	37042	11,0	9,0	104,0	97,5
TOTAL:		16,4 ± 2,9	17,7 ± 13,0	82,7 ± 25,9	69,7 ± 22,5

Em relação às variações após a primeira etapa de preservação de amostras biológicas (etapa de conservação em formol 10%) não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (teste Mann-Whitney U; $n=6$; $p>0,05$), sugerindo que não há uma modificação acentuada nos níveis de mercúrio nas amostras antes e depois da exposição ao formol. Analisando-se o grupo de herbívoros ($n=3$) e carnívoros ($n=3$) separadamente, também não foi aferida nenhuma diferença significativa (Wilcoxon Signed Ranks Test) entre a concentração de HgT *in natura* e de HgT em formol 10%.

Esses resultados estão em conformidade com os encontrados por Barber *et al.* em artigo publicado na Science (1972), no qual são encontrados teores similares em análises de mercúrio total no músculo axial dos peixes antes e depois de serem submetidos às práticas de preservação de museus.

5. Conclusão

De acordo com os resultados dos testes estatísticos, pode-se verificar que as amostras preservadas em formol não diferem das amostras sem tratamento prévio. A próxima etapa deste trabalho será avaliar a possibilidade do uso de animais preservados em álcool 70%, desenvolvendo metodologias para a determinação de mercúrio no músculo impregnado com álcool. Futuramente, serão realizados testes de HgT em formol e no álcool utilizados pelo Museu Nacional-RJ, antes e depois terem tido peixes preservados, para assim se confirmar os resultados propostos. Também se pretende aumentar o número de indivíduos analisados tendo em vista uma maior confiabilidade nos resultados obtidos.

Caso seja comprovada a viabilidade da utilização dos espécimes preservados em álcool, serão selecionadas espécies de peixes oriundas do Projeto AquaRios (Ecorregião Xingú-Tapajós) para a realização de uma avaliação espaço-temporal da contaminação por mercúrio nas bacias hidrográficas dos rios Xingu e Tapajós. Este projeto foi coordenado pelo Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) e contou com a coleta de mais de 50.000 espécimes de peixes, atualmente preservados no Museu Nacional do Rio de Janeiro.

6. Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa concedida, à Patrícia Araújo e Laila dos Santos do Laboratório de Especificação de Mercúrio Ambiental (LEMA) do CETEM, ao meu orientador Francisco Fernandes pela oportunidade, à minha co-orientadora Zuleica Carmen Castilhos pelo apoio e ensinamento, à minha co-orientadora Ana Paula de Castro Rodrigues pela paciência, dedicação e boa vontade, ao meu co-orientador Paulo Buckup pelo suporte na identificação das espécies de peixes, a José Rodrigues, Fernando Salgado e Christian Kramer pela ajuda no trabalho de campo.

7. Referências Bibliográficas

AKAGI, H.; KINJO, Y.; BRANCHES, F.; MALM, O.; HARADA, M.; PFEIFFER, W.C.; KATO, H. Methylmercury pollution in Tapajós river basin, Amazon. Environ. Sci. v.3, p. 25-32, 1994.

ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Toxicological profile. US. Dept. of Health and Human Services, TP-93/05, Atlanta, Ga., 1994.

BARBER, R.T.; CROSS, F.A. (1972). Mercury Concentrations in Recent and Ninety-Year-Old Benthopelagic Fish. *Science* 178: 636-638.

CARDOSO, T. P.; MÁRSICO, E. P.; MEDEIROS, R. J.; TORTELLY, R.; SOBREIRO, L.G. Concentração de mercúrio e análise histopatológica em músculo, rim e cérebro de peixe-espada (*Trichiurus lepturus*) coletados na praia de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.2, p.540-546, mar-abr, 2009.

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.

CESAR, R.G.; Metais pesados em solos e sedimentos fluviais em antiga área de garimpo de ouro em descoberto (Minas Gerais): uma abordagem biogeoquímica e ecotoxicológica. Tese (Mestrado) Instituto de Geociências, Programa de Pós-graduação em Geologia, 2009.

DANTAS, J. R. DA C.; ALMEIDA, J. R.; LINS, G. A.; Impactos Ambientais na Bacia Hidrográfica de Guapi/Macacu e suas Conseqüências para o Abastecimento de Água nos Municípios do Leste da Baía de Guanabara. *Série Gestão e Planejamento Ambiental*, Centro de Tecnologia Mineral, CETEM/MCT, Rio de Janeiro, RJ, 2007.

FISH BASE. Disponível em <www.fishbase.org>. Acessado em 22/06/10

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.

HELDER, C. 1999. Subsídios para Gestão dos Recursos Hídricos das Bacias Hidrográficas dos rios Macacu, São João, Macaé e Macabu – SEMA – Rio de Janeiro.

HUCKABEE, J. W.; ELWOOD, J. W.; HILDEBRAND, S. G. Accumulation of mercury in freshwater biota. In: NRIAGU, J. O. (Ed.). *The biochemistry of mercury in the environment*. Amsterdam: Elsevier North Holland, 1979, p. 277-302.

MARTINS, I.; COSTA, V.; PORTEIRO, F. M.; SANTOS, R. S. (2006) Temporal and Spatial Changes in Mercury Concentrations in the North Atlantic as Indicated by Museum Specimens of Glacier Lanternfish *Bentosema glaciale* Pisces: Myctophidae). *Environ Toxicol* 21: 528–532

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

NATER E.A.; GRIGAL D.F. 1992. Regional trends in mercury distribution across the Great lakes states, north central USA. *Nature* 358:139–141.

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.

SOUTO, P. S. dos S.; Risco ecológico associado a contaminação mercurial em ecossistemas aquáticos da Amazônia: Região do rio Tapajós, estado do Pará, Brasil. Caracterização através de biomarcadores no gênero *Cichla* (tucunarés). Tese (Doutorado) Geociências-Geoquímica ambiental, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

WHO. 1990.Environmental Health Criteria (EHC 101). Methylmercury. Geneva, 143p.,