UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
Programa de Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental

MARCIA DE OLIVEIRA CARDOSO

**Níveis de elementos-traço em organismos marinhos utilizados para
consumo humano**

São Carlos - SP

2018

MARCIA DE OLIVEIRA CARDOSO

**Níveis de elementos-traço em organismos marinhos utilizados para
consumo humano**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos pré-requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia Ambiental

Orientador:
Prof. Dr. Luiz Felipe Mendes de Gusmão

São Carlos – SP

2018

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESSE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

Oliveira Cardoso, Marcia
O319n Níveis de elementos-traço em organismos marinhos utilizados para consumo humano / Marcia Oliveira Cardoso; orientador Luiz Felipe Mendes de Gusmão. São Carlos, 2018.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2018.

1. Organismos marinhos. 2. Risco alimentar. 3. Bioacumulação. 4. Biomagnificação. 5. Elementos-traço. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bióloga **MARCIA DE OLIVEIRA CARDOSO**.

Título da dissertação: "Monitoramento multielementar de organismos marinhos utilizados no consumo humano, através de Fluorescência de Raios-X por reflexão total (TXRF)".

Data da defesa: 15/06/2018.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Dr. Luiz Felipe Mendes de Gusmão (Orientador)
(Universidade Federal de São Paulo/UNIFESP - Santos)

APROVADA

Prof. Dr. Italo Braga de Castro
(Universidade Federal de São Paulo/UNIFESP - Santos)

pf APROVADA

Profa. Dra. Gislene Temente Vilara
(Universidade Federal de São Paulo/UNIFESP - Santos)

pf APROVADA

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:

Prof. Associado **Frederico Fabio Mauad**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Associado **Luís Fernando Costa Alberto**

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental (EESC/USP).

Ao Laboratório Nacional de Luz Sincrotron (LNLS) pela disponibilização da estrutura para análise das amostras

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Felipe Mendes de Gusmão pela paciência, confiança, amizade e toda ajuda e apoio prestado ao longo do mestrado.

À Profa. Dra. Gislene Torrente Vilara pelo incentivo e apoio crucial ao meu retorno à academia, pela cessão de amostras e pela participação na banca avaliadora.

À Profa. Dra. Renata de Faria Barbosa pela disponibilidade e paciência para meu entendimento da metodologia.

Ao Prof. Dr. Italo Braga pela cessão das amostras e participação da banca avaliadora.

À Profa. Dra. Geórgia Labuto e ao Prof. Dr. Angerson Nogueira, da UNIFESP Diadema, pelo suporte nas análises químicas.

Aos meus pais que acreditaram nessa nova empreitada da minha vida e me apoiaram com muito amor ao longo dessa travessia.

À Mirlene, Leandro, Alcione e Cristina que me acolheram com muito carinho em São Carlos.

À Priscila Sepulveda pela cumplicidade e amizade.

RESUMO

CARDOSO, M.O **Níveis de elementos-traço em organismos marinhos utilizados para consumo humano. 2018.** Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018.

O consumo de peixes e frutos do mar está associado à manutenção de uma dieta saudável em função da sua proteína de elevado valor biológico, da presença de ácidos graxos poli-insaturados e de importantes nutrientes como selênio, ferro, cálcio e fósforo. No entanto, esses organismos representam uma importante fonte de elementos-traço contaminantes para os seres humanos em função da bioacumulação desses elementos que também podem biomagnificar ao longo da cadeia alimentar. Apesar da ocorrência natural de elementos-traço no meio ambiente, sua concentração nos ecossistemas costeiros tem aumentado drasticamente em função de atividades antropogênicas, fazendo com que os organismos marinhos atuem como um elo da contaminação ambiental à contaminação humana. O presente trabalho avalia a concentração de elementos-traço em diferentes tecidos de organismos marinhos sob dois aspectos: (1) o risco alimentar associado ao consumo das espécies analisadas e (2) a bioacumulação dos elementos em diferentes tecidos. Para isso foram analisadas três espécies de peixes comercializadas na cidade de Santos (SP): *Sphyraena guachancho* (bicuda), *Priacanthus arenatus* (olho de cão) e *Genidens genidens* (bagre) e três espécies coletadas em diferentes pontos do Sistema Estuarino de Santos (SP): *Callinectes danae* (siri azul), *Mytella guyanensis* (mexilhão) e *Mugil curema* (parati). O hábito alimentar foi o principal critério para seleção das espécies. O risco alimentar, calculado pelo Índice Provisório de Risco (PHI) e pelo Índice Provisório de Risco Total (PTHI), apresentou valores elevados para *Sphyraena guachancho* (espécie piscívora) e para peixes e siris coletados no Sistema Estuarino de Santos. A bioacumulação foi associada à espécie, tecido e tipo de elemento avaliado. A espécie piscívora apresentou elevada concentração de Ba, Hg e Ag no tecido muscular, indicando a potencial biomagnificação desses elementos ao longo da cadeia alimentar. *Genidens genidens*, espécie detritívora, apresentou elevada concentração de Ba, Cd e Pb na nadadeira, possivelmente associado às estratégias de detoxificação da espécie, por meio da imobilização desses contaminantes no esporão ósseo.

Palavras-chave: Organismos marinhos. Risco alimentar. Bioacumulação. Biomagnificação. Elementos traço

ABSTRACT

CARDOSO, M. O. **Levels of trace elements in marine organisms used for human consumption. 2018.** Dissertation (MSc) – School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2018.

The consumption of fish and seafood is associated with the maintenance of a healthy diet due to its protein of high biological value, the presence of polyunsaturated fatty acids and important nutrients as selenium, iron, calcium and phosphorus. However, these organisms represent an important source of contaminant trace elements for humans due to the bioaccumulation of these elements in tissues that can also biomagnify along the food chain. Despite the natural occurrence of trace elements in the environment, its concentration in coastal ecosystems has increased dramatically as a result of anthropogenic activities, causing marine organisms to act as a link between environmental and human contamination. The present work evaluates the concentration of trace elements in different tissues of marine organisms under two aspects: (1) the food risk associated with the consumption of the species analyzed and (2) the bioaccumulation of the elements in different tissues. Three species of fish commercialized in the city of Santos (SP) were analyzed: *Sphyraena guachancho* (bicuda), *Priacanthus arenatus* (dog eye) and *Genidens genidens* (catfish) and three species collected at different points of the Santos Estuarine System (SP): *Callinectes danae* (blue crab), *Mytella guyanensis* (mussel) and *Mugil curema* (parati). The eating habit was the main criteria for selection of the species. The food risk, calculated by means of the Provisional Hazard Index (PHI) and the Provisional Total Hazard Index (PTHI), presented high values for the piscivorous species *Sphyraena guachancho* and for fish and crabs collected in Santos Estuarine System. The bioaccumulation was associated with the species, tissue and type of element evaluated. The piscivorous species had a high concentration of Ba, Hg and Ag in muscle tissue, indicating the potential biomagnification of these elements along the food chain. *Genidens genidens*, a detivorous species, presented a high concentration of Ba, Cd and Pb in the fin, possibly associated with the detoxification strategies of the species, through the immobilization of these contaminants in the bone spur.

Key words: Marine organisms. Food risk. Bioaccumulation. Biomagnification. Trace elements

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Concentração de elementos não metálicos e metais alcalinos (Ba, Br, Ca, Cl, K, P e S) no músculo e nadadeira das três espécies de peixes.	26
Figura 2: Concentração de elementos metálicos (Ag, C, Fe, Ti e Zn) no músculo e nadadeira das três espécies de peixes.....	27
Figura 3: Concentração de elementos metálicos (Cd, Cr, Hg, Mn, Ni e Pb) no músculo e nadadeiras das três espécies de peixes.....	28
Figura 4: Concentração de metais pesados e outros elementos no músculo e nadadeiras das três espécies de peixes.	30
Figura 5: Área de estudo.....	44
Figura 6: Localização dos pontos amostrados em relação a potenciais fontes de poluição..	45
Figura 7: Concentração de metais nos siris, mexilhões e no fígado, brânquia e musculo dos peixes.	52
Figura 8: Distribuição multielementar nos tecidos de siris, mexilhões e peixes.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores utilizados para cálculo do risco alimentar	19
Tabela 2: Concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de P, K, Ca, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, Se, Zr, e Mo, presentes nas amostras padrão para a determinação da sensibilidade da série K.	21
Tabela 3: Concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de Ga, Mo, Ru, Cd, Sb, Ba, Nd, Dy, Yb e Hg, presentes nas amostras padrão para a determinação da sensibilidade das linhas L.	21
Tabela 4: Resultados da análise one-way ANOSIM para fator espécie-tecido.	31
Tabela 5: Estatística descritiva da concentração elementar nas amostras de musculo das espécies analisadas.	33
Tabela 6: Índice Provisório de Risco Total (PTHI) para mulheres para um conjunto de elementos selecionados (Ag, Ba, Cd, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Zn)..	36
Tabela 7: Índice Provisório de Risco Total (PTHI) dos Homens para um conjunto de elementos selecionados (Ag, Ba, Cd, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Zn)..	37
Tabela 9: Valores para a média do Comprimento Padrão (CP em cm para <i>M. curema</i> e mm para <i>C. danae</i> e <i>M. guyanensis</i>), peso (g) (com a concha para <i>M. guyanensis</i>), largura e altura dos organismos.....	47
Tabela 10: Índice de Risco Provisório (PHI) calculado para os padrões de consumo da região Sudeste brasileira e para o consumo sugerido pela Associação Americana do Coração.....	56

SUMÁRIO

1. Introdução Geral.....	12
Capítulo 1: níveis de elementos traço em peixes: efeito do tipo de tecido e possíveis implicações para a segurança alimentar	17
1. Introdução.....	18
2. Material e Métodos.....	20
2.1. Amostragem e processamento	20
2.2. Instrumentação e análise	22
2.3. Análise dos dados	22
2.4. Análise de risco alimentar.....	23
3. Resultados	25
3.1. Concentração multielementar dos tecidos avaliados	25
3.2. Avaliação da ingestão e Índice Provisório de Risco	35
4. Discussão.....	38
5. Conclusão	39
Capítulo 2: Análise multielementar de peixes, siris e mexilhões, utilizados para consumo humano, coletados no complexo estuarino de Santos, São Paulo.	40
1. Introdução.....	41
2. Material e Métodos.....	43
2.1. Área de estudo	43
2.2. Amostragem.....	44
2.3. Processamento das amostras	46
2.4. Instrumentação e análise	48
2.5. Análise de dados	48
2.6. Cálculo do risco alimentar	49
3. Resultados	50
3.1. Concentração multielementar dos organismos e tecidos avaliados	50
3.2. Análise de risco alimentar.....	55
4. Discussão.....	57
5. Conclusão.....	58
Conclusões gerais e perspectivas futuras.....	60
Referências Bibliográficas.....	61

1. INTRODUÇÃO GERAL

O consumo de peixes e frutos do mar é parte importante da dieta de muitas populações em todo o mundo devido à qualidade de sua carne composta por proteínas de elevado valor biológico, rica em nutrientes como cálcio, fósforo e ferro além dos altos teores de ácidos graxos poli-insaturados como eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA). O consumo de uma ou duas porções de pescado por semana está associado à redução do risco de Acidente Vascular Cerebral (AVC), depressão, Mal de Alzheimer e de morte por doença cardíaca (FAO, 2010). Apesar dos potenciais benefícios à saúde associados ao consumo de pescado, o brasileiro consome aproximadamente 10 kg de pescado por ano (BRASIL 2014), abaixo dos 17 kg recomendados pela Associação Americana para o Coração (AHA) (LICHTENSTEIN et al., 2006).

Conforme levantamento realizado pela Pesquisa de Orçamento Familiar, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística entre os anos de 2008 e 2009 (IBGE, 2011), a aquisição média per capita de peixes e frutos do mar no Brasil foi estimada em 4 kg/ano, sendo que nas áreas urbanas esse valor foi de 3,3 kg e nas áreas rurais de 7,6 kg/ano. O mesmo levantamento indicou que os hábitos alimentares relativos ao consumo de pescado variam entre as regiões do país. O maior consumo é observado na região Norte (38,1 kg/per capita/ano) e o menor consumo na região Sul (3,1 kg), sendo que na região Norte predomina o consumo de espécies água doce, com o padrão inverso observado na região Sul (IBGE, 2011).

Características culturais e socioeconômicas influenciam nos padrões de consumo entre as distintas regiões do país. ISAAC E ALMEIDA (2011) avaliaram dados sobre o consumo de pescado na Amazônia brasileira (Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Mato Grosso, Rondônia e Roraima) e encontraram valores que variaram de 18,3 kg/per capita/ano no interior do Amazonas, a 294 kg/per capita/ano, na região do Alto Solimões. HORTA et al. (2011) observaram que o consumo de pescado por uma comunidade de pescadores artesanais da Baía de Sepetiba (RJ) foi 110 vezes maior do que da população controle e ARAÚJO et al. (2016), avaliando o padrão alimentar de uma comunidade de pescadores no nordeste do Brasil observaram que mais da metade dos voluntários entrevistados relataram consumir mais de 12,0 kg de frutos do mar por ano, consumo de pescado recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Sendo assim, o padrão de consumo de populações com maior disponibilidade de pescado tende a ser maior do que o padrão da população em geral.

Apesar dos benefícios associados à ingestão de peixes e frutos do mar, estes organismos representam um importantes vias de exposição humana aos contaminantes presentes nos ecossistemas aquáticos como os metais tóxicos Pb, Cd e Hg, atuando como um elo entre a contaminação ambiental e humana. A exposição crônica a esse tipo de contaminante está relacionada a uma série danos à saúde como a ocorrência de doenças renais, endócrinas, neurológicas, ósseas e o aumento da incidência de câncer em seres humanos (ZHANG et al., 2011).

Metais como Pb, Cd e Hg são considerados tóxicos e classificados como não-essenciais por não possuírem função biológica conhecida no metabolismo dos organismos vivos. Como não devem fazer parte da dieta humana, possuem baixos níveis de tolerância em itens alimentares. Já os metais como Cu, Zn, Fe, Mn e Cr são classificados como essenciais e são fundamentais para o funcionamento regular de atividades metabólicas, pois atuam como cofatores enzimáticos, no transporte de oxigênio e mineralização óssea, por exemplo. No entanto, o consumo crônico acima da ingestão recomendada por órgãos de saúde pode exercer efeitos tóxicos como o comprometimento de funções imunológicas e neurológicas (STANKOVIC; KALABA; STANKOVIC, 2014; TORRES et al., 2008).

Constituintes naturais do meio ambiente, a concentração de metais tem aumentado drasticamente em ecossistemas costeiros em função do desenvolvimento de atividades humanas como a intensa urbanização da região litorânea, industrialização, mineração e queima de combustíveis fósseis (MOHAMMED; KAPRI; GOEL, 2011). Ao serem emitidos ou lançados no meio ambiente, esses elementos podem permanecer retidos no solo ou seguirem para corpos d'água, sendo que nos ecossistemas marinhos somam-se àqueles oriundos de efluentes industriais e domésticos, de atividades portuárias e da navegação (TÜRKMEN et al., 2009).

Ao entrarem nos ecossistemas marinhos, uma pequena porção dos metais permanece dissolvida sob a forma de íons livres. No entanto, a maior parte tende a permanecer depositada no sedimento em função de processos físico-químicos regulados por fatores como pH, temperatura, salinidade e material orgânico. Alterações nas características ambientais podem liberar os contaminantes associados às partículas de sedimento para a coluna d'água (COPAJA et al., 2017; SOARES et al., 1999). Sendo assim, o sedimento atua como um sumidouro de metais, capaz de disponibilizá-los para a biota marinha.

A diferença na concentração de metais entre a água e o sedimento pode resultar em diferentes padrões de acúmulo entre as espécies que habitam o mesmo local, mas que ocupam nichos diferentes, fazendo com que espécies pelágicas estejam expostas principalmente aos

elementos dissolvidos na água, enquanto espécies bentônicas estejam expostas àqueles presentes no sedimento e na água intersticial (TOVAR-SANCHEZ et al., 2006).

Uma vez disponíveis os metais podem ser absorvidos pelos organismos marinhos por três rotas principais: (1) por meio da dieta - pelo consumo de outros organismos; (2) pela interação com a coluna d'água - exposição direta das brânquias e pele ou por ingestão de água e (3) pela interação com o sedimento e ingestão de partículas contendo elementos-traço (WANG; RAINBOW, 2008a).

Para os peixes, as brânquias representam uma estrutura central na absorção de metais dissolvidos na água (EVANS, 1987), seguida pela absorção intestinal resultante da dieta (HERMENEAN et al., 2015) e pelo contato do meio com a epiderme (AMUNDSEN et al., 1997). Apesar de também assimilarem metais pelas brânquias e superfície corporal, a dieta foi reconhecida como a principal rota de absorção para muitas espécies de invertebrados marinhos (WANG, 2002; WANG; RAINBOW, 2008b). Ao entrar no corpo dos organismos os metais seguem, via corrente sanguínea ou hemolinfa, para os órgãos responsáveis pela regulação metabólica desses elementos: fígado e rins nos peixes; hepatopâncreas nos crustáceos e glândula digestiva em moluscos bivalves.

A concentração elementar final no tecido dos organismos está relacionada às suas necessidades metabólicas, ao tipo de elemento absorvido (essencial ou não-essencial), bem como das estratégias de excreção e detoxificação. Fígado e rins são os principais órgãos responsáveis pelo metabolismo de metais dos peixes devido à presença das metalotioneínas. Essas proteínas atuam na homeostase de metais essenciais para atender às demandas enzimáticas e metabólicas do organismo e também atuam de forma protetiva em relação a metais tóxicos (ALQUEZAR; MARKICH; BOOTH, 2006). Nos invertebrados marinhos, as metalotioneínas são encontradas em grandes concentrações no hepatopâncreas e na glândula digestiva. Sendo assim, a concentração de metais nesses órgãos é maior do que aquela encontrada em outros órgãos e tecidos.

O músculo apesar de não ser um tecido metabolicamente ativo na bioacumulação de metais, apresenta um aumento na concentração desses elementos quando as alternativas de desintoxicação por outras vias não são bem sucedidas (MALIK; HASHMI; HUMA, 2014). Além disso, o músculo representa o principal tecido utilizado para o consumo humano (GUÉRIN et al., 2011), o que torna sua análise fundamental para avaliar possíveis riscos à segurança alimentar, especialmente de populações que consomem recursos pesqueiros provenientes de áreas contaminadas.

Uma das regiões brasileiras mais impactadas pela contaminação de elementos metálicos é a Baixada Santista (SP). Localizada na costa central do estado de São Paulo, a Região Metropolitana da Baixada Santista abriga um importante sistema estuarino que abrange as cidades de Cubatão, Santos, São Vicente, Guarujá e Bertioga. Com o desenvolvimento urbano-industrial da região, o sistema estuarino de Santos se tornou o principal corpo receptor de efluentes industriais e domésticos, despejos de terminais portuários e marinas além de abranger áreas de disposição irregular de resíduos tóxicos e aterros sanitários. A região abriga o maior pólo industrial brasileiro na cidade de Cubatão, com indústrias metalúrgicas, de fertilizantes e refinaria de petróleo, além do Porto de Santos, maior porto da América Latina (LAMPARELLI et al., 2001). Essas atividades, associadas ao rápido crescimento urbano irregular, contribuíram significativamente para a degradação ambiental do sistema estuarino, com reflexos sociais e na saúde pública, principalmente das comunidades pesqueiras e/ou de baixa renda que utilizam os ecossistemas marinhos para pesca e extrativismo de organismos para venda e consumo próprio.

Os dados publicados sobre o consumo de peixes e frutos do mar coletados no sistema estuarino de Santos são escassos, conforme constatado por JUNIOR (2010). SANTOS-FILHO et al. (1991) e GUTBERLET (1996) observaram que famílias de diversos bairros de Cubatão consumiam peixes e outros organismos da região, mesmo considerando os organismos impróprios para alimentação, por serem oriundos de áreas poluídas. STORI et al. (2007) observaram uma elevada frequência de consumo de organismos pescados ou coletados na zona costeira da Baixada Santista por famílias de baixa renda que moram no entorno do estuário. De maneira geral, os organismos são consumidos na região como importante (se não única) fonte de proteína animal, sem controle da contaminação por elementos inorgânicos, sustentando a importância de pesquisas de biomonitoramento para a segurança da saúde dos consumidores.

Sendo assim, o presente trabalho avaliou a concentração de múltiplos elementos-traço (Ag, Cr, Cu, Co, Cd, Pb, Ti, Ni, Ba, Hg, Sr, Mn, Fe, Zn, Ca, P, S e K) em organismos marinhos utilizados para consumo humano, sob dois enfoques: (1) a biocumulação dos elementos metálicos em diferentes espécies e tecidos e (2) o risco alimentar produzido pela ingestão de metais que possuem regulamentação em relação à ingestão máxima tolerável. As análises foram realizadas utilizando Fluorescência de Raios-X por Reflexão Total com luz Síncrotron (SL-TXRF), metodologia que apresenta algumas vantagens quando comparada à Espectrometria de Absorção Atômica, frequentemente usada para análise multielementar: detecta simultaneamente diversos elementos e utiliza pequenas quantidades de amostras.

O Capítulo I analisa a concentração de elementos-traço no tecido muscular e nadadeiras de três espécies de peixes comercializadas na cidade de Santos (SP), selecionadas em função da diferença significativa entre os hábitos alimentares: bicuda (*Sphyraena guachancho*), olho de cão (*Priacanthus arenatus*) e o bagre (*Genidens genidens*). A análise do risco alimentar foi realizada por meio do Índice Provisório de Risco (PHI) e do Índice Provisório de Risco Total (PTHI) para os elementos presentes no músculo, calculados de acordo com os cenários de consumo das regiões costeiras do Brasil (Norte, Nordeste, Sudeste e Sul). Comparações entre as concentrações do músculo e das nadadeiras foram realizadas para avaliar o potencial dessa estrutura em atuar como rota de detoxificação em peixes.

O Capítulo II avalia o risco alimentar (utilizando os mesmos índices do Capítulo I) gerado pelo consumo de três espécies coletadas em diferentes pontos do sistema estuarino de Santos: dois invertebrados (siri azul - *Callinectes danae* e o mexilhão - *Mytella guyanensis*) e um peixe (parati - *Mugil curema*). Essas espécies representam os principais organismos utilizados para consumo por uma comunidade de pesca artesanal da cidade de Cubatão. Sendo assim, o cálculo dos índices de risco alimentar considerou somente os padrões de consumo da população da região sudeste do país.

CAPITULO 1: NÍVEIS DE ELEMENTOS TRAÇO EM PEIXES: EFEITO DO TIPO DE TECIDO E POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES PARA A SEGURANÇA ALIMENTAR

Resumo: Três espécies de peixes marinhos comercializados na região sudeste do Brasil foram avaliadas em relação ao risco alimentar gerado pelo seu consumo. Secundariamente, foi avaliada se a presença de estruturas ósseas, como os esporões nas nadadeiras, podem atuar como rota de detoxificação de elementos tóxicos. Os metais foram quantificados por Fluorescência de Raios-X por Reflexão Total com luz Síncrotron (SL-TXRF). As concentrações resultantes foram comparadas por testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis, seguidos por Conover-Iman. A avaliação da variação multidimensional da composição elementar foi realizada através de escalonamento multidimensional não-métrico (nMDS) e a similaridade entre os tecidos foi testada pela utilização de ANOSIM e SIMPER. Os resultados demonstraram que a nadadeira do bagre *Genidens genidens*, espécie detritívora que forrageia no leito do estuário, foi o tecido com maior diferença de composição elementar em relação aos demais tecidos avaliados. A presença de Ba, Cd e Pb em elevadas concentrações nesse tecido indicam o potencial dessa estrutura como rota de detoxificação de contaminantes. Já a bicuda *Sphyraena guachancho*, espécie piscívora predadora de topo de cadeia, apresentou alta concentração de Ba, Hg e Ag no tecido muscular, possivelmente em função da biomagnificação desses elementos ao longo da cadeia alimentar e/ou devido a ausência de uma estrutura que atue como rota de detoxificação. O Índice Provisório de Risco (PHI) e o Índice Provisório Total de Risco (PTHI), modelados para cenários de consumo de peixe para as regiões costeiras do Brasil, indicaram um possível risco de contaminação pela ingestão de *Sphyraena guachancho* na região norte. Apesar da preferência de consumo dessa região por espécies de água doce, tornando o risco associado ao consumo de *Sphyraena guachancho* muito baixo, destaca-se o risco associado ao consumo de espécies piscívoras, sem esporão ósseo nas nadadeiras.

1. INTRODUÇÃO

Organismos aquáticos, especialmente os peixes, são alimentos compostos por proteínas de elevado valor biológico, ricos em aminoácidos essenciais, gorduras do tipo ômega 3, vitaminas e minerais como Ca, Zn, Fe e Se. Seu consumo está associado a efeitos protetivos contra Acidente Vascular Cerebral (AVC) e doenças cardiovasculares (FAO, 2016). No entanto, a presença de contaminantes como metais tóxicos nesses itens alimentares pode causar uma série de efeitos adversos à saúde, quando consumidos com frequência, como problemas neurológicos e endócrinos e o aumento da incidência de câncer (GIBB; O'LEARY, 2014; NÚÑEZ et al., 2017; ZHANG et al., 2013).

Metais como Zn, Cu e Cr são classificados como elementos essenciais, pois desempenham importantes funções no metabolismo dos organismos vivos (cofatores enzimáticos, metabolismo da insulina e glicose, componentes de metaloenzimas), mas podem causar efeitos tóxicos se consumidos acima de determinadas concentrações (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). No entanto, metais como Hg, Pb e Cd são classificados como não essenciais por não possuírem função conhecida no metabolismo dos organismos. Esses metais podem produzir efeitos tóxicos mesmo quando consumidos em baixas concentrações e seus efeitos adversos são ampliados pela sua capacidade de bioacumulação no tecido animal (WALKER et al., 2006).

A bioacumulação de metais nos peixes é dependente de uma série de fatores, dentre os quais podem ser destacados: o comportamento do metal nos ecossistemas, condições físico-químicas do meio, tecido avaliado, características ecológicas da espécie e seus mecanismos de excreção/desintoxicação (KORKMAZ GÖRÜR et al., 2012; PETROVIĆ et al., 2013; WANG, 2002). Os peixes podem assimilar metais através da ingestão de material particulado suspenso em água, alimentação, troca iônica de metais dissolvidos através de membranas lipofílicas (brânquias, por exemplo) e adsorção em superfícies de tecidos e membranas (MENDIL; ULUÖZLÜ, 2007). Órgãos com elevada taxa metabólica, como fígado e rins, responsáveis por atividades de armazenamento, excreção e desintoxicação de metais, tendem a apresentarem maiores concentrações desses elementos do que o tecido muscular, que apresenta baixo metabolismo (MALIK; HASHMI; HUMA, 2014). No entanto, o músculo é o principal tecido utilizado para consumo humano, fazendo com que a avaliação da presença de contaminantes seja fundamental para a segurança alimentar da população.

Apesar de uma extensa bibliografia produzida sobre o assunto, o foco é geralmente em poucos metais como Cd, Pb, Hg, Cu e Zn (ANTONIJEVIC et al., 2011; BOSCH et al., 2016; LI et al., 2015; QIU et al., 2011). No entanto, é necessário compreender o risco potencial da exposição simultânea a uma variedade de metais, especialmente em função da posição do homem no topo da cadeia alimentar aquática, vulnerável aos processos de bioacumulação e biomagnificação de elementos metálicos.

Sendo assim, esse trabalho quantificou a concentração de múltiplos elementos (Zn, Ag, Ba, Hg, Ti, Ni, Cu, Cr, Mn, Fe, P, K, S, Ca, Br e Cl) no tecido muscular e nadadeiras de três espécies de peixes comercializadas na região Sudeste do Brasil. O tecido muscular foi coletado para realizar a análise do risco alimentar por meio do Índice Provisório de Risco (PHI) e do Índice Provisório Total de Risco (PTHI) para os elementos que possuem regulamentação sobre ingestão máxima (**Tabela 1**). Nadadeiras foram coletadas para avaliar se esta estrutura pode atuar como rota de detoxificação de elementos metálicos, tendo em vista que vertebrados como aves e mamíferos utilizam estruturas como penas e pelos para detoxificação de elementos tóxicos (BEERNAERT et al., 2007; NACCARI et al., 2009), representando uma possível característica na seleção de pescado seguro para consumo. As análises foram realizadas utilizando Fluorescência de Raios-X por Reflexão Total, utilizando luz síncrotron (SL-TXRF), uma metodologia inovadora na avaliação de tecidos biológicos.

Tabela 1: Valores utilizados para cálculo do risco alimentar

Elemento	Índice utilizado	Valor
Ag	Ingestão Diária Tolerável	2,5 µg/kg/dia (HADRUP E LAM, 2014)
Ba	Dose de Referência	2×10^{-1} mg/kg/dia (IRIS, 2005)
Cd	Dose de Referência	1×10^{-3} mg/kg/dia (IRIS, 1989)
Cr	Dose de Referência	1,5 mg/kg/dia (IRIS, 1998)
Fe	Ingestão Máxima Tolerável	45 mg/dia (INSTITUTO DE MEDICINA, 2001)
Hg	Nível de Risco Mínimo	2×10^{-2} mg/kg/dia (ATSDR, 1999)
Mn	Nível de orientação	$1,6 \times 10^{-1}$ mg/kg/dia (ATSDR, 2012)
Ni	Dose de Referência	2×10^{-2} mg/kg/dia (IRIS, 1991)
Zn	Ingestão Máxima Tolerável	45 mg/dia (FAO, 2001)
Pb	Ingestão Semanal Tolerável Provisória	$2,5 \times 10^{-2}$ mg/kg (FAO, 1999)

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. AMOSTRAGEM E PROCESSAMENTO

Três espécies de peixes presentes no principal desembarque pesqueiro da costa do estado de São Paulo que são comercializadas na região sudeste do Brasil foram selecionadas em função das diferentes necessidades ecológicas, uso de habitat e nível trófico. A bicuda *Sphyraena guachancho* é uma espécie pelágica com dieta composta predominantemente de outros peixes e lulas. O olho de cão *Priacantus arenatus* também é uma espécie pelágica, porém a dieta inclui crustáceos e poliquetas, isto é, apesar de também ser carnívora, está em um nível trófico abaixo de *S. Guachancho*. O bagre *Genidens genidens* é uma espécie demersal que se alimenta de detritos, com tendência à onivoria. As espécies foram obtidas no Terminal Público de Pesca de Santos (SP) e levadas ao laboratório da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

No laboratório, 20 exemplares de cada espécie foram separados e identificados com chaves dicotômicas (FIGUEIREDO, 1980), medidas (CP em cm) e pesadas (PT em g). Posteriormente, amostras do músculo dorsolateral (região abaixo da nadadeira dorsal e acima da linha lateral) e das nadadeiras peitorais esquerdas foram coletadas, devidamente etiquetadas e conservadas em freezer a -20° C. Previamente ao processo de digestão, as amostras foram liofilizadas e homogeneizadas com o uso de pistilo e almofariz. Para a digestão, alíquotas conhecidas de tecidos foram inseridas em frascos de teflon, seguida pela adição de ácido nítrico (HNO₃) e Gálio, padrão interno para análise por TXRF. Os frascos foram selados e acondicionados em micro-ondas analítico para digestão em alta potência por aproximadamente 10 minutos. Finalizado o processo, os frascos foram mantidos em temperatura ambiente até resfriamento total. As amostras digeridas foram transferidas para frascos de vidro. Então, alíquotas de 10 µl de cada amostra digerida foram transferidas para o centro da superfície dos suportes refletivos (discos de acrílico) e deixadas em temperatura ambiente até a obtenção de uma película fina e residual. O mesmo processo foi realizado com fígado bovino e padrões multielementares, com concentrações conhecidas dos elementos, sempre utilizando o Ga como padrão interno (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2: Concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de P, K, Ca, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, Se, Zr, e Mo, presentes nas amostras padrão para a determinação da sensibilidade da série K.

Elemento	Padrão 1K	Padrão 2K	Padrão 3K	Padrão 4K	Padrão 5K
P	21,38	39,25	52,28	63,06	69,31
K	9,15	17,65	22,42	25,54	29,03
Ca	5,24	7,89	10,37	13,70	17,36
Cr	5,62	8,60	11,21	13,83	15,52
Fe	4,99	8,64	11,01	13,39	16,93
Ni	4,53	8,07	10,71	14,64	16,74
Cu	4,99	8,26	10,58	13,39	17,06
Zn	5,03	8,26	10,81	12,92	16,55
Se	3,41	9,01	10,54	12,67	16,44
Zr	4,58	7,55	11,18	12,77	15,30
Mo	4,58	8,45	14,06	13,08	17,09
Ga	11,20	9,90	9,90	9,90	9,90

Tabela 3: Concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de Ga, Mo, Ru, Cd, Sb, Ba, Nd, Dy, Yb e Hg, presentes nas amostras padrão para a determinação da sensibilidade das linhas L.

Elemento	Padrão 1L	Padrão 2L	Padrão 3L	Padrão 4L	Padrão 5L
Mo	22,195	37,122	53,995	70,266	74,212
Ru	21,044	37,122	54,997	71,980	75,874
Cd	21,455	38,000	55,068	68,484	74,271
Sb	16,440	31,087	42,481	54,842	62,378
Ba	9,001	11,703	14,518	21,491	24,018
Nd	6,576	9,765	13,088	17,824	23,785
Dy	6,576	9,509	12,873	18,441	23,115
Yb	6,699	9,582	13,052	17,412	23,377
Hg	6,453	10,570	12,516	17,412	23,406
Ga	9,901	9,901	9,901	9,901	9,901

2.2. INSTRUMENTAÇÃO E ANÁLISE

A análise da concentração dos elementos foi realizada por meio de Fluorescência de Raios-X por Reflexão total, utilizando Luz Síncrotron, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, em Campinas (SP), Brasil. Os espectros gerados para cada amostra foram ajustados e as medições foram feitas através do Sistema de Análise de Raios-X Quantitativos (QXAS) distribuído pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA). A concentração elementar dos tecidos foi representada em μg do elemento por g de peso seco. Para os cálculos de avaliação da ingestão, as concentrações foram convertidas de peso seco para peso úmido, assumindo um teor de umidade de 80% (MURRAY; BURT, 1969).

2.3. ANÁLISE DOS DADOS

A principal vantagem do uso de TXRF é que os efeitos de absorção podem ser desprezados, fazendo com que a concentração elementar seja determinada por uma relação linear entre a intensidade e a sensibilidade de acordo com:

$$I_i = S_i \cdot W_i$$

Onde “ I_i ” representa a intensidade para as linhas de raios-X K e L para o elemento i ; “ S_i ” é a sensibilidade para esse elemento e “ W_i ” é a concentração ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$).

Os resultados gerados pelo TXRF foram organizados em uma matriz de dados contendo todos os elementos quantificados no procedimento, espécies e tecidos de cada amostra. Concentrações abaixo do limite de detecção foram substituídos por zero e todo o conjunto de dados foi transformado em $\log(x + 1)$. A comparação da mediana das concentrações dos elementos, presentes em cada tecido foi realizada por meio de testes não paramétricos de Kruskal-Wallis, seguidos pelo teste de comparações múltiplas de Conover-Iman usando somas classificadas. As análises não paramétricas foram feitas usando o pacote `conover.test` em R. A matriz de dados também foi explorada por meio de análise multivariada. Uma matriz de similaridade de Bray-Curtis foi calculada a partir dos dados de concentração, transformada em $\ln(x + 1)$. Então, a matriz de similaridade foi usada para gerar gráficos de escalonamento multidimensional não-métricos (nMDS). Inicialmente foi utilizada a análise de similaridade (ANOSIM) para testar a significância entre espécies (três níveis) e tecidos (dois níveis), com fator tecidual agrupado por espécie para a concentração de múltiplos elementos em peixes. O valor de R da análise ANOSIM foi usado para avaliar a magnitude da separação

entre grupos: $R > 0,75$ claramente separados, $0,75 > R > 0,25$ grupos separados com alguma sobreposição e $R < 0,25$ com sobreposição ou grupos pouco separados (CLARKE; GORLEY, 2006). O ANOSIM de duas vias gerou grandes valores negativos de R ao agrupar por fator tecidual, sugerindo a existência de grande variabilidade dentro desse fator, o que pode ser devido à existência de ‘outliers’ ou estados diferentes representados nas réplicas (CHAPMAN; UNDERWOOD, 1999). Neste caso, um ANOSIM foi conduzido com um grupo de tecidos de cada espécie. Também foram determinados os elementos responsáveis pelas diferenças observadas por meio do cálculo da análise de porcentagem de similaridade (SIMPER). Todas as análises multivariadas foram feitas usando o pacote Vegan on R e o programa Primer 6.

2.4. ANÁLISE DE RISCO ALIMENTAR

No Brasil foram conduzidos três estudos de dieta total (AMBRÓGI; AVEGLIANO; MAIHARA, 2016; AVEGLIANO; MAIHARA, 2014; AVEGLIANO; MAIHARA; DA SILVA, 2011). No entanto, esses estudos limitaram-se a um conjunto muito pequeno de elementos (Ca, Co, Cr, Fe, K, Na, Se e Zn) e se concentraram somente na população do estado de São Paulo. Além disso, a maior parte das informações sobre a concentração de metais em peixes marinhos desses estudos são provenientes de sardinhas, que não representam a diversidade de espécies de peixes marinhos consumidos nas cidades costeiras do país. Para entender o real risco do consumo de peixes marinhos, este estudo apresenta a primeira avaliação de risco para o consumo de múltiplos elementos de espécies de peixes marinhos, usando padrões de consumo de pescado regionais e a distribuição de peso da população brasileira. Para isso, foi utilizada metodologia similar à de Antonijevic et al. (2011) para a avaliação da ingestão de peixe e estimativa de risco alimentar.

A avaliação da ingestão diária foi calculada para todos os elementos presentes no músculo das espécies estudadas, principal tecido utilizado para consumo humano. A ingestão diária foi calculada da seguinte forma:

$$Ingestão\ diária\ (ID) = \frac{Consumo\ diário_{(g)} \times Concentração\ do\ elemento\ (\mu g/g)}{Peso\ corporal_{(g)}}$$

Onde “Consumo Diário” é o consumo médio de pescado por dia para as capitais costeiras da região sudeste e “Concentração do elemento” é a concentração de determinado elemento

no tecido muscular. O “Peso corporal” é o peso individual médio de homens e mulheres adultos na população. Para o peso corporal individual foram utilizados os quartis de 5%, 50% e 95% da distribuição no cálculo. Os dados referentes ao consumo de pescado, peso individual e sexo foram adquiridos do Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) (BRASIL, 2015) e pela Pesquisa de Orçamento Familiar realizada pelo IBGE (IBGE, 2011). O consumo médio de pescado sugerido pela American Heart Association (AHA) também foi considerado (LICHTENSTEIN et al., 2006).

O Índice Provisório de Risco (Provisional Hazard Index - PHI) foi calculado para todos os elementos com Ingestão Semanal Tolerável Provisória disponível (Provisional Tolerable Weekly Intake - PTWI). O PTWI é um valor de ingestão tolerável usado para contaminantes de alimentos com propriedades cumulativas e representa a exposição humana semanal permitida àqueles contaminantes inevitavelmente associados ao consumo de alimentos saudáveis e nutritivos. Quando uma ingestão tolerável provisória não estava disponível, foi usada a estimativa mais conservadora disponível, como as recomendações de ingestão máxima. O Índice de Risco Provisório foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\text{Índice Provisório de Risco}(PHI_{\text{elemento}}) = \frac{\text{Ingestão diária do elemento}}{\text{Ingestão Semanal Tolerável Provisória}}$$

Dos valores de PHI calculados para todos os elementos, um Índice Provisório de Risco Total (PTHI) foi calculado como a soma do PHI de todos os elementos:

$$\text{Índice Provisório de Risco Total (PTHI)} = \sum PHI_{\text{elemento}}$$

Valores de PHI ou PTHI acima de 1 indicam que o consumo está acima do limite de ingestão tolerável / máximo.

3. RESULTADOS

3.1. CONCENTRAÇÃO MULTIELEMENTAR DOS TECIDOS AVALIADOS

O TXRF detectou 18 elementos em, no mínimo, um tecido de todas as espécies analisadas: Ba, Br, Ca, Cl, K, P, S, Ag, Cu, Fe, Ti, Zn, Cd, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb e Cr. Os 18 elementos foram detectados nas nadadeiras de *G. genidens*, enquanto Br, Cd, Cl e Pb não foram detectados em nenhum tecido de *S. guachancho* e *P. arenatus*. Conforme apresentado nas figuras 1, 2 e 3, a maioria dos elementos apresentou diferença significativa entre as concentrações das nadadeiras e tecidos musculares para as três espécies de peixe. *S. guachancho* apresentou diferença significativa entre os tecidos para as concentrações de Ba, Ca, P, Fe, Zn, Cr, Hg e Mn; *P. arenatus* apresentou diferença significativa para Cu, Fe, Ti, Zn, Hg, Mn e Ni e *G. genidens* para Cu, Fe, Ti, Zn, Cd, Hg, Mn, Ni e Pb. As nadadeiras de *G. genidens* e *P. arenatus* apresentaram maiores medianas de concentração em relação ao músculo enquanto o padrão inverso foi observado para *S. guachancho*, isto é, *S. guachancho* apresentou concentrações mais elevadas para os elementos avaliados no músculo do que na nadadeira (**Figuras 1, 2 e 3**).

Figura 1: Concentração de elementos não metálicos e metais alcalinos (Ba, Br, Ca, Cl, K, P e S) no músculo e nadadeira das três espécies de peixes. A concentração dos elementos (μg por g de tecido seco) foi transformada em $\log(x + 1)$ para normalização dos dados. Os asteriscos indicam a significância da diferença na concentração mediana de acordo com o teste de Conover-Iman de comparações múltiplas usando somas classificadas: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,005$, ns = não significante.

Figura 2: Concentração de elementos metálicos (Ag, C, Fe, Ti e Zn) no músculo e nadadeira das três espécies de peixes. A concentração dos elementos (μg por g de tecido seco) foi transformada em $\log(x + 1)$ para normalização dos dados. Os asteriscos indicam a significância da diferença na concentração mediana de acordo com o teste de Conover-Iman de comparações múltiplas usando somas classificadas: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,005$, ns = não significante.

Figura 3: Concentração de elementos metálicos (Cd, Cr, Hg, Mn, Ni e Pb) no músculo e nadadeiras das três espécies de peixes. A concentração dos elementos (μg por g de tecido seco) foi transformada em $\log(x + 1)$ para normalização dos dados. Os asteriscos indicam a significância da diferença na concentração mediana de acordo com o teste Conover-Iman de comparações múltiplas usando somas classificadas: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,005$, ns = não significante.

A composição multielementar variou consideravelmente entre músculo e nadadeira nas três espécies analisadas. As análises de nMDS revelaram um padrão semelhante de separação de grupos de espécies-tecidos considerando toda a composição elementar e gerou agrupamentos com subconjuntos de dados somente com metais “pesados”¹ (Ag, Cu, Zn, Fe, Cd, Pb, Mn, Cr, Hg, Ni e Ti) ou metais e não metais (Ba, Br, Ca, Cl, K, P, S) (**Figura 4**).

A exploração adicional dos dados multivariados por meio do ANOSIM (**Tabela 4**) revelou uma clara separação ($R > 0,75$) entre as amostras de nadadeira e musculo para todas as três espécies, com exceção da composição de não-metais e metais alcalinos de *P. arenatus*. O grupo mais distinto foi o *G. genidens*, cuja composição diferiu significativamente de todos os outros grupos em todos os subconjuntos de dados. Considerando a similaridade entre os elementos em todas as amostras, o gráfico de nMDS sugere quatro grupos distintos de elementos com mais de 60% de similaridade (Grupo 1: Cd, Pb, Cl e Br; Grupo 2: K, Ca, P, S, Ag, Zn Fe e Cu; Grupo 3: Ba, Ni, Mn, Cr e Hg; Grupo 4: Ti).

¹ Metais pesados no presente trabalho são considerados aqueles elementos, da família dos metais com massa específica entre 3,5 e 7,0 g/cm³. John H. Duffus em “Heavy Metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report)

Figura 4: Concentração de metais pesados e outros elementos no músculo e nadadeiras das três espécies de peixes. As plotagens são escalonamento multidimensional não métrico em uma matriz de similaridade de bray-curtis calculada a partir de dados de concentração elemental transformada em $\ln(x + 1)$

Tabela 4: Resultados da análise one-way ANOSIM para fator espécie-tecido. Todos os elementos. Sig%: Nível de significância em porcentagem

Grupo A	Grupo B	Todos elementos		Metais pesados		Não-metais e metais alcalinos	
		Estatística R	Sig %	Estatística R	Sig %	Estatística R	Sig %
Musculo <i>G genidens</i>	Nadadeira <i>G genidens</i>	<u>0.753*</u>	0.08	<u>0.426*</u>	0.5	<u>0.889*</u>	0.08
Musculo <i>G genidens</i>	Nadadeira <i>P arenatus</i>	0.078	35.6	0.108	40	0.164	22.2
Musculo <i>G genidens</i>	Musculo <i>P arenatus</i>	-0.077	66.9	-0.094	70.5	-0.046	52.9
Musculo <i>G genidens</i>	Musculo <i>S guachancho</i>	0.107	16.8	0.072	22.2	0.147	10.3
Musculo <i>G genidens</i>	Nadadeira <i>S guachancho</i>	-0.026	44.3	-0.025	46.9	-0.079	68.8
Nadadeira <i>G genidens</i>	Nadadeira <i>P arenatus</i>	<u>1*</u>	4.8	<u>1*</u>	4.8	<u>1*</u>	4.8
Nadadeira <i>G genidens</i>	Musculo <i>P arenatus</i>	<u>0.988*</u>	0.8	<u>0.869*</u>	0.8	<u>1*</u>	0.8
Nadadeira <i>G genidens</i>	Musculo <i>S guachancho</i>	<u>0.608*</u>	0.4	<u>0.576*</u>	0.4	<u>0.784*</u>	0.6
Nadadeira <i>G genidens</i>	Nadadeira <i>S guachancho</i>	<u>1*</u>	0.8	<u>1*</u>	0.8	<u>1*</u>	0.8
Nadadeira <i>P arenatus</i>	Musculo <i>P arenatus</i>	<u>0.429</u>	13.3	<u>0.714</u>	13.3	0.179	20
Nadadeira <i>P arenatus</i>	Musculo <i>S guachancho</i>	-0.042	60.7	0	46.4	-0.104	67.9
Nadadeira <i>P arenatus</i>	Nadadeira <i>S guachancho</i>	<u>1*</u>	4.8	<u>1*</u>	4.8	<u>0.836*</u>	4.8
Musculo <i>P arenatus</i>	Musculo <i>S guachancho</i>	<u>0.286</u>	6.2	<u>0.302*</u>	4.8	<u>0.274</u>	8.6
Musculo <i>P arenatus</i>	Nadadeira <i>S guachancho</i>	<u>0.363*</u>	4.8	<u>0.344</u>	7.1	<u>0.4*</u>	3.2
Musculo <i>S guachancho</i>	Nadadeira <i>S guachancho</i>	<u>0.459*</u>	0.4	<u>0.443*</u>	0.4	<u>0.453*</u>	0.4

A análise SIMPER demonstrou que Ag e Cu contribuíram com mais de 10% para a dissimilaridade das concentrações de metais entre as três espécies de peixes (**Tabela 5**). Poucos outros elementos também contribuíram com mais de 10% para a dissimilaridade entre pares de espécies: Zn e Cr para *G. genidens* versus *P. arenatus*; Zn para *G. genidens* versus *S. guachancho*; e Mn, Cr e Fe para *P. arenatus* versus *S. guachancho*. Ag, Cu, Cd e Zn contribuíram com mais de 10% para a dissimilaridade entre as amostras de músculo e nadadeira em todas as espécies. Considerando apenas as amostras de musculo, Fe, Zn, Ag, Mn e Cr foram os elementos metálicos que mais contribuíram para a dissimilaridade na composição elementar entre as espécies analisadas.

Tabela 5: Estatística descritiva da concentração elementar nas amostras de musculo das espécies analisadas. Os dados estão em $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de massa seca, calculados a partir de todas as medidas. DP: desvio padrão; EP: erro padrão da média; Q05, Q50 e Q95 e os quinto, quinto e quinto correspondem aos percentis de concentração.

Espécie	Elemento	Média	Mediana	DP	EP	pQ05	pQ50	pQ95
<i>S guachancho</i>	Ag	166.03	211.47	129.31	31.36	0	211.47	329.02
<i>S guachancho</i>	Ba	12.3	0.7	19.07	4.63	0	0.7	44.3
<i>S guachancho</i>	Br	0	0	0	0	0	0	0
<i>S guachancho</i>	Ca	12441.08	1176.28	18347	4449.8	442.7	1176.28	44767.79
<i>S guachancho</i>	Cd	0	0	0	0	0	0	0
<i>S guachancho</i>	Cl	0	0	0	0	0	0	0
<i>S guachancho</i>	Cr	11.04	7.99	7.44	1.8	2.55	7.99	22.47
<i>S guachancho</i>	Cu	44.17	15.73	69.07	16.75	0	15.73	186.52
<i>S guachancho</i>	Fe	131.35	123.79	60.14	14.59	64.5	123.79	216.32
<i>S guachancho</i>	Hg	7.02	5.69	5.16	1.25	1.01	5.69	15.38
<i>S guachancho</i>	K	12203.41	14537.27	9176.18	2225.55	599.97	14537.27	23735.86
<i>S guachancho</i>	Mn	19.84	12.88	14.67	3.56	6.1	12.88	47.08
<i>S guachancho</i>	Ni	2.97	1.9	3.6	0.87	0	1.9	10.18
<i>S guachancho</i>	P	2511.54	1418.17	2551.45	618.82	318.6	1418.17	7289.93
<i>S guachancho</i>	Pb	0	0	0	0	0	0	0
<i>S guachancho</i>	S	1427.66	1257.64	1267.9	307.51	103.36	1257.64	3405.22
<i>S guachancho</i>	Ti	3	2.41	2.99	0.72	0	2.41	8.2
<i>S guachancho</i>	Zn	151.88	121.26	98.08	23.79	52.81	121.26	321.19
<i>P arenatus</i>	Ag	83.02	8.82	102.94	32.55	6.97	8.82	232.12
<i>P arenatus</i>	Ba	0.48	0.09	0.58	0.18	0.02	0.09	1.3
<i>P arenatus</i>	Br	0	0	0	0	0	0	0
<i>P arenatus</i>	Ca	1555.03	101.91	4272.94	1351.22	80.04	101.91	7780.18
<i>P arenatus</i>	Cd	0	0	0	0	0	0	0
<i>P arenatus</i>	Cl	0	0	0	0	0	0	0
<i>P arenatus</i>	Cr	3.41	0.62	4.06	1.28	0.41	0.62	10.13
<i>P arenatus</i>	Cu	6.46	5.2	5.39	1.7	3.36	5.2	14.9
<i>P arenatus</i>	Fe	45.29	20.48	42.29	13.37	18.38	20.48	121.21
Espécie	Elemento	Média	Mediana	DP	EP	pQ05	pQ50	pQ95
<i>P arenatus</i>	Hg	1.09	0.55	0.96	0.3	0.28	0.55	2.56
<i>P arenatus</i>	K	4388.46	698.72	6386.97	2019.74	573.02	698.72	15761.94
<i>P arenatus</i>	Mn	3.95	0.73	4.78	1.51	0.53	0.73	12.01
<i>P arenatus</i>	Ni	1.32	0.46	2.04	0.64	0.31	0.46	4.48
<i>P arenatus</i>	P	293.59	86.64	296.86	93.87	79.18	86.64	752.25
<i>P arenatus</i>	Pb	0	0	0	0	0	0	0
<i>P arenatus</i>	S	510.3	165.75	600.1	189.77	98.1	165.75	1519.39
<i>P arenatus</i>	Ti	0.71	0.22	0.79	0.25	0.14	0.22	2
<i>P arenatus</i>	Zn	55.4	42.33	20.96	6.63	40.14	42.33	87.79
<i>G genidens</i>	Ag	54.13	37.51	60.35	15.09	0	37.51	163.75
<i>G genidens</i>	Ba	0.35	0.14	0.53	0.13	0	0.14	1.1
<i>G genidens</i>	Br	0	0	0	0	0	0	0
<i>G genidens</i>	Ca	13516.88	254.3	25469.04	6367.26	136.29	254.3	54266.72
<i>G genidens</i>	Cd	0	0	0	0	0	0	0
<i>G genidens</i>	Cl	0	0	0	0	0	0	0
<i>G genidens</i>	Cr	15.11	2.34	22.71	5.68	1.08	2.34	54.06
<i>G genidens</i>	Cu	6.66	4.6	7.16	1.79	0	4.6	16.73
<i>G genidens</i>	Fe	81.55	65.13	65.4	16.35	18.19	65.13	192
<i>G genidens</i>	Hg	1.13	0.55	1.61	0.4	0	0.55	4.53
<i>G genidens</i>	K	4183.01	2705.72	4143.29	1035.82	901.69	2705.72	11375.31

<i>G genidens</i>	Ni	2.15	1.21	3	0.75	0	1.21	8.94
<i>G genidens</i>	P	1717.99	207.13	2715.27	678.82	46.52	207.13	6791.14
<i>G genidens</i>	Pb	0	0	0	0	0	0	0
<i>G genidens</i>	S	526.72	333.54	574.83	143.71	148.47	333.54	1366.02
<i>G genidens</i>	Ti	4.76	0.47	11.54	2.88	0	0.47	30.79
<i>G genidens</i>	Zn	45.99	26.04	55.81	13.95	0	26.04	142.48

3.2. AVALIAÇÃO DA INGESTÃO E ÍNDICE PROVISÓRIO DE RISCO

Para a avaliação do consumo e do risco alimentar, foi considerado que o consumo diário total de peixes foi feito exclusivamente por espécies de peixes marinhos. O PHI dos elementos analisados nas três espécies de peixes foi menor que 1, indicando baixo risco de contaminação crônica pelo consumo desses organismos. O maior valor (0,82) foi registrado apenas para o cenário de consumo de *S. guachancho* por homens da região norte, correspondendo a Q5% do peso e Q 95% da concentração de Ag.

Os resultados do Índice Provisório de Risco Total (PTHI) foram elevados para cenários de consumo por mulheres da região norte, correspondendo a Q5% do peso e a Q 95% da concentração de elementos. Para *S. guachancho*, o PTHI foi acima de 1 (1,22); para *G. genidens* e *P. arenatus*, abaixo de 1 (0,85 e 0,6, respectivamente), conforme apresentado na tabela 6.

Tabela 6: Índice Provisório de Risco Total (PTHI) para mulheres para um conjunto de elementos selecionados (Ag, Ba, Cd, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Zn). Quartis da concentração: a soma da concentração total dos elementos selecionados, assumindo que todos os elementos de concentração estão dentro da concentração de 5%, 50% ou 95% registrados. Padrão de consumo: consumo total diário de pescado em cada região brasileira e o consumo sugerido pela American Heart Association (AHA). Peso Corporal: Quartis 5%, 50% e 95% do peso corporal calculados para a população brasileira, assumindo que não há variação entre as regiões. Os valores são PTHI como a soma dos valores de PHI para todos os elementos. Os valores sublinhados são PTHI acima de 0,1 e os valores em negrito são PTHI acima de 0,5.

Quartis dos pesos corporais	Quartis da concentração	5%	5%	5%	5%	5%	50%	50%	50%	50%	50%	95%	95%	95%	95%	95%
	Padrão de consumo	N	NE	SE	S	AHA	N	NE	SE	S	AHA	N	NE	SE	S	AHA
	Epécies															
5%	S. <i>guachancho</i>	0.003	0.001	<0.001	<0.001	0.001	<u>0.61</u>	<u>0.24</u>	0.087	0.05	<u>0.28</u>	<u>1.22</u>	<u>0.47</u>	<u>0.17</u>	0.05	<u>0.28</u>
	<i>P. arenatus</i>	0.027	0.01	0.004	0.002	0.013	<u>0.3</u>	<u>0.12</u>	0.043	0.025	<u>0.14</u>	<u>0.85</u>	<u>0.33</u>	<u>0.12</u>	0.025	<u>0.14</u>
	<i>G. genidens</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<u>0.2</u>	0.077	0.028	0.016	0.093	<u>0.6</u>	<u>0.23</u>	0.086	0.016	0.093
50%	S. <i>guachancho</i>	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<u>0.28</u>	<u>0.11</u>	0.039	0.023	<u>0.13</u>	<u>0.55</u>	<u>0.21</u>	0.078	0.023	<u>0.13</u>
	<i>P. arenatus</i>	0.012	0.005	0.002	<0.001	0.006	<u>0.14</u>	0.053	0.02	0.011	0.064	<u>0.38</u>	<u>0.15</u>	0.055	0.011	0.064
	<i>G. genidens</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.09	0.035	0.013	0.007	0.042	<u>0.27</u>	0.1	0.039	0.007	0.042
95%	S. <i>guachancho</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<u>0.18</u>	0.068	0.025	0.015	0.083	<u>0.35</u>	<u>0.14</u>	0.05	0.015	0.083
	<i>P. arenatus</i>	0.008	0.003	0.001	<0.001	0.004	0.088	0.034	0.013	0.007	0.041	<u>0.25</u>	0.095	0.035	0.007	0.041
	<i>G. genidens</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.058	0.022	0.008	0.005	0.027	<u>0.18</u>	0.067	0.025	0.005	0.027

Tabela 7: Índice Provisório de Risco Total (PTHI) dos Homens para um conjunto de elementos selecionados (Ag, Ba, Cd, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Zn). Quartis da concentração: a soma da concentração total dos elementos selecionados, assumindo que todos os elementos de concentração estão dentro da concentração de 5%, 50% ou 95% registrados. Padrão de consumo: consumo total diário de pescado em cada região brasileira e o consumo sugerido pela American Heart Association (AHA). Peso Corporal: Quartis 5%, 50% e 95% do peso corporal calculados para a população brasileira, assumindo que não há variação entre as regiões. Os valores são PTHI como a soma dos valores de PHI para todos os elementos. Os valores sublinhados são PTHI acima de 0,1 e os valores em negrito são PTHI acima de 0,5.

Quartis dos pesos corporais	Quartis da concentração	5%	5%	5%	5%	5%	50%	50%	50%	50%	50%	95%	95%	95%	95%	95%
	Padrão de consumo	N	NE	SE	S	AHA	N	NE	SE	S	AHA	N	NE	SE	S	AHA
	Epécies															
5%	<i>S. guachancho</i>	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<u>0.42</u>	<u>0.16</u>	0.06	0.035	<u>0.2</u>	<u>0.83</u>	<u>0.32</u>	<u>0.12</u>	0.034	<u>0.19</u>
	<i>P. arenatus</i>	0.018	0.007	0.003	0.002	0.009	<u>0.21</u>	0.08	0.03	0.017	0.097	<u>0.33</u>	<u>0.13</u>	0.047	0.01	0.055
	<i>G. genidens</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<u>0.14</u>	0.052	0.02	0.011	0.064	<u>0.24</u>	0.09	0.034	0.006	0.036
50%	<i>S. guachancho</i>	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<u>0.23</u>	0.09	0.033	0.019	<u>0.11</u>	<u>0.46</u>	<u>0.18</u>	0.066	0.019	<u>0.11</u>
	<i>P. arenatus</i>	0.01	0.004	0.001	<0.001	0.005	<u>0.12</u>	0.045	0.017	0.01	0.054	<u>0.32</u>	<u>0.12</u>	0.046	0.01	0.054
	<i>G. genidens</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.076	0.029	0.011	0.006	0.035	<u>0.23</u>	0.089	0.033	0.006	0.035
95%	<i>S. guachancho</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<u>0.14</u>	0.052	0.019	0.011	0.063	<u>0.27</u>	0.1	0.038	0.011	0.063
	<i>P. arenatus</i>	0.006	0.002	<0.001	<0.001	0.003	0.067	0.026	0.01	0.006	0.031	<u>0.19</u>	0.072	0.027	0.006	0.031
	<i>G. genidens</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.044	0.017	0.006	0.004	0.021	<u>0.13</u>	0.051	0.019	0.004	0.021

4. DISCUSSÃO

A composição multielementar variou entre os tecidos e espécies analisadas. A nadadeira de *G. genidens* foi o tecido que apresentou maior diferença de composição multielementar quando comparado ao músculo da mesma espécie e à nadadeira e músculo de *P. arenatus* e *S. guachancho*. *G. genidens* possui um espinho ósseo nas nadadeiras peitorais, característica anatômica exclusiva desta espécie (família Ariidae) quando comparada com as outras espécies analisadas, que possuem espinhos curtos na nadadeira anal (Perciformes). A presença desta estrutura pode ser responsável pelo resultado nas diferenças de composição das nadadeiras quando comparada com os outros grupos de dados gerados.

A presença dos metais tóxicos Ba, Cd e Pb apenas nas nadadeiras de *G. genidens* pode ser um indicativo de que a presença de uma estrutura óssea em peixes atue como rota de inativação ou detoxificação de contaminantes, tendo em vista que vertebrados comumente utilizam vias alternativas para detoxificar o excesso de metais presentes no corpo. Beernaert et al (2007) ao analisarem a concentração de metais em camundongos selvagens, observaram que os pêlos da espécie atuaram como rota de detoxificação para Cd e Pb, mas não para metais homeostaticamente regulados como Cu e Zn. Em aves, o mesmo processo foi observado para as penas (EK et al., 2004; KIM; OH, 2012).

O comportamento alimentar das espécies de peixes e a tendência dos metais acumularem na cadeia alimentar são fatores que influenciam na bioacumulação de metais entre diferentes espécies de peixes (BURGER; GOCHFELD, 2006; MORMEDE; DAVIES, 2001), fazendo com que espécies carnívoras apresentem maiores concentrações de determinados contaminantes em seus tecidos do que as espécies não-carnívoras (RÉGINE et al., 2006). *S. guachancho* é uma espécie piscívora, de topo de cadeia, com dieta composta predominantemente por peixes e, em menor escala, cefalópodes (AKADJE et al., 2013). Considerando que somente essa espécie apresentou alta concentração de contaminantes no tecido muscular (Ba, Hg e Ag) é possível correlacionar os resultados à dieta de *S. guachancho*.

Em relação à análise de risco alimentar, somente o cenário modelado para o padrão de consumo da região norte apresentou um alto valor de PTHI para o consumo de *S. guachancho*. No entanto, de acordo com IBGE (2011), os principais organismos consumidos na região norte pertencem a espécies de água doce. BARBOSA et al. (2007) em pesquisa realizada com os consumidores de pescado de Belém (PA), estuário amazônico, constataram

que as principais espécies adquiridas são dourada, pescada branca, pescada amarela, piramutaba, pratiqueira e filhote. Sendo assim, apesar do alto valor de PTHI encontrado para o cenário de *S. guachancho* na região norte, o risco de contaminação crônico devido ao consumo dessa espécie na região é muito baixo. No entanto, destaca-se a potencial contaminação que espécies piscívoras, sem estrutura óssea na nadadeira, podem desempenhar sobre consumidores frequentes.

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstrou que espécies com hábito alimentar distinto estão expostas de maneira diferenciada aos elementos metálicos e adotam, fisiologicamente, estratégias diferentes de excreção/detoxificação associadas a aspectos de sua anatomia. O TXRF demonstrou ser uma metodologia de alta acurácia para a determinação multielementar, pois foi capaz de detectar a presença de 18 elementos nos tecidos analisados. Pesquisas sobre possíveis rotas de desintoxicação de metais tóxicos por meio de espinhos ósseos precisam ser aprofundadas, uma vez que os resultados apresentados nesse trabalho corroboram com o uso dessas estruturas para inativação de contaminantes. Devido ao elevado valor do PTHI para *S. guachancho* recomenda-se ingestão moderada de espécies piscívoras, sem esporão ósseo na nadadeira, a consumidores frequentes.

CAPITULO 2: ANÁLISE MULTIELEMENTAR DE PEIXES, SIRIS E MEXILHÕES, UTILIZADOS PARA CONSUMO HUMANO, COLETADOS NO COMPLEXO ESTUARINO DE SANTOS, SÃO PAULO.

Resumo: Essa pesquisa quantificou a concentração multielementar no tecido muscular do siri azul (*Callinectes danae*), mexilhão (*Mytella guyanensis*) e parati (*Mugil curema*), coletados no sistema estuarino de Santos com o objetivo de realizar uma análise de risco alimentar associado ao consumo dessas espécies. Secundariamente, diferentes tecidos do parati foram avaliados para verificar a bioacumulação dos elementos. A escolha das espécies ocorreu em função do seu grande volume de captura, distribuição geográfica e características ecológicas. Os elementos foram quantificados por Fluorescência de Raios-X por Reflexão Total com luz Sincrotron. O Índice Provisório de Risco (PHI) e o Índice Provisório de Risco Total (PTHI) foram modelados de acordo com o padrão de consumo da população na região sudeste e para o consumo sugerido pela Associação Americana do Coração. Os índices para o cenário de consumo da população sudeste foram abaixo de 1, indicando baixo risco de contaminação crônica. No entanto, para o cenário de consumo da Associação Americana do Coração, o Cd apresentou valores acima de 1 para ingestão de peixes de siri, ressaltando a necessidade de cautela para a ingestão desses organismos por populações com consumo frequente de pescado. A bioacumulação elementar no tecido do parati esteve de acordo com o desempenho metabólico dos órgãos e tecidos avaliados (musculo, fígado e brânquias), sendo que as maiores concentrações de elementos tóxicos como Cd, Pb e Sr ocorreram nas brânquias e fígado de *Mugil curema* e os menores valores no tecido muscular.

1. INTRODUÇÃO

Áreas costeiras representam regiões de atração para o assentamento humano, industrial e portuário em função de suas características geomorfológicas, hidrodinâmicas, oferta de recursos naturais e oportunidades comerciais (MORTON; BLACKMORE, 2001). Devido a fatores históricos relacionados à ocupação do território brasileiro e seguindo a tendência mundial da população em ocupar predominantemente áreas próximas ao litoral, o Brasil apresenta 26,6% da população em municípios da zona costeira, o equivalente a 50,7 milhões de habitantes (IBGE, 2010).

A região da Baixada Santista, litoral central de São Paulo, representa um importante exemplo de atração humana, industrialização e degradação ambiental de ecossistemas costeiros. O sistema estuarino de Santos é uma região altamente exposta à contaminação, com as principais fontes relacionadas às atividades portuárias, ao parque industrial de Cubatão assim como às disposições irregulares de resíduos industriais, às dragagens do canal do porto, às estações de tratamento de esgotos, ao emissário submarino, além das descargas de esgotos domésticos clandestinos e aos aterros sanitários (lixão). Alterações físicas da região como as resultantes de erosão, assoreamento, aterros de canais e manguezais e intervenções no sistema de drenagem também interferem no grau de contaminação da região (LAMPARELLI, 2001). Apesar da adoção de medidas para controle da poluição na década de 80, pesquisas recentes demonstram a contaminação do estuário por elementos metálicos como Cu, Cr, Cd, Hg, Mn, Ni, Pb e Zn na água, sedimento e organismos marinhos coletados na região (AZEVEDO; HORTELLANI; SARKIS, 2012; BURUAEM et al., 2013; HORTELLANI et al., 2008; LAMPARELLI et al., 2001).

Os elementos metálicos são considerados importantes contaminantes dos ecossistemas aquáticos em função de sua toxicidade, alta persistência, não degradabilidade e tendência para bioacumular nos organismos e para biomagnificar ao longo da cadeia alimentar (ÇOĞUN et al., 2017). Fatores físico-químicos como pH, salinidade, tam

anho das partículas de sedimento e teor de matéria orgânica atuam nos processos responsáveis pela especiação e biodisponibilidade dos metais para a biota (HATJE et al., 2003; PINDER et al., 2005). No entanto, as características ecológicas das espécies como hábitat, hábito alimentar e metabolismo também influenciam no processo de bioacumulação dos elementos em diferentes tecidos (RAINBOW, 2002). O sedimento, por exemplo, tende a apresentar maiores concentrações de metais do que a coluna d'água devido à interação físico-

química entre os íons metálicos e o material em suspensão. Como resultado, os organismos bentônicos e aqueles se alimentam no sedimento tendem a apresentar maiores concentrações de metais em seus tecidos do que os organismos pelágicos (ÇOĞUN et al., 2017; TAKARINA; ADIWIBOWO, 2011).

Ao serem absorvidos, os metais seguem para os órgãos metabolicamente ativos que atuam na regulação fisiológica desses elementos como o fígado e rins nos peixes (TÜRKMEN et al., 2009), hepatopâncreas nos crustáceos (RAINBOW; WHITE, 1989) e brânquias e glândulas digestivas nos moluscos bivalves (GALVÃO et al., 2010). Esses órgãos são responsáveis pela síntese das metalotioneínas, responsáveis pela regulação de metais como Cu e Zn e pela detoxificação de Cd, Ag e Hg (TÜRKMEN et al., 2006). Sendo assim, costumam apresentar alta concentração de metais.

A baixa atividade metabólica do músculo faz com que esse tecido geralmente apresente baixas concentrações de elementos metálicos. No entanto, em ecossistemas contaminados, quando as alternativas de excreção e detoxificação já foram exauridas, o músculo pode bioacumular ou biomagnificar esses elementos, fazendo com que os contaminantes cheguem em concentrações elevadas aos consumidores (AZEVEDO; HORTELLANI; SARKIS, 2012; GUÉRIN et al., 2011).

Sendo assim, a avaliação dos organismos marinhos é fundamental para a segurança alimentar, especialmente daquelas espécies provenientes de áreas reconhecidamente contaminadas, como é o caso do sistema estuarino Santos. Os dados publicados sobre o consumo de peixes e frutos do mar coletados nessa região são escassos. Autores como JUNIOR (2010), SANTOS-FILHO et al. (1991), GUTBERLET (1996) e STORI et al. (2007) concluíram que famílias de pescadores e/ ou comunidades de baixa renda que moram no entorno do sistema estuarino, utilizam os organismos pescados na região como fonte de renda e fonte alimentar. De maneira geral, os organismos são consumidos na região, sem controle de qualidade para a saúde pública, sustentando a importância de pesquisas de biomonitoramento para a segurança da saúde dos consumidores como medida de saúde pública.

Esse trabalho analisou a concentração multielementar de organismos marinhos, utilizados para consumo humano, coletados no sistema estuarino de Santos. Com base nos dados do Programa de Monitoramento da Atividade Pesqueira, que aponta as espécies com maior volume capturado no complexo estuarino de Santos e em função da distribuição geográfica e ecologia dos organismos, foram selecionadas três espécies. Duas espécies de invertebrados de hábitos bentônicos: siri azul (*Callinectes danae* Smith, 1869) e o mexilhão do mangue

(*Mytella guyanensis* Lamarck, 1819) e uma espécie de peixe, o Parati (*Mugil curema* Valenciennes, 1836).

O mexilhão *Mytella guyanensis* é um mitilídeo de interesse comercial com ocorrência em bosques de mangue, na região entre-marés de ambientes estuarinos, ao longo de toda a costa brasileira (NISHIDA e LEONEL, 1995), com dieta composta principalmente de fitoplâncton e detritos orgânicos (PEREIRA et al, 2003). O siri azul *Callinectes danae* é encontrado em estuários ao longo da costa do Oceano Atlântico, da Flórida (EUA) à costa sul do Brasil e se alimenta, predominantemente de detritos (BORDON et al., 2011). O parati *Mugil curema* é uma espécie migratória que ocorre em toda a costa brasileira, especialmente em águas rasas e estuários, alimentando-se prioritariamente de microalgas e organismos planctônicos (ROBINS; RAY, 1986). Essas espécies são abundantes no sistema estuarino de Santos e capturadas ao longo de todo o ano (CARMO; ABESSA; MACHADO-NETO, 2013; SEVERINO-RODRIGUES; PITA, 2001).

Os elementos foram quantificados por Fluorescência de Raios-X por Reflexão Total, utilizando luz Sincrotron (TXRF). Para análise do risco alimentar foram utilizadas amostras de tecido muscular de *Callinectes danae*, *Mugil curema* e partes moles de *Mytella guyanensis*. Para os peixes também foram analisadas amostras de fígado e brânquias para avaliar a bioacumulação dos elementos nos diferentes tecidos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDO

O sistema estuarino de Santos está localizado na costa central do estado de São Paulo (23°56'13"S, 46°19'30"O) e abrange as cidades de Cubatão, Santos, Guarujá e São Vicente (**Figura 5**). A região possui cerca de 100km² de manguezais, áreas urbanas, industriais e portuárias, concentradas nas cidades de Cubatão e Santos (LAMPARELLI et al, 2001; MARTINS, 2005; FERNANDEZ et al., 2014).

Figura 5: área de estudo
Fonte: Google Earth, 2018.

2.2. AMOSTRAGEM

A coleta dos organismos foi realizada nos meses de janeiro e março de 2016, utilizando a arte de pesca normalmente empregada pelos pescadores/coletores que realizam a captura desses organismos no interior do complexo estuarino de Santos. Os locais de amostragem foram escolhidos com base nos pontos de pesca tradicionalmente utilizados pela comunidade de pescadores de Vicente de Carvalho (Guarujá). Após a coleta, os organismos foram rotulados, acondicionados sob refrigeração e conduzidos ao laboratório onde foram mantidos a -20°C até o momento das análises.

Ao todo foram oito pontos de coleta (**Figura 6**): Ponto 1: Rio do Meio (Guarujá); Ponto 2: Rio Santo Amaro (Guarujá); Ponto 3: Entrada do Canal de Bertioga (Guarujá); Ponto 4: Monte Cabrão (Santos); Ponto 5: Largo do Candinho (Guarujá); Ponto 6: Alemoa (Santos); Ponto 7: Canal da Cosipa e Ponto 8: Lixão (Santos). A localização dos pontos inclui os canais portuários da Cosipa, do Porto de Santos e de Bertioga, cujas águas são drenadas para o canal de Santos. A região recebe influência direta dos efluentes industriais da Cosipa, Ultrafertil, Dow Química, estaleiros (pontos 1, 2, 3 e 7), terminais portuários (pontos 4, 5, 6) e do chorume do lixão da Alemoa (ponto 8).

Figura 6: Localização dos pontos amostrados em relação a pontenciais fontes de poluição

2.3. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Em laboratório foram coletados os dados biométricos dos organismos: comprimento padrão (CP) e peso (g) para todas as espécies e largura e altura da concha para *M. guyanensis*. A tabela 9 apresenta o numero de exemplares por espécie, as médias e desvios padrão para os dados biométricos. Em seguida foram coletados os tecidos de interesse para a análise: musculo, fígado e brânquia de *M. curema*; musculo de *C. danae* e tecidos moles de *M. guyanensis*.

As amostras foram secas em estufa até obtenção de peso constante. Em seguida foram maceradas com o uso de pistilo e almofariz e agrupadas por espécie e tecido, de acordo com o ponto de coleta, para formação de amostras compostas, resultando em 36 conjuntos amostrais. Os tecidos foram pesados antes e depois da secagem para estimativa do teor de umidade. Os valores obtidos foram: 30,4% para o parati, 72,5% para o mexilhão e 2,5% para o siri.

Tabela 8: Valores para a média do Comprimento Padrão (CP em cm para *M. curema* e mm para *C. danae* e *M. guyanensis*), peso (g) (com a concha para *M. guyanensis*), largura e altura dos organismos, bem como o Desvio Padrão (DP) das médias

Ponto	Espécie	No de organismos	Média CP±DP	Média do peso±DP	Média da largura±DP	Média da altura±DP
1	<i>M. curema</i>	5	34,4 ± 2,61	457,48 ± 100,31		
	<i>C. danae</i>	4	44,75 ± 6,27 mm	59,75 ± 28,04	98,15 ± 16,93 (mm)	
2	<i>M. curema</i>	5	31,2 ± 1,30	326,2 ± 27,24		
	<i>C. danae</i>	10	46,65 ± 4,33 (mm)	59,0 ± 20,6	103,18 ± 11,37 (mm)	
	<i>M. curema</i>	5	34,8 ± 1,92	394,62 ± 65,61		
3	<i>C. danae</i>	6	42,55 ± 6,92 mm	53,87 ± 24,28	93,73 ± 18,15 mm	
	<i>M. guyanensis</i>	21	51,86 ± 8,16 mm	7,70 ± 2,93 c/ concha	24,49 ± 3,77 mm	16,81 ± 3,30 mm
	<i>M. curema</i>	5	33,1 ± 1,64	337,05 ± 53,64		
4	<i>C. danae</i>	4	44,78 ± 7,59	69,12 ± 21,69	107,22 ± 12,23	
	<i>M. guyanensis</i>	42	44,39 ± 8,22	4,93 ± 2,32	21,90 ± 4,62	14,49 ± 2,91
	<i>M. curema</i>	5	31,9 ± 1,36	304,64 ± 27,54		
5	<i>C. danae</i>	11	47,17 ± 4,51	61,61 ± 23,32	102,43 ± 10,03	
	<i>M. guyanensis</i>	33	41,03 ± 6,96	3,94 ± 1,44	17,94 ± 3,46	12,87 ± 2,39
	<i>M. curema</i>	5	31,7 ± 3,35	358,36 ± 68,42		
6	<i>M. guyanensis</i>	23	45,89 ± 5,38 mm	5,18 ± 1,84	21,97 ± 2,23 mm	14,82 ± 2,32 mm
	<i>M. curema</i>	5	29,6 ± 2,30	276,42 ± 61,26		
	<i>C. danae</i>	5	50,73 ± 10,40	91,96 ± 60,48	110,16 ± 19,71	
7	<i>M. guyanensis</i>	39	41,16 ± 6,78	3,91 ± 1,30	18,58 ± 2,03	14,79 ± 4,75
	<i>M. curema</i>	5	32,2 ± 1,64	335,31 ± 45,51		
8	<i>M. guyanensis</i>	57	44,01 ± 6,29	4,47 ± 1,73	22,28 ± 3,09	14,51 ± 2,69

Para análise por TXRF as amostras foram previamente digeridas incubando 0,25-0,30g de tecido em tubos de teflon, seguido da adição de 2mL de ácido nítrico (HNO_3 65%, Merk), 1mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 - 30%, Merk) e 7mL de água deionizada (Milli-Q). Os tubos foram inseridos em micro-ondas Ethos One (Milestone) e seguiram o protocolo de digestão de alimentos por 60 minutos. Finalizado o processo, os tubos foram retirados e resfriados a temperatura ambiente. Do volume digerido, 500 μL foram transferidos para eppendorfs e adicionado 50 μL de gálio (Ga) ($102,5\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), utilizado como padrão interno.

Então, 10 μL da solução foram pipetados no centro do disco refletor e secas em estufa a 40° até secagem total. Todas as amostras foram analisadas em duplicadas e amostras de branco, contendo somente os reagentes, foram avaliadas para identificar possíveis fontes de contaminação.

2.4. INSTRUMENTAÇÃO E ANÁLISE

A análise da concentração dos elementos foi realizada por meio de Fluorescência de Raios-X por Reflexão total, utilizando Luz Síncrotron, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, em Campinas (SP), Brasil. Os espectros gerados para cada amostra foram ajustados e as medições foram feitas através do Sistema de Análise de Raios-X Quantitativos (QXAS) distribuído pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA). A concentração elementar dos tecidos foi representada em μg do elemento por g de peso seco do músculo. Para os cálculos de avaliação da ingestão, as concentrações foram convertidas de peso seco para peso úmido. Para avaliar a acurácia da metodologia, amostras certificadas de fígado bovino e padrões multielementares contendo concentrações conhecidas dos elementos, foram analisadas, seguindo o mesmo o procedimento das amostras de tecido coletadas.

2.5. ANÁLISE DE DADOS

A principal vantagem do TXRF em relação às outras metodologias é em relação ao efeito de absorção que pode ser desprezado, fazendo com que a concentração elementar seja determinada por uma relação linear entre a intensidade e a sensibilidade de acordo com a fórmula:

$$I_i = S_i \cdot W_i$$

Onde “ I_i ” representa a intensidade para as linhas de raios-X K e L para o elemento i ; “ S_i ” é a sensibilidade para esse elemento e “ W_i ” é a concentração ($\mu\text{g.g}^{-1}$).

Os dados gerados pelo TXRF foram organizados em uma matriz contendo todos os elementos quantificados no procedimento e informações de espécies e tecidos para cada conjunto amostral. Valores abaixo do limite de detecção foram substituídos por zero e todo o conjunto de dados foi transformado em $\log(x + 1)$. A comparação da mediana das concentrações entre os tecidos e espécies foi realizada por meio de testes não paramétricos de Kruskal-Wallis, seguidos pelo teste Conover-Iman de comparações múltiplas usando somas classificadas. As análises não paramétricas foram feitas usando o pacote `conover.test` em R. Os dados também foram explorados por meio de análise multivariada através do cálculo de similaridade de Bray-Curtis a partir dos dados da concentração elementar transformada em $\ln(x + 1)$. A matriz de similaridade foi usada para gerar gráficos de escala multidimensional não-métricos (nMDS) para testar a significância entre espécies e tecidos.

2.6. CALCULO DO RISCO ALIMENTAR

O cálculo do risco alimentar associado ao consumo dos organismos marinhos coletados no estuário de Santos foi baseado nos padrões de consumo de pescado da região sudeste e a distribuição média de peso corporal para homens e mulheres na população brasileira.

A análise da ingestão diária foi calculada para todos os elementos presentes no músculo das espécies estudadas, principal tecido utilizado para consumo humano, seguindo metodologia similar à adotada por Antonijevic et al. (2011). A ingestão diária foi calculada conforme a fórmula:

$$\text{Ingestão diária (ID)} = \frac{\text{Consumo diário}_{(g)} \times \text{Concentração do elemento}_{(\mu\text{g/g})}}{\text{Peso corporal}_{(g)}}$$

Onde “Consumo Diário” é o consumo médio de pescado por dia para as capitais costeiras da região sudeste e “Concentração do elemento” é a concentração de determinado elemento no tecido muscular. O “Peso corporal” é o peso individual médio de homens e mulheres adultos na população. Os dados referentes ao consumo de pescado, peso individual e sexo foram adquiridos do Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) (Brasil, 2015) e

pela Pesquisa de Orçamento Familiar realizada pelo IBGE (IBGE, 2011). O consumo médio de pescado sugerido pela American Heart Association (AHA) também foi considerado (LICHTENSTEIN et al., 2006).

O Índice Provisório de Risco (Provisional Hazard Index - PHI) foi calculado para todos os elementos com Ingestão Semanal Tolerável Provisória (Provisional Tolerable Weekly Intake - PTWI). O PTWI é um valor de ingestão tolerável usado para contaminantes de alimentos com propriedades cumulativas e representa a exposição humana semanal permitida àqueles contaminantes inevitavelmente associados ao consumo de alimentos saudáveis e nutritivos. Quando uma ingestão tolerável provisória não estava disponível, foi usada a estimativa mais conservadora disponível, como as recomendações de ingestão máxima. O Índice de Risco Provisório foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\text{Índice Provisório de Risco}(PHI_{\text{elemento}}) = \frac{\text{Ingestão diária do elemento}}{\text{Ingestão Diária Tolerável Provisória}}$$

Dos valores de PHI calculados para todos os elementos, um Índice Provisório de Risco Total (PTHI) foi calculado como a soma do PHI de todos os elementos:

$$\text{Índice Provisório de Risco Total (PTHI)} = \sum PHI_{\text{elemento}}$$

Valores de PHI ou PTHI maiores que 1 indicam que o consumo está acima do limite de ingestão tolerável / máximo.

3. RESULTADOS

3.1. CONCENTRAÇÃO MULTIELEMENTAR DOS ORGANISMOS E TECIDOS AVALIADOS

O TXRF detectou a presença de 15 elementos nos organismos e tecidos avaliados: Ag, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mn, Ni, Pb, Sr, Ti e Zn. As concentrações foram transformadas em $\log x + 1$ para normalização dos dados. A figura 7 representa a os resultados obtidos pela análise estatística que demonstrou diferença significativa entre a maioria dos elementos entre as espécies e tecidos, exceto para Ag, Ni, Co, Cr e Hg, cujas concentrações não apresentaram diferença significativa entre os grupos avaliados. Considerando somente os

tecidos analisados do parati, o fígado e as brânquias apresentaram as maiores concentrações de metais em relação ao musculo, sendo que as brânquias apresentaram os maiores valores para os metais tóxicos Cd e Sr, enquanto o fígado apresentou o maior valor de Pb. Em relação aos elementos essenciais, as brânquias apresentaram as maiores concentrações de Ca e Mn, o fígado as maiores concentrações de Fe e Zn e o musculo a maior concentração de K. Ambos invertebrados apresentaram elevadas concentrações de elementos essenciais como Ca, Fe, K e Mn, no entanto *C. danae* apresentou maiores concentrações médias de Cd e Pb enquanto *M. guyaensis* apresentou as maiores médias para Sr e Ti.

Figura 7: Concentração dos metais nos siris, mexilhões e fígado, brânquia e musculo dos peixes. Os valores representam a concentração do elemento transformada em $\log(x+1)$ em μg por grama de tecido seco

Os resultados do escalonamento multidimensional não-métrico (nMDS) demonstraram um claro padrão de separação na composição elementar entre os tecidos e espécies avaliadas, com a formação de quatro blocos com mais de 90% de similaridade, independente do ponto de coleta: musculo de *M. curema*, fígado de *M. curema*, brânquia de *M. curema* e o ultimo agrupamento reunindo *M. guyanensis* e *C. danae* (**Figura 8**). Ao considerar a similaridade dos elementos entre todas as amostras o nMDS gerou dois grandes grupos com 60% de similaridade, nos quais estão inseridos cinco grupos de elementos com mais de 80% de similaridade (grupo 1: Ca e K; grupo 2: Fe, Sr e Cd; grupo 3: Ag, Ni, Pb, Zn e Cu; grupo 4: Mn e Ti e grupo 5: Cr, Hg e Co) (**Figura 8**).

Figura 8: Distribuição multielementar nos tecidos de siris, mexilhões e peixes. Os agrupamentos formados são o resultado do escalonamento multidimensional não-métrico usando a similaridade de Bray-Curtis, calculada com as concentrações transformadas em $\ln(x+1)$.

3.2. ANÁLISE DE RISCO ALIMENTAR

A análise do risco alimentar considerou que o consumo de pescado foi feito exclusivamente de organismos marinhos. A tabela 10 apresenta o PHI calculado para homens e mulheres considerando o padrão de consumo da população da região sudeste e o consumo recomendado pela Associação Americana do Coração (AAC). Os resultados para a região sudeste apresentaram valores abaixo de 0,5, indicando ausência de risco crônico devido à exposição alimentar pelos organismos avaliados. Já o PHI para o consumo sugerido pela Associação Americana do Coração apresentou valores elevados para o Cd quando considerado o consumo de siri por mulheres (1,03) e homens (0,87) e para o consumo de peixe por mulheres (0,92) e homens (0,78). Como resultado, esse cenário também apresentou elevados valores de PTHI para o consumo de siri e peixe por ambos os sexos.

Tabela 9: Índice de Risco Provisório (PHI) calculado para os padrões de consumo da região Sudeste brasileira e para o consumo sugerido pela Associação Americana do Coração (AAC), considerando a média do peso corporal de homens e mulheres.

Elemento	Organismo	Homens Sudeste	Homens AAC	Mulheres Sudeste	Mulheres AAC
Ag	Siri	0,04	0,13	0,05	0,15
	Mexilhão	0,01	0,04	0,01	0,04
	Peixe	0,04	0,12	0,04	0,14
Cd	Siri	0,27	0,87	0,32	1,03
	Mexilhão	0,04	0,12	0,04	0,15
	Peixe	0,24	0,78	0,28	0,92
Cr	Siri	0,000004	0,000014	0,000005	0,000017
	Mexilhão	0,000001	0,000004	0,000002	0,000005
	Peixe	0,000004	0,000014	0,000005	0,000016
Fe	Siri	0,001	0,003	0,001	0,004
	Mexilhão	0,0008	0,0025	0,0009	0,0029
	Peixe	0,0003	0,0009	0,0003	0,0011
Hg	Siri	0,004	0,013	0,005	0,015
	Mexilhão	0,0006	0,002	0,0007	0,0024
	Peixe	0,002	0,008	0,003	0,009
Mn	Siri	0,0003	0,0011	0,0004	0,0013
	Mexilhão	0,0002	0,0007	0,0003	0,0009
	Peixe	0,00003	0,00008	0,00003	0,0001
Ni	Siri	0,002	0,007	0,003	0,009
	Mexilhão	0,0007	0,0022	0,0008	0,0025
	Peixe	0,003	0,01	0,004	0,012
Pb	Siri	0,03	0,1	0,04	0,12
	Mexilhão	0,005	0,017	0,006	0,02
	Peixe	0,01	0,04	0,02	0,05
Zn	Siri	0,0009	0,003	0,0011	0,0035
	Mexilhão	0,0002	0,0007	0,0003	0,0009
	Peixe	0,0001	0,0004	0,0001	0,0005

4. DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o parati *M.curema*, o siri azul *C. danae* o mexilhão *M. guyanensis* representam uma importante fonte de elementos essenciais como Ca, Fe, K e Mn para a dieta humana. Apesar de serem coletados em um ambiente altamente contaminado, como o Sistema Estuarino de Santos, os organismos não demonstraram risco alimentar em função da presença de contaminantes quando considerado o padrão de consumo de 5,3 Kg/per capita/ano da população residente na região sudeste (IBGE, 2011). No entanto, ao modelar o cenário de consumo proposto pela Associação Americana do Coração, que sugere a ingestão de 17kg/ per capita/ano para obtenção dos efeitos protetivos ao sistema cardiovascular (LICHTENSTEIN et al., 2006), o Cd passou a apresentar risco ao consumo de peixes e siris.

A Baixada Santista possui diversas comunidades de pesca artesanal que, tradicionalmente, consomem pescado com maior frequência e em maior quantidade do que a população em geral (PEREIRA-HORTA et al., 2011). A região também é caracterizada por ocupações irregulares, especialmente na região dos mangues de Cubatão, Santos e Guarujá, cujos moradores utilizam o pescado local como fonte de proteína. Sendo assim, o padrão de consumo dessas populações tende a se aproximar daquele proposto pela Associação Americana do Coração fazendo com que, ao mesmo tempo em que obtenham os efeitos positivos do consumo de pescado, também sejam expostas ao risco de contaminação crônica pelo Cd. Resultado semelhante foi obtido por PEREIRA-HORTA et al. (2011) que observou que uma população de pescadores artesanais da Baía de Sepetiba estava vulnerável à contaminação por Cd devido à ingestão dos organismos coletados no local. Os sintomas associados à contaminação por Cd são náuseas, vômitos, cólicas abdominais, perda de dentes, dores abdominais e articulares, podendo causar doenças como fibrose e edema pulmonar, hipertensão arterial e anemia (ATSDR, 2012).

A bioacumulação dos elementos nas diferentes espécies e nos diferentes tecidos do paratti não variou entre os pontos de coleta. Esse resultado está associado a um padrão de contaminação difundido no sistema estuarino, além dos processos hidrológicos associados ao período de coleta (verão, alta pluviosidade) e aos fluxos de maré que homogeneízam a presença dos elementos-traço na região. Fatores intrínsecos à fisiologia das espécies como a regulação metabólica de metais por meio da excreção e detoxificação e aspectos do ciclo de vida (migração do parati para áreas costeiras) também colaboraram para esse resultado.

Ao focar na bioacumulação somente nos tecidos do parati, o fígado apresentou elevadas concentrações de Zn, Cu, Fe e Pb em relação aos demais tecidos e esse resultado está associado ao papel metabólico desempenhado por esse órgão. As células hepáticas possuem uma série de estruturas secretoras e biosintetizadoras cujas funções principais são sequestrar, transportar e/ou excretar metais e outros contaminantes, reduzindo a toxicidade desses elementos e os possíveis danos celulares por meio da ligação dos metais com as metalotioneínas (ALQUEZAR; MARKICH; BOOTH, 2006). As metalotioneínas desempenham um importante papel na homeostase do Zn e Cu, pois atuam no armazenamento desses metais para atender às demandas enzimáticas e metabólicas do organismo enquanto o Fe tende a se acumular no fígado devido seu papel fisiológico na síntese de células do sangue (GORUR et al., 2012). Malik et al. (2010) também destacaram que a elevada concentração de Zn no tecido hepático está associado um efeito protetivo em relação ao Pb, atuando na detoxificação desse elemento.

As brânquias são estruturas centrais na absorção de íons dissolvidos na coluna d'água, uma vez que sua grande superfície facilita a rápida difusão de metais, além de permitir a adsorção desses elementos, fazendo com sua biocumulação seja um indicativo da exposição recente aos contaminantes (EL-MOSELHY et al., 2014; SILVA et al., 2016). As brânquias de *M. curema* apresentaram elevadas concentrações de Cd, Sr e Mn, indicando a presença desses elementos no ecossistema, em acordo com a bibliografia citada anteriormente. Já a elevada concentração de Ca encontrada está associada a sua função na estruturação do tecido ósseo das brânquias, além disso, trata-se de uma importante rota de regulação desse elemento (HUNN, 1985).

5. CONCLUSÃO

A presente pesquisa, realizada com a análise multielementar nos tecidos de *Callinectes danae*, *Mytella guyanensis* e *Mugil curema*, coletados em diferentes pontos do sistema estuarino de Santos indicou que a bioacumulação de metais foi espécie-específica e tecido-específica, independente do ponto de coleta.

Em relação ao risco alimentar associado ao consumo crônico desses organismos, os valores de PHI e PTHI, calculados com base no padrão de ingestão de pescado da população da região sudeste, foram muito baixos, indicando ausência de risco alimentar. No entanto, ao modelar o cenário de consumo sugerido pela AAC, o Cd demonstra valores elevados em peixes e siris, associados a uma potencial contaminação humana.

Tendo em vista que comunidades pesqueiras e/ou de baixa renda, que vivem no entorno de regiões com grande disponibilidade de organismos marinhos apresentam um padrão de consumo superior à população em geral, indica-se cautela na ingestão de peixes e siris.

CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O trabalho demonstrou que, de forma geral, a bioacumulação de elementos-traço é dependente do tipo de elemento avaliado, das características ecológicas e metabólicas das espécies e do tecido analisado. Corroborando com dados da literatura, *S. guachancho*, a única espécie de peixe piscívora de topo de cadeia, apresentou maiores concentrações de elementos tóxicos no tecido muscular, como resultado provável de um processo de biomagnificação dos elementos ao longo da cadeia alimentar. Já o bagre *G. genidens* apresentou alta concentração de contaminantes na nadadeira, possivelmente associado à presença do esporão ósseo atuando como rota de detoxificação. No entanto, são necessárias análises de diferentes espécies e tecidos para avaliar se é possível estabelecer essa correlação.

O mesmo padrão de bioacumulação foi observado para os organismos coletados no sistema estuarino de Santos. A análise dos invertebrados bentônicos e dos diferentes órgãos do peixe não demonstrou correlação com o ponto de amostragem, pois os resultados do escalonamento multidimensional não-métrico (nMDS) agupou tecidos, espécies e elementos, independente do ponto de coleta. Esse resultado pode estar associado a um padrão de contaminação generalizado para elementos como Pb e Cd e dos efeitos ambientais da época de amostragem (verão) como elevada temperatura e pluviosidade.

Em relação ao risco alimentar, o trabalho demonstrou que populações que consomem pescado com frequência e em quantidades acima da média brasileira estão suscetíveis à contaminação crônica por Cd ao ingerir peixes e siris coletados em áreas contaminadas como o Sistema Estuarino de Santos. Outra forma de exposição é a ingestão de peixes de topo de cadeia, com hábito alimentar piscívoro e sem estrutura calcificada na nadadeira peitoral, pois tendem a apresentar elevadas concentrações de contaminantes no tecido muscular, resultante do processo de biomagnificação ao longo da cadeia alimentar.

Uma importante lacuna de informação observada durante o trabalho foi a ausência de dados acerca do padrão de consumo de organismos marinhos por comunidades de pesca artesanal presentes no Sistema Estuarino de Santos. Tendo em vista o elevado grau de contaminação do sistema, esses dados são importantes para que se possa estimar com acurácia a exposição a metais contaminantes por essas populações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKADJE, C. et al. Diet of the barracuda *Sphyraena guachancho* in Côte d'Ivoire (Equatorial Eastern Atlantic Ocean). p. 10, 2013.
- ALQUEZAR, R.; MARKICH, S. J.; BOOTH, D. J. Metal accumulation in the smooth toadfish, *Tetractenos glaber*, in estuaries around Sydney, Australia. **Environmental Pollution**, v. 142, n. 1, p. 123–131, jul. 2006.
- AMADO-FILHO, G. M. et al. Heavy metals in benthic organisms from Todos os Santos Bay, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 1, p. 95–100, fev. 2008.
- AMBRÓGI, J. B.; AVEGLIANO, R. P.; MAIHARA, V. A. Essential element contents in food groups from the second Brazilian total diet study. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 307, n. 3, p. 2209–2216, 1 mar. 2016.
- AMUNDSEN, P.-A. et al. Heavy metal contamination in freshwater fish from the border region between Norway and Russia. **Science of The Total Environment**, v. 201, n. 3, p. 211–224, 18 ago. 1997.
- ANTONIJEVIC, B. et al. Risk characterization for mercury, dichlorodiphenyltrichloroethane and polychlorinated biphenyls associated with fish consumption in Serbia. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 10, p. 2586–2593, 1 out. 2011.
- ARAÚJO, C. F. S. DA et al. Cadmium and lead in seafood from the Aratu Bay, Brazil and the human health risk assessment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 4, p. 259, 1 abr. 2016.
- AVEGLIANO, R. P.; MAIHARA, V. A. Total Diet Study: Mg and Mn content estimation of a Market Basket of São Paulo state (Brazil) by Instrumental Neutron Activation. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 299, n. 1, p. 781–785, 1 jan. 2014.
- AVEGLIANO, R. P.; MAIHARA, V. A.; DA SILVA, F. F. A Brazilian Total Diet Study: Evaluation of essential elements. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1009–1016, 1 nov. 2011.
- AZEVEDO, J. DE S.; HORTELLANI, M. A.; SARKIS, J. E. DE S. Accumulation and distribution of metals in the tissues of two catfish species from Cananéia and Santos-São Vicente estuaries. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 60, n. 4, p. 463–472, dez. 2012.
- BATISTA, V. DA S. et al. Characterization of the commercial fish production landed at Manaus, Amazonas State, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 33, n. 1, p. 53–66, mar. 2003.
- BEERNAERT, J. et al. Non-destructive pollution exposure assessment by means of wood mice hair. **Environmental Pollution**, v. 145, n. 2, p. 443–451, jan. 2007.
- BORDON, I. C. A. C. et al. Metal concentration in sediments from the Santos estuarine system: a recent assessment. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 10, p. 1858–1865, out. 2011.

BOSCH, A. C. et al. Heavy metals in marine fish meat and consumer health: a review: Heavy metals in marine fish meat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 1, p. 32–48, 15 jan. 2016.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Mercury in fish available in supermarkets in Illinois: Are there regional differences. **Science of The Total Environment**, v. 367, n. 2, p. 1010–1016, 31 ago. 2006.

BURUAEM, L. M. et al. Integrated quality assessment of sediments from harbour areas in Santos-São Vicente Estuarine System, Southern Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, Pressures, Stresses, Shocks and Trends in Estuarine Ecosystems. v. 130, p. 179–189, 20 set. 2013.

CARMO, C. A. DO C.; ABESSA, D. M. DE S.; MACHADO-NETO, J. G. Metals in muscles of mullet (*Mugil curema*) from a contaminated estuary: evidences of potential risks to public health. **Natural Resources**, v. 2, n. 2, p. 81–94, 22 abr. 2013.

CHAPMAN, M. G.; UNDERWOOD, A. J. Ecological patterns in multivariate assemblages: information and interpretation of negative values in ANOSIM tests. **Marine Ecology Progress Series**, v. 180, p. 257–265, 1999.

ÇOĞUN, H. Y. et al. Heavy Metals in the Blue Crab (*Callinectes sapidus*) in Mersin Bay, Turkey. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 98, n. 6, p. 824–829, 1 jun. 2017.

COPAJA, S. V. et al. Heavy Metal Content in Chilean Fish Related to Habitat Use, Tissue Type and River of Origin. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 99, n. 6, p. 695–700, 1 dez. 2017.

EK, K. H. et al. Comparative Tissue Distribution of Metals in Birds in Sweden Using ICP-MS and Laser Ablation ICP-MS. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 47, n. 2, p. 259–269, 1 ago. 2004.

EL-MOSELHY, K. M. et al. Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 1, n. 2, p. 97–105, 2014.

EVANS, D. H. The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. **Environmental Health Perspectives**, v. 71, p. 47–58, abr. 1987.

FERNANDEZ, W. S. et al. Bioacumulation of trace elements in hepatic and renal tissues of the white mullet *Mugil curema* Valenciennes, 1836 (Actinopterygii, Mugilidae) in two coastal systems in southeastern Brazil. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 318, p. 94–98, jan. 2014.

GALVÃO, P. M. A. et al. Bioacumulação de metais pesados em moluscos bivalves: aspectos evolutivos e ecológicos a serem considerados para a biomonitoração de ambientes marinhos. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 13, n. 2, p. 59–66, 18 fev. 2010.

GIBB, H.; O'LEARY, K. G. Mercury Exposure and Health Impacts among Individuals in the Artisanal and Small-Scale Gold Mining Community: A Comprehensive Review. **Environmental Health Perspectives**, v. 122, n. 7, p. 667–672, jul. 2014.

GUÉRIN, T. et al. Determination of 20 trace elements in fish and other seafood from the French market. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 934–942, ago. 2011.

HERMENEAN, A. et al. Histopathological alterations and oxidative stress in liver and kidney of *Leuciscus cephalus* following exposure to heavy metals in the Tur River, North Western Romania. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 119, p. 198–205, 1 set. 2015.

HORTELLANI, M. A. et al. Assessment of metallic element contamination in sediments from the Santos - São Vicente Estuarine System. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 10–19, 2008.

HUNN, J. B. Role of calcium in gill function in freshwater fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 82, n. 3, p. 543–547, 1 jan. 1985.

INSTITUTE OF MEDICINE (US) PANEL ON MICRONUTRIENTS. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. Washington (DC): National Academies Press (US), 2001.

JUNIOR, W. M. Considerações sobre a cadeia produtiva do pescado artesanal na Baixada Santista/SP. **Cadernos CERU**, v. 21, n. 1, p. 89–111, 1 jun. 2010.

KIM, J.; OH, J.-M. Monitoring of heavy metal contaminants using feathers of shorebirds, Korea. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, n. 2, p. 651–656, 2 fev. 2012.

KORKMAZ GÖRÜR, F. et al. Radioactivity and heavy metal concentrations of some commercial fish species consumed in the Black Sea Region of Turkey. **Chemosphere**, v. 87, n. 4, p. 356–361, abr. 2012.

LI, P. et al. Heavy Metal Bioaccumulation and Health Hazard Assessment for Three Fish Species from Nansi Lake, China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 94, n. 4, p. 431–436, abr. 2015.

LICHTENSTEIN, A. H. et al. Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006: A Scientific Statement From the American Heart Association Nutrition Committee. **Circulation**, v. 114, n. 1, p. 82–96, 4 jul. 2006.

MALIK, N. et al. Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 160, n. 1–4, p. 267–276, jan. 2010.

MALIK, R. N.; HASHMI, M. Z.; HUMA, Y. Heavy metal accumulation in edible fish species from Rawal Lake Reservoir, Pakistan. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 2, p. 1188–1196, 1 jan. 2014.

MENDİL, D.; ULUÖZLÜ, Ö. D. Determination of trace metal levels in sediment and five fish species from lakes in Tokat, Turkey. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 739–745, 1 jan. 2007.

MENDOZA-CARRANZA, M. et al. Distribution and bioconcentration of heavy metals in a tropical aquatic food web: A case study of a tropical estuarine lagoon in SE Mexico. **Environmental Pollution**, v. 210, p. 155–165, mar. 2016.

MOHAMMED, A. S.; KAPRI, A.; GOEL, R. Heavy Metal Pollution: Source, Impact, and Remedies. In: KHAN, M. S. et al. (Eds.). . **Biomanagement of Metal-Contaminated Soils**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2011. v. 20p. 1–28.

MORMEDE, S.; DAVIES, I. M. Heavy metal concentrations in commercial deep-sea fish from the Rockall Trough. **Continental Shelf Research**, The Marine Environment of the North East Atlantic Margin. v. 21, n. 8, p. 899–916, 1 maio 2001.

MORTON, B.; BLACKMORE, G. South China Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 12, p. 1236–1263, dez. 2001.

NACCARI, C. et al. Common buzzards (*Buteo buteo*) bio-indicators of heavy metals pollution in Sicily (Italy). **Environment International**, Arsenic geochemistry, transport mechanism in the soil-plant system, human and animal health issues. v. 35, n. 3, p. 594–598, 1 abr. 2009.

NÚÑEZ, O. et al. Association between heavy metal and metalloid levels in topsoil and cancer mortality in Spain. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 8, p. 7413–7421, 1 mar. 2017.

PEREIRA HORTA, M. A. et al. Risk analysis of cadmium intake by fish consumers in a sub-tropical coastal lagoon, Sepetiba Bay-SE, Brazil. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 24, n. 1, 2011.

PETROVIĆ, Z. et al. Environmental Cd and Zn Concentrations in Liver and Kidney of European Hare from Different Serbian Regions: Age and Tissue Differences. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 90, n. 2, p. 203–207, 1 fev. 2013.

PINDER, A. M. et al. Occurrence of aquatic invertebrates of the wheatbelt region of Western Australia in relation to salinity. **Hydrobiologia**, v. 543, n. 1, p. 1–24, 1 jul. 2005.

QIU, Y.-W. et al. Bioaccumulation of trace metals in farmed fish from South China and potential risk assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 3, p. 284–293, mar. 2011.

RAINBOW, P. S. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? **Environmental Pollution**, v. 120, n. 3, p. 497–507, dez. 2002.

RAINBOW, P. S.; WHITE, S. L. Comparative strategies of heavy metal accumulation by crustaceans: zinc, copper and cadmium in a decapod, an amphipod and a barnacle. **Hydrobiologia**, v. 174, n. 3, p. 245–262, 1 abr. 1989.

RAISSY, M. Assessment of health risk from heavy metal contamination of shellfish from the Persian Gulf. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 1, p. 55, 1 jan. 2016.

RÉGINE, M.-B. et al. Mercury distribution in fish organs and food regimes: Significant relationships from twelve species collected in French Guiana (Amazonian basin). **Science of The Total Environment**, Selected papers from the 7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Ljubljana, Slovenia June 27 - July 2, 2004. v. 368, n. 1, p. 262–270, 1 set. 2006.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; PITA, J. B. PESCA ARTESANAL DE SIRIS (CRUSTACEA, DECAPODA, PORTUNIDAE) NA REGIÃO ESTUARINA DE SANTOS E SÃO VICENTE (SP), BRASIL. **São Paulo**, p. 14, 2001.

SILVA, E. et al. Assessment of Trace Elements in Tissues of Fish Species: Multivariate Study and Safety Evaluation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2016.

SOARES, H. M. V. M. et al. Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave river basin (Portugal): multivariate analysis of data. **Environmental Pollution**, v. 105, n. 3, p. 311–323, 1 jun. 1999.

STANKOVIC, S.; KALABA, P.; STANKOVIC, A. R. Biota as toxic metal indicators. **Environmental Chemistry Letters**, v. 12, n. 1, p. 63–84, 1 mar. 2014.

TAKARINA, N. D.; ADIWIBOWO, A. IMPACT OF HEAVY METALS CONTAMINATION ON THE BIODIVERSITY OF MARINE BENTHIC ORGANISMS IN JAKARTA BAY. **JOURNAL OF COASTAL DEVELOPMENT**, v. 14, n. 2, p. 168–171, 2011.

TORRES, M. A. et al. Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 1, p. 1–15, 1 set. 2008.

TOVAR-SANCHEZ, A. et al. Metal contamination in interstitial waters of Doñana Park. **Journal of Environmental Management**, v. 78, n. 3, p. 286–293, 1 fev. 2006.

TÜRKMEN, A. et al. Metal Concentrations in Blue Crab (*Callinectes sapidus*) and Mullet (*Mugil cephalus*) in Iskenderun Bay, Northern East Mediterranean, Turkey. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, n. 2, p. 186–193, 1 ago. 2006.

TÜRKMEN, M. et al. Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas. **Food Chemistry**, v. 113, n. 1, p. 233–237, mar. 2009.

WANG, W. Interactions of trace metals and different marine food chains. **Marine Ecology Progress Series**, v. 243, p. 295–309, 2002.

WANG, W.-X.; RAINBOW, P. S. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, “Diversity in a Changing Environment” - the International Conference of Comparative Physiology, Biochemistry and Toxicology and 6th Chinese Comparative Physiology Conference, 2007. v. 148, n. 4, p. 315–323, nov. 2008a.

WANG, W.-X.; RAINBOW, P. S. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, “Diversity in a Changing Environment” - the International Conference of Comparative Physiology, Biochemistry and Toxicology and 6th Chinese Comparative Physiology Conference, 2007. v. 148, n. 4, p. 315–323, 1 nov. 2008b.

ZHANG, L. X. et al. Emergy evaluation and economic analysis of three wetland fish farming systems in Nansi Lake area, China. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 3, p. 683–694, mar. 2011.

ZHANG, X. et al. Tissue concentrations, bioaccumulation, and biomagnification of synthetic musks in freshwater fish from Taihu Lake, China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 1, p. 311–322, jan. 2013.