Universidade de São Paulo
Instituto Oceanográfico

Ocorrência de PCBs, PBDEs e pesticidas organoclorados em
Prionace glauca da costa sul brasileira

Mauro Juliano Cascaes

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de Oceanografia Química e Geológica.

Julgada em ____/____/____

Prof. Dr. Rolf Roland Weber

Conceito

Prof(a). Dr(a).

Conceito

Prof(a). Dr(a).

Conceito

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	PCBs	1
1.2.	Pesticidas Organoclorados	3
1.2.1.	Diclorodifeniletanos.....	3
1.2.2.	Benzeno clorados	4
1.2.3.	Ciclodienos	4
1.2.4.	Ciclohexanos.....	5
1.3.	PBDEs.....	6
1.4.	Os organismos do estudo	7
2.	OBJETIVOS	9
3.	ÁREA DE ESTUDO.....	9
4.	MATERIAL E MÉTODOS	9
4.1.	Material	9
4.2.	Metodologia	11
4.2.1.	Estado das amostras	11
4.2.2.	Extração, Purificação e Injeção.....	12
4.2.3.	Critérios de Identificação	13
4.2.3.1.	Identificação Qualitativa.....	13
4.2.3.1.1.	PCBs.....	14
4.2.3.1.2.	Pesticidas organoclorados	15
4.2.3.1.3.	PBDEs	16
4.2.3.2.	Identificação Quantitativa.....	18
4.2.4.	Curva Analítica	18
4.2.5.	Equipamentos e Condições de Operação	18
4.2.5.1.	PCBs	18
4.2.5.2.	Pesticidas organoclorados.....	19
4.2.5.3.	PBDEs.....	20
4.2.6.	Controle de qualidade	21
4.2.6.1.	Interferentes	21
4.2.6.2.	Branco do Método.....	21
4.2.6.3.	Branco Spike	22
4.2.6.4.	Duplicatas	22
4.2.6.5.	Matriz Spike.....	23
4.2.6.6.	Material de Referência Certificado (MRC)	23
4.2.6.7.	Recuperação do Padrão <i>Surrogate</i>	23
4.2.6.8.	Limites de Detecção e de Quantificação do Método	24
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1.	PCBs	31
5.2.	Pesticidas organoclorados.....	49
5.2.1.	Ciclodienos	52
5.2.2.	Diclorodifeniletanos.....	56
5.2.3.	Benzeno clorados	64
5.2.4.	Ciclohexanos.....	65
5.3.	PBDES	70
6.	CONCLUSÕES	70
7.	BIBLIOGRAFIA	72

Dedico esse trabalho à minha esposa Mariana e minha filha Manuela, as duas mais novas mulheres da minha vida. Sem vocês eu seria como um rio sem nascente.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus, pela suavidade dos Teus perfumes e refrigério de cada segundo da minha vida.

Ao Rolf, pela empatia que sempre recebeu as minhas idéias, por sempre se deixar disponível para mim. Por tornar algo profissional em pessoal, por passar de professor a amigo.

Aos meus pais, por me darem a vida e me ensinarem a vivê-la com dignidade. Por muitas vezes renunciar a seus sonhos, para que pudessem realizar os meus.

À minha esposa Mariana e minha filha Manuela, pelas tantas horas que lhes ofereci minha ausência para a conclusão dos meus projetos. Saiba que é para vocês que os faço, e que em breve serei um pouco mais de vocês.

À Satie, por ser sempre a nossa “mão na roda”, sempre ensinando com paciência e carinho, por muitas vezes deixar seu trabalho de lado para resolver os problemas que arrumamos. Devo-te muito.

Às prof^{as} Rosa e Márcia, pelo estímulo que sempre dão para a concretização dos sonhos de nós, pós-graduandos do LabQOM.

Ao Lourival, sempre pronto a ajudar, com seus métodos eficazes e mágicos. Pelos papos no laboratório, tornando as análises mais prazerosas.

Ao Sílvio, pela sua tão prestimosa ajuda.

Aos amigos do Laboratório de Química Orgânica Marinha: Ana Cecília, Diego, Fernanda, Patrick, Hiléia, Vinícius, Eliete, Caio Magalhães, Caio Cipro, Edgar, Josi, Dalton, Olavo, Tatiane, e os “ex” Bia, Carol, César, Rafael e Mari.

Ao restante do pessoal do IO que de uma forma ou de outra fizeram parte da minha vida: Sandrinha, Wagner, Éder.

Ao grande e fiel amigo Victor.

Agradeço especialmente à Patrícia Mancini, Léo Salles e Loretha Nascimento do Projeto Albatroz, que muito me apoiaram. Saibam que vocês foram essenciais.

RESUMO

Existem muitos estudos sobre a ocorrência de poluentes orgânicos persistentes (POPs) no ambiente marinho utilizando bioindicadores como os tubarões. Entretanto, no Brasil, ainda há carência de dados de POPs nesses organismos. O objetivo desta pesquisa foi investigar a ocorrência e o comportamento dos PCBs, pesticidas organoclorados e PBDEs no ambiente marinho, a partir da utilização dos tubarões como indicadores. Musculatura e fígado de vinte tubarões-azul (*Prionace glauca*) foram coletados em agosto-setembro de 2008. Os PCBs foram os poluentes predominantes, presentes em 80% das amostras, com concentrações variando de <n.d. a 427,28 ng.g⁻¹ de peso úmido. Os diclorodifeniletanos apresentaram concentrações variando de 0,43 a 202,42 ng.g⁻¹ de peso úmido, no qual o 4,4'-DDE foi o composto mais significativo, com 77,6% de contribuição para os DDTs totais. As concentrações no fígado foram 1-2 ordens de grandeza mais elevadas, em relação às de musculatura. Houve um padrão de distribuição dos poluentes com níveis equivalentes entre indivíduos imaturos. Os machos maduros apresentaram concentrações de POPs sensivelmente maiores que as fêmeas maduras, indicando a transferência dos POPs para os filhotes. Os resultados demonstraram a ampla distribuição desses poluentes no ambiente marinho.

Palavras-chave: PCBs, pesticidas organoclorados, DDTs, PBDEs, *Prionace glauca*, tubarões.

ABSTRACT

There are many studies about the occurrence of persistent organic pollutants (POPs) in the marine environment using sharks as bioindicators. However, there is still a lack of data of POPs in those organisms in Brazil. The goal of this research was to investigate the occurrence and behavior of PCBs, organochlorine pesticides and PBDEs in the marine environment, using sharks as indicators. Muscle and liver of twenty blue-sharks (*Prionace glauca*) were collected in august-september 2008. The PCBs were the predominant pollutants and being present in 80% of samples, with concentrations ranging from <n.d. to 427.28 ng.g⁻¹ wet weight. The dichlorodiphenylethanes present concentrations ranging from 0.43 to 202.42 ng.g⁻¹ wet weight, where the 4,4'-DDE was the most significative compound, with contributions of 77,6% of the total DDTs. The concentrations in the liver were 1-2 orders of magnitude higher than in the muscle. There was a distribution pattern of the pollutants, with equivalent levels among the immature specimens. The concentration of POP was significantly higher in the mature males and relatively lower in the mature female, showing the maternal transference of POPs to the pups. The results have demonstrated a wide distribution of these pollutants in the marine environment.

Keywords: PCBs, organochlorine pesticides, DDTs, PBDEs, *Prionace glauca*, sharks.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Média do comprimento total e desvio padrão de cada classe de tubarão-azul utilizado neste trabalho.	11
Figura 2. Fluxograma da metodologia final.	13
Figura 3. Porcentagem e desvio padrão de lipídios em A) musculatura e B) fígado, de cada classe de tubarão-azul.	30
Figura 4. Médias de PCBs totais em A) musculatura e B) fígado.	36
Figura 5. Variação da concentração de PCBs totais (em ng.g^{-1}) em relação ao comprimento total na musculatura dos tubarões.	38
Figura 6. Variação da concentração de PCBs totais (em ng.g^{-1}) em relação ao comprimento total no fígado dos tubarões.	39
Figura 7. Porcentagem de PCBs totais de cada classe de congêneres de PCB para M- musculatura e F- Fígado de A) machos imaturos, B) machos maduros, C) fêmeas imaturas, D) fêmeas maduras.	41
Figura 8: Média da porcentagem dos congêneres de PCBs em todas as amostras de <i>Prionace glauca</i>	43
Figura 9. Porcentagem dos congêneres de PCBs em machos e fêmeas dos tubarões.	43
Figura 10. Porcentagem dos congêneres de PCBs em <i>Prionace glauca</i> imaturos e maduros.	44
Figura 11. Porcentagem dos congêneres de PCBs em indivíduos imaturos e maduros para A) machos e B) fêmeas.	45
Figura 12. Porcentagem dos congêneres de PCBs para musculatura e fígado.	46
Figura 13. Porcentagem dos congêneres de PCBs na musculatura dos tubarões.	48
Figura 14. Porcentagem dos congêneres de PCBs no fígado dos tubarões.	48
Figura 15. Variação dos níveis de α -clordana e γ -clordana (em ng.g^{-1} peso úmido) em relação ao comprimento total no fígado de <i>Prionace glauca</i>	53
Figura 16. Concentração de mirex (em ng.g^{-1} peso úmido) no fígado de cada classe de <i>Prionace glauca</i>	53

Figura 17. Variação dos níveis de mirex (em ng.g^{-1} peso úmido) em relação ao comprimento total no fígado de <i>Prionace glauca</i>	54
Figura 18. Concentração de heptacloro (em ng.g^{-1} peso úmido) no fígado de cada classe de <i>Prionace glauca</i>	55
Figura 19. Variação dos níveis de heptacloro, heptacloro hepóxido A e B (em ng.g^{-1} peso úmido) em relação ao comprimento total, com linha de tendência para o heptacloro, no fígado de <i>Prionace glauca</i>	56
Figura 20. Concentrações de DDTs, DDEs e DDDs (em ng.g^{-1} peso úmido) em A) musculatura e B) fígado das diferentes classes de tubarões.	57
Figura 21. Variação dos níveis de DDTs, DDEs e DDDs em relação ao comprimento total na musculatura (esq.) e em fígado (dir.) de <i>Prionace glauca</i> . (Linhas de tendência contínuas: Musculatura: 2,4'-DDT e 4,4'-DDE; Fígado: 4,4'-DDT, 4,4'-DDE e 4,4'-DDD – Linha de tendência tracejada: 2,4'-DDT).....	59
Figura 22. Contribuição de cada metabólito de DDT, DDE e DDD em relação aos DDTs* em musculatura dos tubarões.	61
Figura 23. Contribuição de cada metabólito de DDT, DDE e DDD em relação aos DDTs* no fígado dos tubarões.	62
Figura 24. Razão entre DDEs e DDTs* em cada amostra de fígado de tubarão-azul.	63
Figura 25. Concentração de HCBs (em ng.g^{-1} peso úmido) no fígado de cada classe de tubarões.	64
Figura 26. Variação dos níveis de HCBs (em ng.g^{-1} peso úmido) em relação ao comprimento total em fígado de <i>Prionace glauca</i>	65
Figura 27. Concentração (em ng.g^{-1} peso úmido) dos isômeros de HCH em A) musculatura e B) fígado do tubarão-azul.	66
Figura 28. Variação dos níveis de γ -HCH e δ -HCH (em ng.g^{-1} peso úmido) em relação ao comprimento total na musculatura de <i>Prionace glauca</i>	67
Figura 29. Variação dos níveis de γ -HCH e δ -HCH (em ng.g^{-1} peso úmido) e linhas de tendência (contínua: γ -HCH; tracejada: δ -HCH) em relação ao comprimento total em fígado de <i>Prionace glauca</i>	67
Figura 30. Proporção de cada isômero de HCH em relação ao total na musculatura.	69

Figura 31. Proporção de cada isômero de HCH em relação ao total no fígado.

.....69

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I. Características dos <i>P. glauca</i> utilizados neste estudo	10
Tabela II. Padrão de PCBs C-WCFS AccuStandard	14
Tabela III. Padrão de PCBs C-WNN AccuStandard.	14
Tabela IV. Congêneres de PCB, e os três íons para cada nível de cloração.	15
Tabela V. Padrão de pesticidas organoclorados AE00010 AccuStandard. ...	16
Tabela VI. Padrão de PBDEs BDE-CSM AccuStandard.	16
Tabela VII. Congêneres de PBDE e íons de quantificação e confirmação para cada nível de bromação.	17
Tabela VIII. Limites de Detecção e Quantificação dos PCBs na musculatura (em ng.g ⁻¹).	25
Tabela IX. Limites de Detecção e Quantificação dos PCBs no fígado (em ng.g ⁻¹).	26
Tabela X. Limites de Detecção e Quantificação dos pesticidas organoclorados na musculatura (em ng.g ⁻¹).	26
Tabela XI. Limites de Detecção e Quantificação dos pesticidas organoclorados no fígado (em ng.g ⁻¹).	27
Tabela XII. Limites de Detecção e Quantificação dos PBDEs na musculatura (em ng.g ⁻¹).	28
Tabela XIII. Limites de Detecção e Quantificação dos PBDEs no fígado (em ng.g ⁻¹).	28
Tabela XIV. Média, desvio padrão e variação de lipídios, PCBs, PBDEs e DDTs nos diferentes tecidos, estágio sexual e sexo de <i>P. glauca</i> . As concentrações estão apresentadas em ng.g ⁻¹ de peso úmido.	28
Tabela XV: Concentração de PCBs (em ng.g ⁻¹ peso úmido) em musculatura de <i>Prionace glauca</i>	31
Tabela XVI: Concentração de PCBs (em ng.g ⁻¹ peso úmido) em musculatura de <i>Prionace glauca</i> (cont.).	32
Tabela XVII: Concentração de PCBs (em ng.g ⁻¹ peso úmido) em fígado de <i>Prionace glauca</i>	33

Tabela XVIII: Concentração de PCBs (em ng.g^{-1} peso úmido) em fígado de <i>Prionace glauca</i> (cont.)	34
Tabela XIX. Concentrações (em ng.g^{-1} peso úmido) de pesticidas organoclorados na musculatura de <i>Prionace glauca</i>	49
Tabela XX. Concentrações (em ng.g^{-1} peso úmido) de pesticidas organoclorados na musculatura de <i>Prionace glauca</i> (cont.).	50
Tabela XXI. Concentrações (em ng.g^{-1} peso úmido) de pesticidas organoclorados no fígado de <i>Prionace glauca</i>	51
Tabela XXII. Concentrações (em ng.g^{-1} peso úmido) de pesticidas organoclorados no fígado de <i>Prionace glauca</i> (cont.).	51

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, tem-se realizado muitos estudos de investigação de resíduos de compostos organoclorados em tubarões ao redor do mundo (Storelli & Marcotrigiano, 2001; Storelli et al., 2003; Storelli et al., 2005; Schlenk et al., 2005; Cornish et al., 2007; Strid *et al.*, 2007; Gelsleichter *et al.*, 2008). Entretanto, essa pesquisa no Brasil ainda é incipiente, com apenas dois trabalhos relacionados ao tema (Azevedo-Silva *et al.*, 2007, Azevedo-Silva *et al.*, 2009). Especificamente, quanto à investigação de PCBs em fígado e de PBDEs em tubarões, não há trabalhos publicados no Brasil.

1.1. PCBs

Os PCBs (bifenilos policlorados) constituem uma mistura de até 209 compostos químicos individuais, conhecidos como congêneres. Foram sintetizados há mais de dois séculos, mas sua produção industrial se iniciou nos Estados Unidos em 1920 (Barceló, 1995).

Os bifenilos policlorados são óleos com características peculiares, dada sua grande estabilidade a altas temperaturas, alta constante dielétrica, alta solubilidade em água e resistência a ataques ácidos e básicos. Devido a essas características, foram muito empregados como fluido de transferência de calor em transformadores e condensadores elétricos, em resinas, como solventes para reciclagem de papel, como adesivos sintéticos, entre outros usos (Lara, 1976).

Diferentes formulações de PCBs foram fabricadas variando por nível de cloração, cada uma delas apresentando propriedades físicas diferentes. Até pouco mais de três décadas atrás, esse composto foi fabricado em vários países, com diversas denominações: nos EUA como “Aroclor”, fabricado pela Monsanto; na Alemanha como “Chlophen”, pela Bayer; na França como “Phenoclor”, pela Prodelec; no Japão como “Kanechlor”, pela Kanegafuchi, entre outros (Afghan & Chau, 1989). Os PCBs nunca foram fabricados no Brasil, porém foram muito usados os da Monsanto, sob a denominação de Ascarel (Montone, 1995).

Cinco são as rotas principais de transferência de PCBs para o meio-ambiente (Nisbet & Sarofim, 1972; CETESB, 2001):

- Volatilização por vaporização de plásticos e incineração ineficiente, acompanhado de adsorção em particulados, transporte e eventual precipitação;
- Lixiviação de depósitos de resíduos sólidos contaminados;
- Lançamento indevido de produtos e resíduos nos esgotos domésticos e em despejos industriais;
- Adsorção no sedimento e transporte pelo material em suspensão dos rios;
- Sedimentação no mar.

Não há fontes naturais conhecidas de PCBs. Porém, mesmo com sua fabricação proibida nos diversos países a partir da década de 70, esses compostos ainda permanecem em todos os compartimentos do meio ambiente, seja no ar, no solo e nas águas, devido às emissões antropogênicas.

Os PCBs tornaram-se matéria de grande preocupação a partir dos anos 80 devido ao seu impacto potencial sobre a saúde humana. São resistentes à degradação química ou biológica e por isso ali permanecem por longos períodos de tempo. Podem ser transportados por longas distâncias pelo ar, e são muitas vezes depositados em locais muito distantes de suas fontes (Weber & Montone, 1990).

Na água há pouca quantidade de PCB dissolvido, já que quase a totalidade dos compostos permanece associada a partículas orgânicas que se encontram em suspensão ou no fundo dos ambientes aquáticos, onde os organismos vivem. Assim, podem ser ingeridos e acumulados.

Organismos em posição trófica elevada apresentam concentrações desses compostos centenas ou milhares de vezes mais elevada que na água. No ser humano, o principal meio de exposição se dá pela ingestão de alimentos contaminados.. Eles também são transferidos da mãe para o filho através do cordão umbilical ou pelo leite (ATSDR, 1993).

Estudos indicam que os PCBs podem causar diversos problemas de saúde, como problemas de fígado, estômago e tireóide, alterações comportamentais e no sistema imunológico, problemas de pele e câncer (ATSDR, 2001). No meio ambiente, os PCBs podem afetar a produtividade planctônica e a composição dessas comunidades (Borja *et al.*, 2005).

1.2. Pesticidas Organoclorados

Os pesticidas organoclorados são inseticidas que foram muito utilizados a partir da década de 40 para o controle de insetos para a agricultura e no combate de vetores de doenças. Em geral, possuem solubilidade baixa na água e alta em substâncias orgânicas. Suas fortes ligações de carbono e cloro conferem a esses compostos uma grande estabilidade química e baixa taxa de degradação (Lara & Batista, 1992).

São classificados em quatro categorias: os ciclodienos (ex.: dieldrin), diclorodifeniletanos (ex.: DDT), benzeno clorados (ex.: HCB) e ciclohexanos (ex.: HCH).

1.2.1. Diclorodifeniletanos

Um dos principais pesticidas organoclorados é o DDT (diclorodifeniltricloroetano), um composto muito solúvel em matéria orgânica. Seu uso maciço teve início na Segunda Guerra Mundial, pela qual o DDT foi considerado como “milagroso” pelos seus benefícios no combate aos vetores de tifo e malária. A partir dessa época, foi muito utilizado de forma extensiva na agricultura e no combate de insetos domésticos (D’Amato *et al.*, 2002).

Rachel Carson, em seu livro “Primavera Silenciosa” (*Silent Spring*), de 1962, deu o primeiro alerta sobre os possíveis efeitos negativos dos DDTs na redução populacional de aves. O livro foi a primeira manifestação no sentido de colocar em debate os efeitos deletérios de compostos químicos no meio ambiente.

Em 1970, após estudos científicos, a Suécia proibiu os usos do DDT e outros inseticidas organoclorados, sendo seguida por outros países,

incluindo o Brasil. Os usos somente continuaram a ser permitidos em programas de controle de doenças (D'Amato, *op. cit.*).

No meio ambiente, o DDT se converte em outras formas químicas mais estáveis, como o DDE e o DDD. Esses três metabólitos de diclorodifeniletanos são muito persistentes no ambiente e são encontrados no solo, água e ar.

Especificamente, o DDE é um composto praticamente não-biodegradável, e por ser o mais resistente é muito utilizado como indicador de exposição dos seres vivos ao DDT. Já o DDD é um composto menos tóxico que os outros dois, mas suspeita-se que pode causar disfunção endócrina (Colburn *et al.*, 1996).

A principal entrada dos DDTs nos seres humanos se dá pela alimentação contaminada. Atuam no sistema nervoso central, podendo causar alterações de comportamento, distúrbios (sensoriais e de equilíbrio) e depressão dos centros vitais, particularmente da respiração (BRASIL, 1997).

1.2.2. Benzeno clorados

Os benzeno clorados não ocorrem naturalmente no ambiente, e o maior exemplo dessa classe de compostos é o hexaclorobenzeno (HCB).

O HCB é gerado como subproduto na produção de outros químicos. É um composto estável, sendo muito usado após a 2ª Guerra Mundial como fungicida nas colheitas de cereais.

Esse composto pode entrar no meio ambiente via emissões aéreas e esgotos industriais, por processos de combustão, entre outros, causando grandes problemas ambientais devido à sua longa persistência no meio ambiente (ATSDR, 2002).

1.2.3. Ciclodienos

Grande parte dos pesticidas do tipo ciclodieno utilizados comercialmente são classificados como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) pelo Programa Ambiental das Nações Unidas. São eles: aldrin, dieldrin, endrin, clordano, mirex e heptaclor (PAN-UK, 2005).

O aldrin é um ciclodieno que foi usado na agricultura, particularmente nas culturas de algodão e milho (ATSDR, 1989). Os níveis de aldrin no meio ambiente não são tão elevados, já que ele se converte em dieldrin. O dieldrin se acumula no tecido adiposo dos seres vivos, e seus metabólitos são eliminados pela bile e fezes.

O endrin é um dos pesticidas eliminados mais rapidamente no corpo humano e pode causar efeitos negativos, porém como não se acumula eficientemente, não é encontrado em altas doses em seres vivos.

O aldrin, dieldrin e endrin tem seus usos proibidos ou seriamente restringidos em países desenvolvidos, porém alguns deles ainda são usados em países subdesenvolvidos (ATSDR, 2002).

O mirex é um composto que foi utilizado entre as décadas de 50 e 70 como retardante de chama em plásticos, tintas, papel, entre outros. Sua degradação é lenta no meio ambiente, e permanece nos solos e meio aquático por muito tempo (ATSDR, 1996).

Os clordanos são substâncias químicas utilizadas como pesticidas. Não ocorrem naturalmente no meio ambiente, sendo banidos pela EPA em 1983, exceto para controle de pragas, e em 1988, para todos os usos (ATSDR, 1996).

O heptacloro foi muito usado como inseticida em usos residenciais e na produção de alimentos (ATSDR, 2007). A exposição pode ocorrer pela alimentação, ingestão de ar e água contaminados e os efeitos na saúde são adversos, como danos no sistema hepático, excitabilidade e infertilidade.

1.2.4. Ciclohexanos

O ciclohexano (HCH), popularmente conhecidos como BHC, foi muito utilizado como inseticida na agricultura e no controle de vetores de insetos transmissores de malária e Mal de Chagas.

Existem dezesseis isômeros possíveis através do exame estrutural do HCH, porém o HCH comercial contém uma mistura de cinco isômeros conhecidos (alfa, beta, gama, delta e épsilon).

O único isômero com poder inseticida é o gama, conhecido como lindano; os demais não possuem nenhum ou insignificante nível de toxicidade. A absorção do lindano está intimamente ligada às vias de entrada, ficando acumulado principalmente no tecido adiposo do ser vivo, podendo ser concentrado também no fígado, no cérebro e no sangue (WHO, 1982).

1.3. PBDEs

Os retardantes de chama bromados, conhecidos como difenis éter polibromados (PBDE - *polybrominated diphenyl ether*) são compostos sintéticos que reduzem a probabilidade e intensidade de fogo em vários produtos de consumo. Entre os materiais que contém PBDEs, estão os acessórios de automóveis, computadores, materiais de construção, espumas de poliuretano (sofás, colchões, cadeiras, etc.), equipamentos elétricos e eletrônicos, e têxteis (de Wit, 2002).

Os retardantes de chama são adicionados aos materiais durante ou após a manufatura, porém não se apresentam quimicamente ligados às estruturas dos polímeros ou tecidos, havendo fácil separação e lixiviação destes compostos para o meio ambiente. Por isso, os PBDEs são encontrados em regiões costeiras que recebem efluentes antropogênicos provenientes de áreas industriais ou contaminadas.

Possuem uma estrutura muito similar aos poluentes orgânicos persistentes (POPs), assim como os bifenilos policlorados (PCBs). A sua característica lipofílica ($\log K_{ow} > 5$) é responsável pela sua bioacumulação particularmente em tecidos gordurosos, como o fígado, tecidos adiposos ou em organismos com alto teor de gordura (Burreau et al, 1999; De Boer et al., 2000).

As três maiores misturas comerciais de PBDEs são produzidas com variações de brominação (Darnerud et al., 2001). Eles são decabromodifenileter (deca-BDE técnico) com aproximadamente 98% de deca- e 2% de nona-BDE; o octa-BDE técnico possui 10% de hexa-, 40% de hepta-, 30% de octa- e o restante nona- e deca-BDE; penta-BDE técnico com 40% de tetra-BDE, 45% de penta- e 6% de hexa-BDE (McDonald, 2002).

O deca-BDE é pobremente absorvido, rapidamente eliminado, e por isso não bioacumula; é provavelmente o congênere menos bioativo dos PBDEs (Hooper and Mc Donald, 2000). Em contraste, o baixo peso molecular dos congêneres tri- a hexa-BDEs faz com que sejam completamente absorvidos, fracamente eliminados, e por isso altamente bioacumulados. É também importante ressaltar que o deca-BDE, quando exposto a luz solar, é convertido a congêneres de menor peso molecular, e mais bioacumulativos (Watanabe & Tatsukawa, 1987; Sellström et al., 1998; Kempl, 1999).

A produção mundial de PBDEs é estimada em 67 mil toneladas por ano (BSEF, 2000). Em um estudo de Ikonomou et al. (2002) no Ártico entre 1981 e 2000, concluiu-se que os PCBs totais estão permanecendo constantes enquanto os PBDEs estão crescendo, e estima-se que os níveis de PBDEs ultrapassarão o dos PCBs aproximadamente em 2050.

As conseqüências toxicológicas de altos níveis de PBDEs para humanos são principalmente disrupção de hormônios da tireóide, déficit neurológico durante o desenvolvimento fetal e câncer (McDonald, 2002).

1.4. Os organismos do estudo

Os peixes elasmobrânquios, que incluem os tubarões, ao contrário dos teleósteos, são desprovidos de bexiga natatória. Para a sustentação na coluna d'água, possuem um fígado bem desenvolvido, que pode chegar a cerca de um quinto do peso corpóreo, em oposição aos teleósteos, que correspondem apenas a 1 ou 2 %.

Metade do óleo do fígado do tubarão é formado por esqualeno, um hidrocarboneto insaturado ($C_{30}H_{70}$). Esse óleo tem uma densidade de 0,86, enquanto os óleos normais tem 0,92, o que proporciona ao esqualeno uma flutuabilidade na água do mar cerca de 50% superior que outros óleos (Schmidt-Nielsen, 1999).

Além disso, o esqueleto cartilaginoso dos tubarões é relativamente mais leve que os esqueletos de fosfato de cálcio dos peixes. Esses fatores combinados proporcionam aos tubarões uma flutuabilidade quase neutra.

Os tubarões-azul (*Prionace glauca*) apresentam na natureza uma média de 2,5m de comprimento, chegando a pesar 70 kg. Ocorre nos mares tropicais e temperados, e por isso é considerada a espécie mais cosmopolita dos tubarões (Szpilman, 2004).

Os tubarões do presente estudo apresentam a seguinte classificação sistemática (Compagno, 1984):

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Superclasse: Gnathostomata

Classe: Chondrichthyes

Subclasse: Elasmobranchii

Superordem: Galeomorphi

Ordem Carcharhiniformes

Família Carcharhinidae

Gênero *Prionace*

Espécie *glauca*

O seu habitat é o pelágico oceânico, porém são também encontrados nas regiões costeiras principalmente no período reprodutivo. É uma espécie vivípara, produzindo cerca de 25 a 50 filhotes de aproximadamente 35 a 44 cm por ninhada. Atingem a maturidade sexual com 5 anos de vida, quando as fêmeas atingem cerca de 2,2m e os machos, cerca de 1,8m (Szpilman, *op. cit.*).

A alimentação dos *P. glauca* consiste de peixes, lulas, cações pequenos, caranguejos e aves marinhas. Podem consumir eventualmente carcaça de cetáceos, carniça ou lixo descartados por embarcações.

Sua captura é feita principalmente por espinhel, mas também podem ser coletados por rede de arrasto. Apresentam baixo risco de ataques ao ser humano, porém tornam-se mais corajosos quando estão em grupo.

É uma espécie muito estudada no mundo todo, sendo um predador topo de cadeia. São conhecidos também pelos nomes vulgares de bico doce, focinhudo ou mole-mole. Apresentam baixo risco de extinção pela IUCN (Szpilman, *op. cit.*).

2. OBJETIVOS

Esse trabalho visa determinar a ocorrência de PCBs, pesticidas organoclorados e PBDEs na musculatura e fígado de tubarão-azul (*Prionace glauca*). Serão investigadas também as diferenças de acumulação nos dois tipos de tecidos, assim como a diferença entre machos e fêmeas e sexualmente imaturos e maduros.

3. ÁREA DE ESTUDO

As coletas foram feitas na costa sul brasileira, na plataforma continental dos estados de Rio Grande do Sul e Santa Catarina

4. MATERIAL E MÉTODOS

Serão consideradas porções da musculatura e do fígado de organismos que foram coletadas pelos observadores de bordo do Projeto Albatroz embarcados na Akira, um espinheleiro de Itajaí/SC.

4.1. Material

Em dois embarques do observador de bordo do Projeto Albatroz na embarcação Akira, embarcação pesqueira de Itajaí/SC, entre agosto e setembro de 2008, foram coletados 20 indivíduos de tubarão-azul. O material biológico utilizado neste trabalho baseou-se nos tecidos que foram rejeitados pelos tripulantes.

A bordo, após a identificação da espécie e sexo, mediu-se o comprimento total e do cláster, no caso dos machos, e coletou-se de musculatura e fígado. As amostras coletadas foram separadas em papel

alumínio e imediatamente congeladas, para a posterior análise no Laboratório de Química Orgânica Marinha.

As características, tais como sexo, comprimento total e do clássper, estágio sexual, tecidos analisados, data da coleta e porcentagem de gordura do fígado e músculo dos tubarões deste estudo estão listados na Tabela I.

Tabela I: Características dos *P. glauca* utilizados neste estudo.

Amostra	Sexo	Comprimento total (m)	Comprimento clássper (cm)	Estágio sexual	Fígado	Músculo	Data da coleta
PG1	M	0,95	4,5	I	X	X	02/08/2008
PG2	M	1,3	4,7	I	X	X	14/09/2008
PG3	M	1,42	4,5	I	X	X	02/08/2008
PG4	M	1,49	8,5	I	X	X	02/08/2008
PG5	M	1,54	7	I	X	X	02/08/2008
PG6	M	1,71	7	I	X	X	02/08/2008
PG7	M	2,18	12	M	X	X	07/08/2008
PG8	M	2	10	M	X	X	07/08/2008
PG9	M	2,1	8	M	X	X	14/09/2008
PG10	M	2,7	14	M	X	X	14/09/2008
PG11	M	2,71	14	M	X	X	14/09/2008
PG12	M	3,34	18	M	X	X	08/08/2008
PG13	F	1,3	-	I	X	X	02/08/2008
PG14	F	1,82	-	I	X	X	02/08/2008
PG15	F	1,92	-	I	X	X	02/08/2008
PG16	F	2,08	-	I	X	X	13/09/2008
PG17	F	2,1	-	I	X	X	02/08/2008
PG18	F	2,3	-	M	X	X	02/08/2008
PG19	F	2,36	-	M	X	X	07/08/2008
PG20	F	2,45	-	M	X	X	14/09/2008

Sexo: M – Macho; F – Fêmea; Estágio sexual: I – Imaturo; M – Maduro.

Os tubarões desta espécie podem atingir até 4 metros, porém, em seu habitat, apresentam um comprimento total máximo entre 2 e 2,5m (Filho, 1999). Neste trabalho, os tubarões apresentaram um comprimento total bastante variável (Figura 1), abrangendo desde indivíduos juvenis (0,85 m) até grandes adultos (3,34 m).

Figura 1: Média do comprimento total e desvio padrão de cada classe de tubarão-azul utilizado neste trabalho.

A maturidade sexual foi adotada a partir do comprimento total. Especialistas divergem quanto ao comprimento na qual os tubarões da espécie *Prionace glauca* tornam-se sexualmente maduros. Foi adotado o comprimento total relatado por Szpilman (2004), no qual a maturidade sexual dos tubarões machos é atingida com 1,8 m, e das fêmeas com 2,2m.

No caso dos espécimes machos, a maturidade foi confirmada pelo comprimento do clássper, que em torno de 8-10 cm torna-se calcificado, indicando a maturidade do indivíduo.

4.2. Metodologia

4.2.1. Estado das amostras

Após serem coletadas, as amostras foram congeladas até o momento da secagem com sulfato de sódio para a extração. As vantagens desse método em relação à liofilização das amostras são claras, como apontadas por Cipro (2007), em relação à degradação de alguns compostos submetidos a esse método, principalmente para os pesticidas organoclorados, que são mais suscetíveis à volatilização que os PCBs e os PBDEs.

4.2.2. Extração, Purificação e Injeção

Inicialmente, as amostras úmidas foram trituradas em homogenizador Turrax, para que as fibras do tecido não prejudiquem a eficiência da extração. A seguir, foi pesada uma quantidade correspondente para cada tipo de tecido (musculatura=5g; fígado=0,25g). Essa amostra foi colocada em um almofariz, juntamente com uma quantidade de sulfato de sódio suficiente para a secagem da amostra, e maceradas com o auxílio de um pistilo. A matéria resultante, colocada em um cartucho de vidro com placa porosa foi colocado dentro de um extrator Soxhlet, juntamente com 100 μL de padrão *surrogate* de organoclorados (PCB 103 + PCB 198 1,0 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$). A extração ocorreu por 8 horas, utilizando 80 mL de mistura de n-hexano/Diclorometano 50% (1:1 v/v). A seguir, as amostras foram concentradas a 1,0 mL em evaporador rotativo e foi retirada uma fração de 100 μL , para a posterior determinação da matéria orgânica extraível (MOE), ou seja, a quantidade de lipídios extraídos pela adição de solventes orgânicos dos tecidos estudados. Ela foi feita adicionando-se a fração extraída anteriormente em um frasco previamente pesado, deixando-o evaporar até a massa ficar com peso constante.

A purificação das amostras foi feita inicialmente passando o extrato por uma coluna de adsorção contendo sílica e alumina desativadas com 5% em peso de água milli-Q, extraída 5 vezes com n-hexano, e utilizando 80 mL de mistura n-hexano/DCM (1:1 v/v) como eluente. O método de purificação complementar consistiu em procedimento cromatográfico em fase líquida de alto desempenho (HPLC), equipado com coluna de permeação em gel, que promove a exclusão pelo tamanho da molécula, utilizando diclorometano como solvente de arraste.

A solução foi submetida novamente ao evaporador rotativo para concentração a 1 mL. Por fim, foi adicionado o padrão interno TCMX (tetraclorometaxileno), para o cálculo da taxa de recuperação dos padrões *surrogate*. A análise final foi feita por cromatógrafo a gás acoplado em um

espectrômetro de massas (GC-MS) para os PBDEs e PCBs e em detector de captura de elétrons (GC-ECD) para os pesticidas organoclorados.

A Figura 2 apresenta o fluxograma da metodologia descrita.

Figura 2: Fluxograma da metodologia final.

4.2.3. Critérios de Identificação

4.2.3.1. Identificação Qualitativa

Padrões contendo mistura dos compostos foram analisados quanto a seus tempos de retenção e comparados com os tempos de retenção dos compostos encontrados nos extratos das amostras.

No caso dos PBDEs e PCBs, que foram analisados no GC-MS, além desses dois parâmetros, também foram avaliados os íons resultantes da quebra da molécula e a proporção entre eles.

4.2.3.1.1. PCBs

As misturas de padrões de PCBs do laboratório são a C-WCFS e C-WNN, ambas da AccuStandard. Os congêneres presentes nas misturas são apresentados nas Figuras II e III.

Tabela II: Padrão de PCBs C-WCFS AccuStandard.

COMPOSTOS - C-WCFS	
2',3,4-Trichlorobiphenyl	2,2',3,5',6-Pentachlorobiphenyl
2,2',3',4,5-Pentachlorobiphenyl	2,2',3,5,5',6-Hexachlorobiphenyl
2,2',3,3',4',5,6-Heptachlorobiphenyl	2,2',4,4',5-Pentachlorobiphenyl
2,2',3,3',4,4',5,5'-Octachlorobiphenyl	2,2',4,5'-Tetrachlorobiphenyl
2,2',3,3',4,5,5',6'-Octachlorobiphenyl	2,3',4',5-Tetrachlorobiphenyl
2,2',3,3',4,5,6'-Heptachlorobiphenyl	2,3,3',4',6-Pentachlorobiphenyl
2,2',3,3',4,6'-Hexachlorobiphenyl	2,3,3',4'-Tetrachlorobiphenyl
2,2',3,4',5',6-Hexachlorobiphenyl	2,3,3',4,4',5-Hexachlorobiphenyl
2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl	2,3,3',4,4',6-Hexachlorobiphenyl
2,2',3,4,4',5,5',6-Octachlorobiphenyl	2,3,4,4'-Tetrachlorobiphenyl
2,2',3,4,5'-Pentachlorobiphenyl	2,4',5-Trichlorobiphenyl
2,2',3,4,5,5'-Hexachlorobiphenyl	2,4,4',5-Tetrachlorobiphenyl

Tabela III: Padrão de PCBs C-WNN AccuStandard.

COMPOSTOS - C-WNN	
2',3,4,4',5-Pentachlorobiphenyl	2,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorobiphenyl	2,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl
2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonachlorobiphenyl	2,3,3',4,4',5'-Hexachlorobiphenyl
2,2',3,3',4,4',5,6-Octachlorobiphenyl	2,3,3',4,4',5-Hexachlorobiphenyl
2,2',3,3',4,4'-Hexachlorobiphenyl	2,3,3',4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl
2,2',3,4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl	2,3,3',4,4'-Pentachlorobiphenyl
2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	2,3,4,4',5-Pentachlorobiphenyl
2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl	2,4'-Dichlorobiphenyl
2,2',3,5'-Tetrachlorobiphenyl	2,4,4'-Trichlorobiphenyl
2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl
2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl	3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
2,2',5-Trichlorobiphenyl	3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl
2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl	3,4,4',5-Tetrachlorobiphenyl
2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl	Decachlorobiphenyl

A identificação dos congêneres das amostras foi baseada no tempo de retenção dos padrões e nos íons apresentados na Tabela IV.

Tabela IV: Congêneres de PCB, e os três íons para cada nível de cloração.

Nível de Bromação	Congêneres	Íon de Quantificação	Íon de Confirmação	Íon de Confirmação
CI 2	PCB-8	222	224	226
CI 3	PCB-18 PCB-28 PCB-31 PCB-33	255.95	257.95	259.95
CI 4	PCB-44 PCB-49 PCB-52 PCB-56 PCB-60 PCB-66 PCB-70 PCB-74 PCB-77 PCB-81	291.90	289.90	293.90
CI 5	PCB-87 PCB-95 PCB-97 PCB-99 PCB-101 PCB-105 PCB-110 PCB-114 PCB-118 PCB-123 PCB-126	325.90	323.90	327.90
CI 6	PCB-128 PCB-132 PCB-138 PCB-141 PCB-149 PCB-151 PCB-153 PCB-156 PCB-157 PCB-158 PCB-167 PCB-169	359.90	362.90	363.90
CI 7	PCB-170 PCB-174 PCB-177 PCB-180 PCB-183 PCB-187 PCB-189	393.80	395.80	397.80
CI 8	PCB-194 PCB-195 PCB-199 PCB-203	429.75	427.75	431.75
CI 9	PCB-206	463.79	461.70	465.70
CI 10	PCB-209	487.70	499.70	495.70

4.2.3.1.2. Pesticidas organoclorados

A identificação dos pesticidas foi feita através da comparação com os tempos de retenção da mistura AE-00010 da AccuStandard, que continha

25 compostos. Os compostos presentes na mistura estão apresentados na Tabela V.

Tabela V: Padrão de pesticidas organoclorados AE00010 AccuStandard.

COMPOSTOS - AE00010	
2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	γ -Chlordane
2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl	Heptachlor
2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	Heptachlor epoxide (Isomer A)
2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl	Heptachlor epoxide (Isomer B)
2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl	Hexachlorobenzene
2,4,4'-Trichlorobiphenyl	Isodrin
α -BHC	Methoxychlor
α -Chlordane	Mirex
Aldrin	o,p'-DDD
β -BHC	o,p'-DDE
δ -BHC	o,p'-DDT
Dieldrin	Oxychlordane isomer
Endosulfan I	p,p'-DDD
Endosulfan II	p,p'-DDE
Endrin	p,p'-DDT
γ -BHC	

4.2.3.1.3. PBDEs

Para os testes metodológicos, o LabQOM adquiriu o padrão BDE-CSM, da AccuStandard, contendo oito éteres de interesse primário (Tabela VI).

Tabela VI: Padrão de PBDEs BDE-CSM AccuStandard.

COMPOSTOS - BDE-CSM
2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decabromodiphenyl ether
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether
2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether
2,4,4'-Tribromodiphenyl ether

A partir do padrão, foram feitas diluições, que foram injetadas nas condições cromatográficas selecionadas para as análises. Para a identificação dos analitos que foram detectados pelo método, uma ampla

pesquisa bibliográfica foi realizada, de acordo com comparações entre equipamentos, colunas, rampas de temperatura e outras condições cromatográficas, baseado nos trabalhos de Alaei (2001), Öberg (2004), Korytár (2005), Bragigand (2006), Samara *et al.* (2006), Montes (2007), Agilent (2007) e Wang (2008).

O padrão BDE-CSM contém o congênere 209, porém não foi possível a sua identificação. Segundo Korytár (2005), este congênere possui uma grande tendência de degradar. Por isso, geralmente ele é analisado separadamente por meio de uma coluna de corrida curta de 15 metros, o que não é o caso da coluna que equipa os cromatógrafos do laboratório. Ademais, o GC-MS do laboratório possui a limitação de escanear fragmentos (m/z) de até 800 amu, e o fragmento do BDE-209 ultrapassa os 900 amu.

O espectrômetro de massas foi operado em modo de monitoramento de íons selecionados (SIM – “Selected ion monitoring”), o qual inclui o monitoramento de três íons selecionados para cada congênere, com a exceção dos PBDEs que contém apenas um bromo (BDE-1, BDE-2 e BDE-3), que inclui apenas dois íons (Tabela VII).

Tabela VII: Congêneres de PBDE e íons de quantificação e confirmação para cada nível de bromação.

Nível de Bromação	Congêneres	Íon de Quantificação	Íon de Confirmação	Íon de Confirmação
Br 1	BDE-1	248.00	250.00	-
	BDE-2			
	BDE-3			
Br 2	BDE-7	327.90	325.90	329.90
	BDE-8			
	BDE-10			
	BDE-11			
	BDE-12			
	BDE-13			
Br 3	BDE-15	405.80	407.80	409.80
	BDE-17			
	BDE-25			
	BDE-28			
	BDE-30			
	BDE-32			
	BDE-33			
Br 4	BDE-35	485.70	483.70	487.70
	BDE-37			
	BDE-47			
	BDE-49			
	BDE-66			
	BDE-71			
Br 5	BDE-75	563.6	565.60	561.60
	BDE-77			
	BDE-85			
	BDE-99			
	BDE-100			
	BDE-116			
	BDE-118			
	BDE-119			

Br 6	BDE-126			
	BDE-138	643.55	641.55	645.50
	BDE-153			
	BDE-154			
	BDE-155			
Br 7	BDE-166			
	BDE-181	721.45	723.45	719.45
	BDE-183			
	BDE-190			

4.2.3.2. Identificação Quantitativa

A análise quantitativa foi realizada com o auxílio do padrão *surrogate*, o PCB 103 e o PCB 198. O padrão *surrogate* é uma solução contendo um ou alguns congêneres de características semelhantes aos analitos que serão investigados nas análises. Sua concentração deve ser conhecida, para que a recuperação dos analitos no cromatograma seja baseada no *surrogate*. A quantificação se dá baseada no fator de resposta obtida pela relação entre os padrões *surrogate* e os analitos de interesse.

4.2.4. Curva Analítica

A curva analítica foi baseada no fator de resposta de nove padrões preparados em diferentes concentrações: 1,0; 5,0; 10; 20; 50; 80; 100; 150 e 200 pg/μL de BDE-CSM (AccuStandard) para os PBDEs, C-WCFS e C-WNN (AccuStandard) para os PCBs e AE00010 para os pesticidas.

A partir do desvio relativo do fator de resposta, foi calculado o coeficiente de correlação (r) por meio de uma regressão, que deverá ser maior ou igual a 0,995 (Wade & Cantillo, 1994).

4.2.5. Equipamentos e Condições de Operação

4.2.5.1. PCBs

Para a injeção dos PCBs foi usado o cromatógrafo a gás modelo Agilent 6890 equipado com espectrômetro de massas Agilent 5973. A coluna

HP-5MS (5 % *methyl phenyl siloxane*) possui as dimensões: 30m x 250µm x 0,25µm.

As alíquotas foram injetadas de acordo com as seguintes condições de operação:

- Temperatura do Injetor: 270°C;
- Temperatura Inicial do Forno: 75°C;
- Tempo: 3 min.;
- Rampa 1: 15°C/min.;
- Temperatura 1: 150°C;
- Tempo: 0 min.;
- Rampa 2: 2°C/min.;
- Temperatura 2: 260°C;
- Tempo: 0 min.;
- Rampa 3: 20°C/min.;
- Temperatura Final: 300°C;
- Tempo: 1 min.;
- Tempo Total da Corrida: 66 min.

4.2.5.2. Pesticidas organoclorados

Para a injeção dos pesticidas organoclorados foi usado o cromatógrafo a gás modelo Agilent 6890N equipado com detector de captura de elétrons, com uma coluna HP-5MS (5 % *methyl phenyl siloxane*) 30m x 250µm x 0,50µm.

As alíquotas foram injetadas de acordo com as seguintes condições de operação:

- Temperatura do Injetor: 280°C;

- Temperatura Inicial do Forno: 70°C;
- Tempo: 1 min.;
- Rampa 1: 40°C/min.;
- Temperatura 1: 170°C;
- Tempo: 0 min.;
- Rampa 2: 1,5°C/min.;
- Temperatura 2: 240°C;
- Tempo: 2 min.;
- Rampa 3: 15°C/min.;
- Temperatura Final: 300°C;
- Tempo: 5 min.
- Tempo Total da Corrida: 61,17min.

4.2.5.3. PBDEs

Para a injeção dos PBDEs foi usado o cromatógrafo a gás modelo Agilent 6890 equipado com espectrômetro de massas Agilent 5973. A coluna HP-5MS (5 % *methyl phenyl siloxane*) possuía as dimensões: 30m x 250µm x 0,25µm.

As alíquotas foram injetadas de acordo com as seguintes condições de operação:

- Temperatura do Injetor: 270°C;
- Temperatura Inicial do Forno: 130°C;
- Tempo: 1 min.;
- Rampa 1: 12°C/min.;
- Temperatura 1: 154°C;
- Tempo: 0 min.;

- Rampa 2: 2°C/min.;
- Temperatura 2: 210°C;
- Tempo: 0 min.;
- Rampa 3: 3°C/min.;
- Temperatura Final: 300°C;
- Tempo: 5 min.;
- Tempo Total da Corrida: 66 min.

4.2.6. Controle de qualidade

A análise de poluentes orgânicos requer muitos cuidados para garantir a qualidade dos resultados, já que se trabalha com níveis traços. O controle de qualidade, portanto, se faz necessário para assegurar que as técnicas analíticas utilizadas são eficientes para a análise dos compostos em questão, para que não haja a subestimação ou superestimação dos resultados. Nos próximos tópicos serão descritos os procedimentos que foram realizados, baseados em Wade & Cantillo (1994).

4.2.6.1. Interferentes

Alguns compostos podem interferir na análise devido a contaminantes que possam estar presentes no solvente, reagentes e vidraria. Para que isso não ocorra, toda a vidraria não volumétrica foi muflada a 450°C por 4 horas, e a volumétrica lavada com n-hexano e diclorometano 1:1 v/v.

Em todos os procedimentos das análises foram usados solventes grau resíduo da marca J.T. Baker, sulfato de sódio, sílica e alumina da Merck.

4.2.6.2. Branco do Método

O branco do método é usado para demonstrar a contaminação proveniente do procedimento analítico realizado pela análise de sulfato de sódio com a mesma metodologia que as amostras.

Um branco aceitável não pode apresentar mais de três picos referentes aos analitos e seu nível não pode ser mais que 3 vezes o limite de detecção do método.

A contaminação apresentada na amostra de um branco aceitável, supostamente adquirida por todas as amostras nas etapas da análise, corresponde à contaminação do método, e foi descontada do resultado das amostras.

4.2.6.3. Branco Spike

Para avaliar o comportamento dos analitos sem influência da matriz, foi adicionada uma mistura dos analitos de concentração conhecida ao sulfato de sódio, que foi denominado de branco *Spike* ou branco fortificado.

Os erros foram calculados de acordo com a seguinte fórmula:

$$E (\%) = \frac{|C_{\text{real}} - C_{\text{calculada}}|}{C_{\text{real}}} \times 100$$

C_{real}: Concentração real do analito

C_{calculada}: Concentração calculada do analito

São considerados aceitáveis os erros menores que 50%.

4.2.6.4. Duplicatas

A amostra duplicata é útil para a demonstração da homogeneidade e precisão analítica do método. A duplicata é preparada executando-se todos os procedimentos de extração e purificação em uma replicata de uma amostra escolhida randomicamente.

A análise da duplicata deve apresentar um percentual relativo da diferença (PRD) menor ou igual a 25%, e é calculada pela seguinte equação:

$$PRD (\%) = \left\{ \frac{(C_{ma} - C_{md})}{(C_{ma} + C_{md}) / 2} \right\} \times 100$$

C_{ma}: Concentração medida do analito na amostra

C_{md}: Concentração medida do analito na amostra duplicata

4.2.6.5. Matriz Spike

Para avaliar a exatidão do método de processamento da amostra na presença de uma matriz representativa, utiliza-se a matriz *Spike*. Ela é feita através da fortificação dos analitos de concentração conhecida em uma porção de matriz, e executando-se todos os passos de extração e purificação realizados com as amostras.

Uma recuperação aceitável deve conter 80% dos analitos no limite entre 50 e 120% de recuperação.

4.2.6.6. Material de Referência Certificado (MRC)

Para certificar-se da exatidão relativa do processamento da amostra, utiliza-se uma amostra bem caracterizada com relação aos analitos de interesse, com os valores e incertezas certificados.

Neste estudo, a amostra de material de referência certificado utilizada foi a gordura de baleia #1945 (SRM/NIST – *Standard Reference Material/National Institute of Standards and Technology*). Considerou-se aceitável que os valores encontrados na análise do MRC estivessem próximos aos valores certificados com um erro máximo de $\pm 30\%$.

A utilização do Material de Referência Certificado foi importante para a indicação do erro na análise do PCB 18 e do PCB 31, que apresentaram um erro maior que 30%. Portanto, os resultados referentes a tais analitos foram excluídos e não foram discutidos no trabalho.

4.2.6.7. Recuperação do Padrão *Surrogate*

Antes da extração, em todas as amostras foram adicionados os padrões *surrogate*, para o cálculo das concentrações. Antes da injeção, em

todos os extratos foi adicionado o padrão interno, para o controle do desempenho do método.

A recuperação dos padrões *surrogate* é calculada pela fórmula a seguir:

$$R \% (PS) = \left\{ \frac{Cm(PS) \times Ca (PI)}{Cm(PI) \times Ca (PS)} \right\} \times 100$$

Cm: Concentração média na amostra

Ca: Concentração adicionada na amostra

PS: Padrão *surrogate* (PCB 103 e PCB 198)

PI: Padrão Interno Cromatográfico (TCMX)

Todas as análises desse trabalho apresentaram uma recuperação do padrão interno entre 60% e 120%. Quando isso não ocorreu, elas foram refeitas.

4.2.6.8. Limites de Detecção e de Quantificação do Método

Limite de Detecção é a menor concentração do analito em uma amostra, que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob determinadas condições experimentais. O Limite de Detecção pode ser do Equipamento ou Instrumento (LDI) ou do Método (LDM).

O LDI, também conhecido como “nível crítico” ou “critério de detecção”, é a menor concentração de um composto que pode ser distinguido do ruído do aparelho. Pode ser expresso como a concentração cujo sinal analítico (X) difere do sinal do branco (Xb) de k vezes o desvio padrão do branco (S). Deve ser menor que o LDM e é usado para avaliar os atributos dos diferentes instrumentos.

Já o LDM é a concentração mínima de substância que pode ser medida e registrada com 99% de confiança de que a concentração do analito é maior que zero. Enquanto o LDI avalia os diferentes equipamentos, o LDM avalia o Limite de Detecção da metodologia de análise. Para sua determinação, utilizam-se 7 replicatas com solução *spike* dos compostos, obtendo-se uma concentração final entre 2-5 vezes o limite de detecção do

cromatógrafo. Todas elas são submetidas ao procedimento metodológico escolhido. O LDM é determinado pela equação (Wade & Cantillo, 1994):

$$\text{LDM} = t(n-1) * S$$

n: nº réplicas

S: Desvio Padrão

t: valor de *t-student* com 95% de confiança (para n=7, *t* equivale a 3,14)

O Limite de Quantificação é a menor concentração do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão, aceitáveis, sob determinadas condições experimentais. Muitos métodos são atribuídos para a determinação da LQM. Em geral, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{LQM} = 10 * S$$

Amostras de fígado (0,25 g) e musculatura (5,0 g) de tubarão foram analisadas pela metodologia proposta.

A seguir foram calculados os limites de detecção e quantificação do método para PCBs, pesticidas organoclorados e PBDEs, que encontram-se nas Tabelas VIII, IX e X para musculatura, e nas Tabelas XI, XII e XIII para o fígado, respectivamente.

Tabela VIII: Limites de Detecção e Quantificação dos PCBs na musculatura (em ng.g⁻¹).

COMPOSTO	LDM	LQM	COMPOSTO	LDM	LQM
PCB 8	0,05	0,17	PCB 132	0,37	1,17
PCB 18	0,12	0,39	PCB 138	0,21	0,67
PCB 28	0,22	0,70	PCB 141	0,09	0,28
PCB 31	0,06	0,20	PCB 149	0,14	0,46
PCB 33	0,14	0,45	PCB 151	0,06	0,18
PCB 44	0,19	0,61	PCB 153	0,42	1,33
PCB 49	0,10	0,33	PCB 156	0,06	0,18
PCB 52	0,35	1,12	PCB 157	0,06	0,20
PCB 56/60	0,09	0,28	PCB 158	0,09	0,30
PCB 66	0,14	0,45	PCB 167	0,10	0,31
PCB 70	0,24	0,76	PCB 169	0,06	0,20
PCB 74	0,08	0,26	PCB 170	0,17	0,55
PCB 77	0,08	0,26	PCB 174	0,06	0,19

PCB 81	0,09	0,28	PCB 177	0,07	0,24
PCB 87	0,18	0,57	PCB 180	0,28	0,89
PCB 95	0,37	1,17	PCB 183	0,12	0,39
PCB 97	0,15	0,46	PCB 187	0,24	0,76
PCB 99	0,15	0,48	PCB 189	0,08	0,25
PCB 101	0,33	1,06	PCB 128	0,08	0,27
PCB 105	0,10	0,32	PCB 194	0,18	0,59
PCB 110	0,27	0,87	PCB 195	0,10	0,31
PCB 114	0,06	0,18	PCB 199	0,13	0,43
PCB 118	0,19	0,61	PCB 203	0,12	0,39
PCB 123	0,35	1,11	PCB 206	0,08	0,27
PCB 126	0,09	0,27	PCB 209	0,11	0,34

Tabela IX: Limites de Detecção e Quantificação dos PCBs no fígado (em ng.g⁻¹).

COMPOSTO	LDM	LQM	COMPOSTO	LDM	LQM
PCB 8	1,08	3,44	PCB 132	7,32	23,31
PCB 18	2,44	7,77	PCB 138	4,20	13,38
PCB 28	4,40	14,01	PCB 141	1,76	5,61
PCB 31	1,24	3,95	PCB 149	2,88	9,17
PCB 33	2,84	9,04	PCB 151	1,16	3,69
PCB 44	3,84	12,23	PCB 153	8,36	26,62
PCB 49	2,08	6,62	PCB 156	1,12	3,57
PCB 52	7,04	22,42	PCB 157	1,24	3,95
PCB 56/60	1,76	5,61	PCB 158	1,88	5,99
PCB 66	2,80	8,92	PCB 167	1,92	6,11
PCB 70	4,80	15,29	PCB 169	1,24	3,95
PCB 74	1,64	5,22	PCB 170	3,48	11,08
PCB 77	1,64	5,22	PCB 174	1,20	3,82
PCB 81	1,76	5,61	PCB 177	1,48	4,71
PCB 87	3,60	11,46	PCB 180	5,60	17,83
PCB 95	7,36	23,44	PCB 183	2,44	7,77
PCB 97	2,92	9,30	PCB 187	4,76	15,16
PCB 99	3,04	9,68	PCB 189	1,56	4,97
PCB 101	6,64	21,15	PCB 128	1,68	5,35
PCB 105	2,04	6,50	PCB 194	3,68	11,72
PCB 110	5,48	17,45	PCB 195	1,92	6,11
PCB 114	1,16	3,69	PCB 199	2,68	8,54
PCB 118	3,84	12,23	PCB 203	2,44	7,77
PCB 123	7,00	22,29	PCB 206	1,68	5,35
PCB 126	1,72	5,48	PCB 209	2,12	6,75

Tabela X: Limites de Detecção e Quantificação dos pesticidas organoclorados na musculatura (em ng.g⁻¹).

COMPOSTO	LDM	LQM
HCB	0,17	0,55
α-HCH	0,12	0,38
β-HCH	0,10	0,31
γ-HCH	0,20	0,64

δ-HCH	0,11	0,36
Aldrin	0,10	0,32
Endrin	0,10	0,31
Dieldrin	0,23	0,74
Isodrin	0,27	0,86
α-Clordana	0,05	0,17
γ-Clordana	0,08	0,24
Oxiclordana	0,24	0,77
Mirex	0,14	0,43
Heptacloro	0,14	0,44
Heptacloro Epóxido A	0,20	0,64
Heptacloro Epóxido B	0,07	0,24
Endosulfan I	0,20	0,64
Endosulfan II	0,06	0,20
2,4'-DDT	0,15	0,46
4,4'-DDT	0,06	0,18
2,4'-DDE	0,10	0,31
4,4'-DDE	0,11	0,34
2,4'-DDD	0,09	0,29
4,4'-DDD	0,18	0,57

Tabela XI: Limites de Detecção e Quantificação dos pesticidas organoclorados no fígado (em ng.g⁻¹).

COMPOSTO	LDM	LQM
HCB	3,48	11,08
α-HCH	2,40	7,64
β-HCH	1,96	6,24
γ-HCH	4,00	12,74
δ-HCH	2,28	7,26
Aldrin	2,00	6,37
Endrin	1,92	6,11
Dieldrin	4,64	14,78
Isodrin	5,40	17,20
α-Clordana	1,08	3,44
γ-Clordana	1,52	4,84
Oxiclordana	4,84	15,41
Mirex	2,72	8,66
Heptacloro	2,76	8,79
Heptacloro Epóxido A	4,04	12,87
Heptacloro Epóxido B	1,48	4,71
Endosulfan I	4,04	12,87
Endosulfan II	1,24	3,95
2,4'-DDT	2,92	9,30
4,4'-DDT	1,12	3,57
2,4'-DDE	1,92	6,11
4,4'-DDE	2,12	6,75
2,4'-DDD	1,80	5,73
4,4'-DDD	3,56	11,34

Tabela XII: Limites de Detecção e Quantificação dos PBDEs na musculatura (em ng.g⁻¹).

COMPOSTO	LDM	LQM
PBDE 28	0,29	0,91
PBDE 47	0,35	1,12
PBDE 100	0,37	1,18
PBDE 99	0,21	0,66
PBDE 154	0,27	0,86
PBDE 153	0,25	0,81
PBDE 183	0,20	0,64

Tabela XIII: Limites de Detecção e Quantificação dos PBDEs no fígado (em ng.g⁻¹).

COMPOSTO	LDM	LQM
PBDE 28	5,72	18,22
PBDE 47	7,04	22,42
PBDE 100	7,40	23,57
PBDE 99	4,16	13,25
PBDE 154	5,40	17,20
PBDE 153	5,08	16,18
PBDE 183	4,00	12,74

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias, desvio padrão e variação de lipídios, PCBs totais, PBDEs totais e pesticidas organoclorados nos diferentes tecidos, estágio sexual e sexo dos tubarões encontram-se na Tabela XIV.

Tabela XIV: Média, desvio padrão e variação de lipídios, PCBs, PBDEs e DDTs nos diferentes tecidos, estágio sexual e sexo de *P. glauca*. As concentrações estão apresentadas em ng.g⁻¹ de peso úmido.

Sexo	Maturidade	Tecido	Lipídios (%)	PCBs	DDTs	PBDEs
Machos	Imaturo	Musculatura	0,18 - 0,44	n.d. - 4,84	n.d. - 0,43	n.d.
			0,27 ± 0,11	1,65 ± 2,13	0,17 ± 0,19	n.d.
	Maduro	Fígado	17,96 - 34,50	12,90 - 34,32	n.d. - 23,16	n.d.
			28,54 ± 6,36	23,94 ± 8,22	8,48 ± 9,20	n.d.
		Musculatura	0,30 - 0,38	n.d. - 7,21	n.d. - 0,34	n.d.
			0,35 ± 0,03	3,45 ± 3,20	0,11 ± 0,16	n.d.
Fêmeas	Imaturo	Musculatura	0,38 - 0,48	0,34 - 7,73	n.d. - 0,48	n.d.
			0,40 ± 0,05	2,8 ± 2,98	0,23 ± 0,22	n.d.

	Fígado	28,9 - 34,77 31,31 ± 2,35	13,84 - 44,67 29,42 ± 11,01	6,72 - 16,60 13,86 ± 4,08	n.d. n.d.
Maduro	Musculatura	0,32 - 0,46 0,39 ± 0,07	n.d. - 5,75 1,92 ± 3,32	n.d. - 0,39 0,23 ± 0,20	n.d. n.d.
	Fígado	25,28 - 34,74 29,32 ± 4,88	52,32 - 109 81,31 ± 28,36	9,56 - 13,72 10,99 ± 2,37	n.d. n.d.

n.d.= abaixo do limite de detecção.

Há três constantes em todas as amostras do trabalho:

- A espécie *Prionace glauca*;
- Época da coleta. Segundo Quijano (2007), o ciclo reprodutivo do tubarão-azul no Atlântico Sudoeste apresenta um padrão anual, e por isso, diferentes épocas de coleta poderiam influenciar nas concentrações de poluentes nos organismos;
- Área de coleta. Acredita-se que existem três estoques distintos no oceano Atlântico, um no Hemisfério Norte, um no Hemisfério Sul e outro no Mediterrâneo (ICCAT, 2006), portanto o local de coleta centrado no Atlântico Sul indica as características biológicas desse estoque. Ainda, a coleta restrita a uma porção da costa brasileira normaliza as possíveis variações na alimentação e comportamento entre diferentes estruturas populacionais.

As análises ficaram restritas a algumas variáveis: sexo, maturidade, tipo de tecido, porcentagem de lipídios e comprimento total.

A porcentagem de lipídios dos tecidos dos tubarões apresentou resultados bastante variáveis, como se observa na Figura 3. Isso indica a grande variabilidade da quantidade de lipídio entre os indivíduos de mesma classe, dificultando a normalização dos níveis de poluentes em razão da gordura.

Figura 3: Porcentagem e desvio padrão de lipídios em A) musculatura e B) fígado, de cada classe de tubarão-azul.

Como os poluentes estudados neste trabalho possuem grande afinidade por tecido adiposo, a quantidade de poluentes acumulados nos organismos pode apresentar grande correlação com a quantidade de lipídios. Ao corrigir as concentrações dos poluentes em relação à porcentagem de gordura, notou-se que não houve correlação entre elas. Isso pode ter ocorrido por alguns motivos, como o pequeno n amostral; diferentes fases de gestação, no caso das fêmeas, já que em diferentes fases, parcelas variáveis de gordura estariam sendo transferidas para os filhotes; por diferença de hábitos migratórios, já que grupos com indivíduos que migram maiores distâncias podem apresentar menor quantidade de gordura, porém a mesma concentração de determinado poluente que indivíduos menos migradores; ou pelo grande intervalo de tamanho dentro de cada classe de tubarões.

Philips (1995) ressalta que as diferenças na porcentagem de lipídio do tecido é a razão primária para a acumulação de organoclorados. Entretanto, há estudos (Nowak, 1991; COSD, 1998) que observaram que a variabilidade de concentrações em diferentes amostras não era explicada por diferenças na quantidade de lipídio. Groce *et al.* (2004) testa essa hipótese e demonstra, em duas espécies de peixes demersais, que os níveis de DDTs e PCBs podem não estar correlacionados com o tamanho, e por isso um tratamento de dados pelo nível de lipídio pode ocasionar na perda de dados.

Por esse motivo, não serão discutidos os resultados corrigidos por porcentagem de gordura, mas sim em função do peso úmido.

[illegible]

n.d.: abaixo do limite de detecção do método

Tabela XVI: Concentração de PCBs (em ng.g⁻¹ peso úmido) em musculatura de *Prionace glauca* (cont.).

[illegible]

[illegible]

n.d.: abaixo do limite de detecção do método

Tabela XVII: Concentração de PCBs (em ng.g⁻¹ peso úmido) em fígado de *Prionace glauca*.

[illegible]

PCB 110	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5,02	6,80	3,91	6,80
PCB 151	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,10	1,92
PCB 123	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 149	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,57	3,48	3,06	5,32
PCB 118	1,09	2,27	1,30	n.d.	2,45	2,14	3,87	5,24	3,43	5,96
PCB 114	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 153	1,51	3,15	1,80	12,32	3,39	2,97	9,24	12,52	8,26	14,36
PCB 132	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 105	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 141	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 138	0,95	1,98	1,14	8,04	2,14	1,87	7,09	9,60	6,53	11,36
PCB 158	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,43	2,48
PCB 126	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 187	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,11	5,40
PCB 183	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,70	2,96
PCB 128	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,29	2,24
PCB 167	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 174	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,06	1,84
PCB 177	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,22	2,12
PCB 156	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,69	1,20
PCB 157	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,10	1,92
PCB 180	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,57	6,20
PCB 169	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 170	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 199	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,95	8,60
PCB 203	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,14	3,72
PCB 189	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 195	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,89	3,28
PCB 194	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,51	4,36
PCB 206	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 209	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: abaixo do limite de detecção do método

Tabela XVIII: Concentração de PCBs (em ng.g⁻¹ peso úmido) em fígado de *Prionace glauca* (cont.).

Composto	PG11	PG12	PG13	PG14	PG15	PG16	PG17	PG18	PG19	PG20
PCB 8	11,24	n.d.	2,96	3,20	2,68	2,70	1,89	n.d.	n.d.	13,84
PCB 28	13,08	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,88	2,71	n.d.	n.d.	10,56
PCB 33	8,52	n.d.	3,00	3,32	n.d.	2,44	1,70	n.d.	n.d.	9,24
PCB 52	14,28	n.d.	n.d.	7,56	7,48	3,89	2,72	n.d.	n.d.	11,12
PCB 49	6,20	n.d.	2,76	2,84	2,52	1,46	1,02	n.d.	n.d.	6,76
PCB 44	7,52	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,66	1,86	n.d.	n.d.	9,64
PCB 74	4,24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,05	0,73	n.d.	n.d.	2,48
PCB 70	5,92	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,37	1,66	n.d.	n.d.	5,40
PCB 66	5,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,99	1,39	n.d.	n.d.	n.d.

PCB 95	8,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,12	2,18	n.d.	n.d.	8,36
PCB 56/60	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,65	0,45	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 101	10,60	9,16	n.d.	n.d.	n.d.	2,86	2,00	5,23	n.d.	6,72
PCB 99	19,08	13,08	n.d.	n.d.	n.d.	1,41	0,98	2,96	4,72	4,36
PCB 97	3,72	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,99	0,69	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 81	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 87	6,12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,52	1,07	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 77	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 110	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,27	1,58	n.d.	n.d.	6,24
PCB 151	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,47	0,33	0,97	n.d.	n.d.
PCB 123	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,99	1,39	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 149	4,80	10,12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5,42	n.d.	2,96
PCB 118	23,28	15,80	n.d.	n.d.	n.d.	1,89	1,32	2,80	6,20	4,32
PCB 114	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 153	104,96	117,04	n.d.	8,56	9,00	2,77	1,94	20,13	20,68	n.d.
PCB 132	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 105	3,84	4,32	n.d.	n.d.	n.d.	0,50	0,35	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 141	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 138	52,28	68,88	5,12	4,80	5,40	1,81	1,26	14,44	15,76	5,68
PCB 158	13,44	4,64	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 126	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 187	27,24	32,92	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6,12	4,96	n.d.
PCB 183	8,44	11,44	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,53	n.d.	n.d.
PCB 128	5,00	5,68	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,54	n.d.	n.d.
PCB 167	1,96	2,40	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 174	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 177	4,00	5,44	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,24	n.d.	n.d.
PCB 156	1,20	1,40	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 157	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 180	32,88	42,08	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,30	n.d.	n.d.
PCB 169	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,32
PCB 170	13,72	16,08	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,20	n.d.	n.d.
PCB 199	n.d.	7,12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,40	n.d.	n.d.
PCB 203	6,68	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,31	n.d.	n.d.
PCB 189	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 195	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 194	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 206	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB 209	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: abaixo do limite de detecção do método

Quarenta e nove congêneres de PCBs foram analisados nas amostras de tubarões da costa sul brasileira. Os PCBs estiveram presentes

em mais de 80% das amostras, com concentrações variando de <n.d. a 427,28 ng.g⁻¹ de peso úmido.

Em ambos os tecidos de tubarões, ficaram abaixo do limite de detecção os seguintes congêneres de PCB: 77, 81, 114, 126, 132, 141, 157, 174, 174, 189, 206 e 209.

As amostras de musculatura apresentaram concentrações que variaram de <n.d. a 7,73 ng.g⁻¹ de peso úmido. Nas amostras de fígado, os PCBs totais estiveram presentes em todas as amostras, com concentrações que variaram de 12,90 ng.g⁻¹ em um macho imaturo a 427,28 ng.g⁻¹ de peso úmido em um macho maduro.

A Figura 4 apresenta as médias de PCBs totais nos organismos.

Figura 4: Médias de PCBs totais em A) musculatura e B) fígado.

Esses menores valores na musculatura em relação ao fígado podem estar associados com o metabolismo do animal, que elimina os poluentes da musculatura mais rapidamente, além da transferência eficiente dos poluentes para o fígado, devido à sua grande reserva de lipídios (Ballantyne, 1997).

A FDA (*Food and Drug Administration*), órgão governamental dos Estados Unidos para controle dos alimentos, estabelece o valor de 2,0 ppm de peso úmido como limite de ação para PCBs totais em peixes e moluscos (Mearns *et al*, 1988). Os tubarões apresentaram concentrações máximas em musculatura e fígado menores que esse limite, com 0,0077 e 0,43 ppm, respectivamente. O nível do fígado, porém, chega próximo ao nível de

proteção ao predador marinho proposto pela NAS (*National Academy of Science*), que é de 0,5 ppm.

Médias semelhantes foram relatadas por Azevedo-Silva (2007) na musculatura de *Prionace glauca* da costa brasileira. São, entretanto, uma a duas ordens de grandeza menores que *Centrophorus granulosus* e *Squalus blainvillei*, do Mar Mediterrâneo (Storelli & Marcotrigiano, 2001), *Chiloscyllium plagiosum*, de Hong Kong (Cornish *et al.*, 2007) e alguns *Sphyrna zygaena* da costa brasileira (Azevedo-Silva, 2009). Apenas alguns indivíduos do trabalho de Storelli & Marcotrigiano (*op. cit.*) apresentam valores semelhantes ao deste estudo, tanto para musculatura quanto para fígado de tubarões do Mediterrâneo, e variaram até uma ordem de grandeza maiores.

Esses maiores valores em *Centrophorus granulosus* e *Squalus blainvillei*, em relação aos *P. glauca* deste trabalho já eram esperados, já que o mar Mediterrâneo é um mar semi-fechado impactado por intensa industrialização (Stefanelli *et al.*, 2004), diferentemente da costa sul brasileira, região com relativamente baixa industrialização.

Em princípio, os níveis de PCBs são equivalentes na musculatura de todas as classes de tubarão-azul. Para o fígado, os resultados já mostram-se diferentes para cada classe. Observa-se um elevado nível de PCBs totais nos machos maduros, em relação aos imaturos, indicando uma maior tendência de acúmulo de PCBs no fígado ao longo do tempo. O mesmo não acontece para as fêmeas maduras, que não apresentam diferenças consideráveis em relação às imaturas, comparado com os machos maduros em relação aos imaturos. Esse dado pode ser um indicativo da eliminação de poluentes que as fêmeas sofrem com a gestação, na qual os compostos são transferidos para os filhotes.

Os bifenilos policlorados que entram para o corpo dos organismos através da respiração ou alimentação e acumulam-se ao longo do tempo de acordo com características físico-químicas de cada composto. A presença e posição de átomos de hidrogênio e cloro adjacentes na molécula em determinadas posições é uma das principais causas de persistência e baixa metabolização de determinados congêneres. Comparando com outros compostos químicos, os PCBs possuem um K_{ow} muito alto, e por isso tendem

a serem absorvidos a superfícies apolares, acumulando nas matrizes gordurosas (Harrad & Smith, 1997). As características físico-químicas associadas à lipofilicidade determinam a concentração dos PCBs nos diferentes tecidos.

Apenas considerando os aspectos temporais, sugere-se que quanto mais idade tenha o indivíduo, maiores concentrações de poluentes possam ser encontradas. Como a idade apresenta relação com o seu tamanho, a variação das concentrações de PCBs em relação ao comprimento total podem esclarecer sobre as diferenças notadas nas médias por classe. A Figura 5 e 6 apresentam esses cálculos.

Figura 5: Variação da concentração de PCBs totais (em ng.g⁻¹) em relação ao comprimento total na musculatura dos tubarões.

Figura 6: Variação da concentração de PCBs totais (em ng.g⁻¹) em relação ao comprimento total no fígado dos tubarões.

Os dados de PCBs na musculatura e fígado apresentados mostram boa correlação com o comprimento total dos tubarões. Strid *et al.* (2007), entretanto, não encontraram correlação entre tamanho e concentração de PCBs em musculatura e fígado de 10 tubarões *Somniosus microcephalus* do nordeste do Atlântico.

No caso da musculatura, ressalta-se que a declínio da linha de tendência até 1,20 e a partir de 3 metros foi devido exclusivamente a dois valores discrepantes encontrados, e por isso não apresenta relevância estatística, já que um n amostral maior nessas faixas de tamanho excluiria tais declínios.

A linha de tendência da variação no fígado dos *P. glauca* indica o aumento exponencial dos PCBs em relação ao comprimento total dos indivíduos, já que em geral, quanto maior o comprimento, mais idade terá o indivíduo, e por isso sofreu mais tempo de exposição aos poluentes presentes no ambiente.

Observa-se na Figura 5 a fraca correlação da variação de PCBs no fígado. Provavelmente, devido às concentrações estarem próximas ao limite de detecção, fazendo com que algumas amostras tenham tido seus valores

de congêneres de PCBs individuais excluídos, distorcendo as possíveis comparações com as detectadas.

Os tubarões, apesar da alta posição na cadeia trófica, em geral não acumulam poluentes orgânicos em altas concentrações quanto outros organismos topo de cadeia, como os golfinhos. Essas diferenças podem ser um indicativo de diferenças de metabolismo, já que a alimentação de ambos não difere tanto, por consistir basicamente de peixes e cefalópodes.

Todos os congêneres de PCBs são lipofílicos e pobremente solúveis no meio aquático. Entretanto, quanto maior o grau de cloração, maior a lipofilicidade, ou seja, há maior afinidade com gordura, fazendo com que sejam acumulados nos tecidos dos animais. Entretanto, os níveis de PCBs na biota não apresentam correlação direta com o grau de cloração, já que a acumulação também envolve outros fatores, como disponibilidade do congêneres no habitat, taxas de entrada e metabolização, taxa de degradação, entre outros.

A Figura 7 apresenta porcentagem das diferentes classes de congêneres de PCBs nos tecidos analisados.

Figura 7: Porcentagem de PCBs totais de cada classe de congênere de PCB para M- musculatura e F- Fígado de A) machos imaturos, B) machos maduros, C) fêmeas imaturas, D) fêmeas maduras.

Observando os gráficos de musculatura (MA, MB, MC e MD) da Figura 7, pode-se constatar o mesmo padrão de acumulação de PCBs para

os machos imaturos, fêmeas imaturas e fêmeas maduras. Para esses organismos, a classe predominante é a tetra-, com cerca de 40% do total, seguido pela tri-, com cerca de 25%, e as classes di- e pentaclorobifenilos, apresentando em torno de 15%. As classes hexa- e octaclorobifenilo também ocorreram, porém com porcentagens menores. Nos machos maduros, também houve predominância do tetraclorobifenilo, porém correspondendo a cerca de 30% do total de PCBs. Em contrapartida, a classe penta- seguiu a tetra-, com uma contribuição de 25%, e a hexa- foi equiparada à diclorobifenilo, com 10% do total.

A partir dos gráficos de fígado (FA, FB, FC e FD), nota-se uma padronização diferente, separando os indivíduos imaturos dos maduros. Para os tubarões imaturos, observa-se a predominância de tetraclorobifenilo, correspondendo a cerca de 30%, e o hexa- e o penta- com porcentagens equivalentes para machos e fêmeas imaturas, respectivamente. Nos indivíduos imaturos não houve a presença de hepta-, octa-, nona- e diclorobifenilos. Para os sexualmente maduros, o hexaclorobifenilo foi a classe com maior porcentagem, com cerca de 40% do total, seguida de penta- e hexaclorobifenilo, entre 15 e 20%. Com menores contribuições, encontra-se a classe tetra-, seguida da tri-, com 10 e 5%, respectivamente, e as classes di- e octaclorobifenilo com cerca de 3%. As classes nona- e decaclorobifenilo não foram detectadas em fígado de indivíduos maduros.

A Figura 8 ilustra a média de todas as amostras. Houve predominância dos congêneres tetra-, com 30% de contribuição, seguido pelas classes tri-, penta- e hexaclorobifenilos, com cerca de 18% do total cada um.

Figura 8: Média da porcentagem dos congêneres de PCBs em todas as amostras de *Prionace glauca*.

Para comparar o padrão de acumulação entre os sexos, podemos isolar os dados de sexo, tirando a média entre todas as outras variáveis, sem discriminar diferenças entre tecidos e maturidade sexual. Os dados encontram-se na Figura 9.

Figura 9: Porcentagem dos congêneres de PCBs em machos e fêmeas dos tubarões.

Analisando os dados comparativos entre machos e fêmeas, observa-se padrões semelhantes de acumulação das classes de PCBs entre eles. Há o predomínio de tetra-, com cerca de 30%, seguido pelas tri-, penta- e hexaclorobifenilo variando de 15 a 20%. A classe di- se apresentou com cerca de 10%, seguida pela hepta- e octaclorobifenilo, com 4 e 2%, respectivamente. As classes nona- e decaclorobifenilo não foram detectadas em nenhum dos sexos.

Isolando os dados de maturidade e calculando a média entre as outras variáveis de todas as amostras, é possível fazer uma comparação entre indivíduos sexualmente imaturos e maduros, como verificado na Figura 10.

Figura 10: Porcentagem dos congêneres de PCBs em *Prionace glauca* imaturos e maduros.

Nota-se padrões de acumulação diferentes para indivíduos imaturos e maduros. Para os indivíduos imaturos, os congêneres tetraclorobifenilos se destacaram, com mais de 35% de contribuição dos PCBs totais. Em seguida estão os tri- e pentaclorobifenilos com 20 e 17%, respectivamente, e os di- e hexaclorobifenilos, com 12%. Menor contribuição foi dada pelo

octaclorobifenilo, com menos de 1%, enquanto os hepta-, nona- e decaclorobifenilos não estiveram presentes.

Para os indivíduos maduros, é possível notar uma maior contribuição de congêneres mais pesados, já que os tetra-, penta- e hexaclorobifenilos foram os mais significativos, com cerca de 20% do total. Menores contribuições foram dadas pela classe de tri-, seguida de di- e heptaclorobifenilos, com 15% para a primeira e 8% para as duas últimas. Esses dados indicam a maior facilidade de eliminação dos congêneres mais leves da fase imatura para a sexualmente madura.

Provavelmente, a diferença de acumulação entre os indivíduos imaturos e maduros se dá pelo tempo de vida, diferenças na alimentação e diferenças de habitat, já que os tubarões juvenis geralmente habitam águas mais protegidas e/ou mais costeiras, em relação aos adultos, que normalmente habitam águas oceânicas (Szpilman, 2004).

Para verificar a eliminação das classes para cada sexo, foram isolados os dados de sexo, além dos de maturidade, em todas as amostras, e estão apresentados na Figura 11.

Figura 11: Porcentagem dos congêneres de PCBs em *Prionace glauca* imaturos e maduros para A) machos e B) fêmeas.

Observa-se que para machos e fêmeas, há indícios da eliminação dos congêneres mais leves, da fase imatura para a madura. Percebe-se também que apesar do aumento de congêneres mais pesados na fase madura, as fêmeas continuaram com maiores porcentagens de

tetraclorobifenilos em relação aos demais, o que não ocorreu com os machos, cuja maior parcela de PCBs é representada pelos hexaclorobifenilos.

Muito provavelmente, isso não tenha ocorrido por uma melhor eliminação de PCBs leves em machos maduros em relação às fêmeas, mas sim pelas altas concentrações de hexaclorobifenilos encontrados nos machos maduros, pela contribuição significativa dos congêneres PCB-138 e PCB-153 no fígado, em relação à menor acumulação enquanto juvenis, como serão discutidos mais a frente.

Isolando os dados de musculatura e fígado e calculando a média para as demais variáveis, torna-se possível avaliar o padrão de acumulação para os diferentes tecidos (Figura 12).

Figura 12: Porcentagem dos congêneres de PCBs para musculatura e fígado.

Observando a Figura 13, nota-se a preferência de acumulação de PCBs mais pesados no fígado, em relação à musculatura. No fígado, os hexaclorobifenilos foram responsáveis por mais de 30% dos PCBs totais, seguido pelas classes tetra- e penta clorobifenilos, com 20%. Já para a musculatura, houve predominância dos tetraclorobifenilos, com quase 40%,

seguido de tri- e pentaclorobifenilos, com 25 e 18% de contribuição, respectivamente.

As proporções são semelhantes aos *Sphyrna zygaena* da costa brasileira (Azevedo-Silva *et al.*, 2009). São diferentes, porém, em relação aos valores encontrados na musculatura por Azevedo-Silva *et al.* (2007) para tubarão-azul da costa brasileira. Este trabalho registra que a predominância de acumulação no músculo foi de penta- (36,8%), seguido de tetra- (28,2%) e hexaclorobifenilos (22,49%). Entretanto, os tubarões analisados pelos autores consistiram predominantemente de indivíduos adultos, diferentemente dos dados deste trabalho, que também incluíram os juvenis. Como pode ser verificado pela Figura 10, de fato os indivíduos adultos apresentam maior concentração dos congêneres mais pesados.

As diferenças entre a acumulação de diferentes classes de congêneres podem também estar associadas a diferenças de alimentação, local e hábitos de vida de cada espécie de tubarão, já que as concentrações variam bastante para as diferentes espécies.

Cada classe de PCBs é composta por certo número de congêneres, que raramente se apresentam com proporções igualitárias dentro da mesma classe. Portanto, é válido analisar a proporção de cada congênere isoladamente, no total de PCBs das amostras.

As Figuras 13 e 14 ilustram a porcentagem de cada congênere de PCB analisado em musculatura e fígado dos *Prionace glauca* deste estudo.

Figura 13: Porcentagem dos congêneres de PCBs na musculatura dos tubarões.

Figura 14: Porcentagem dos congêneres de PCBs no fígado dos tubarões.

[illegible]

α -Clordana	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ -Clordana	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Oxiclordana	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mirex	n.d.	0,52	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Heptacloro	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Heptacloro										
Epóxido A	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Heptacloro										
Epóxido B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Endosulfan I	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Endosulfan II	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
α -HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
β -HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ -HCH	0,64	n.d.	0,55	0,47	0,38	0,57	0,62	0,83	0,48	0,77
δ -HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,27	n.d.	1,43
2,4'-DDT	n.d.	n.d.	0,28	0,43	0,29	n.d.	0,34	n.d.	0,29	n.d.
4,4'-DDT	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2,4'-DDE	n.d.	n.d.	n.d.	0,34	n.d.	n.d.	n.d.	0,31	n.d.	n.d.
4,4'-DDE	n.d.	0,90	n.d.	0,33	n.d.	n.d.	0,36	0,33	n.d.	0,41
2,4'-DDD	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4,4'-DDD	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: abaixo do limite de detecção

Tabela XX: Concentrações (em ng.g⁻¹ peso úmido) de pesticidas organoclorados na musculatura de *Prionace glauca* (cont.).

COMPOSTO	PG11	PG12	PG13	PG14	PG15	PG16	PG17	PG18	PG19	PG20
HCB	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Aldrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Endrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Dieldrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isodrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
α -Clordana	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ -Clordana	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Oxiclordana	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mirex	0,32	0,45	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,26	n.d.
Heptacloro	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Heptacloro										
Epóxido A	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Heptacloro										
Epóxido B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Endosulfan I	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Endosulfan II	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
α -HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
β -HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ -HCH	0,53	n.d.	0,59	0,53	0,53	0,70	0,36	0,52	0,52	0,57
δ -HCH	0,30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2,4'-DDT	n.d.	n.d.	0,30	0,38	0,48	n.d.	n.d.	0,39	0,30	n.d.
4,4'-DDT	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2,4'-DDE	n.d.	n.d.	0,33	0,33	0,27	0,30	n.d.	n.d.	n.d.	0,33
4,4'-DDE	0,96	4,14	0,44	n.d.	n.d.	0,37	n.d.	0,35	1,78	n.d.
2,4'-DDD	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4,4'-DDD	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: abaixo do limite de detecção

Tabela XXI: Concentrações (em ng.g⁻¹ peso úmido) de pesticidas organoclorados no fígado de *Prionace glauca*.

COMPOSTO	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	PG7	PG8	PG9	PG10
HCB	n.d.	n.d.	10,48	7,36	n.d.	n.d.	7,65	7,23	7,98	10,68
Aldrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Endrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Dieldrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isodrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
α-Clordana	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ-Clordana	n.d.	n.d.	n.d.	4,28	n.d.	n.d.	n.d.	7,32	n.d.	n.d.
Oxiclordana	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mirex	9,96	12,32	9,40	26,44	n.d.	14,00	13,92	24,20	16,76	24,72
Heptacloro	5,48	7,96	12,20	4,28	9,40	7,40	5,68	16,24	n.d.	15,00
Heptacloro										
Epóxido A	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Heptacloro										
Epóxido B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5,16
Endosulfan I	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Endosulfan II	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
α-HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
β-HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ-HCH	5,80	8,36	5,44	5,48	6,24	n.d.	4,52	11,88	4,32	9,56
δ-HCH	4,28	4,36	6,84	3,73	4,56	4,08	4,12	12,52	3,93	5,40
2,4'-DDT	7,32	n.d.	12,68	8,16	4,88	n.d.	9,52	n.d.	9,44	n.d.
4,4'-DDT	n.d.	n.d.	10,48	7,36	n.d.	n.d.	7,88	8,72	4,60	10,68
2,4'-DDE	n.d.	n.d.	4,00	6,60	n.d.	n.d.	n.d.	4,96	n.d.	4,84
4,4'-DDE	17,08	25,60	21,64	41,56	n.d.	24,76	30,12	38,60	17,04	72,52
2,4'-DDD	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4,4'-DDD	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	9,08	n.d.	13,64

n.d.: abaixo do limite de detecção

Tabela XXII: Concentrações (em ng.g⁻¹ peso úmido) de pesticidas organoclorados no fígado de *Prionace glauca* (cont.).

[illegible]

Endosulfan II	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
α -HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
β -HCH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ -HCH	9,00	5,20	4,48	6,44	5,40	8,88	4,16	5,60	6,12	7,72
δ -HCH	5,52	9,52	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6,36	n.d.
2,4'-DDT	16,08	16,36	8,08	9,28	9,92	6,72	11,52	9,68	n.d.	4,56
4,4'-DDT	35,28	7,24	6,28	6,80	6,68	n.d.	4,04	n.d.	13,72	5,00
2,4'-DDE	7,28	n.d.	n.d.	4,44	4,20	5,12	4,16	4,00	n.d.	4,44
4,4'-DDE	340,84	509,40	25,08	32,28	27,00	19,80	21,00	35,76	39,39	24,88
2,4'-DDD	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4,4'-DDD	25,40	15,00	n.d.	n.d.	n.d.	4,60	n.d.	n.d.	16,32	4,44

n.d.: abaixo do limite de detecção

Apenas 20% dos valores estiveram acima do limite de detecção do método. Dentre todos os pesticidas, foram significativos os níveis de HCB, mirex, heptacloro, γ -HCH, δ -HCH, 2,4'-DDT, 4,4'-DDE e 4,4'-DDD. Cada uma das classes de pesticidas organoclorados estão discutidas nos tópicos a seguir.

5.2.1. Ciclodienos

O mirex foi o único ciclodieno que apresentou valores acima do limite de detecção na musculatura dos tubarões. No fígado, foram detectados, além do mirex, o α -clordana, γ -clordana, heptacloro e heptacloro epóxido B.

Os ciclodienos α -clordana e γ -clordana apenas foram detectados em três amostras de fígado, com valores variando de $<1,08$ a $18,68 \text{ ng.g}^{-1}$, e $<1,52$ a $7,52 \text{ ng.g}^{-1}$ de peso úmido, respectivamente (Figura 15).

Figura 15: Variação dos níveis de α -clordana e γ -clordana (em ng.g^{-1} peso úmido) em relação ao comprimento total no fígado de *Prionace glauca*.

Na musculatura, o mirex foi detectado em apenas quatro amostras, com valores variando de $<0,14$ a $0,52 \text{ ng.g}^{-1}$ de peso úmido. No fígado, esteve presente em 95% das amostras, com valores variando de $<2,72$ a $41,33 \text{ ng.g}^{-1}$ de peso úmido. As menores concentrações dos tubarões deste estudo são comparáveis com os níveis de mirex encontrados em *Sphyrna tiburo* da costa dos Estados Unidos (Gelsleichter *et al.*, 2008), que apresentaram média de $2,91$ a $9,75 \text{ ng.g}^{-1}$ de peso úmido em fígado.

As médias das concentrações do mirex encontram-se na Figura 16.

Figura 16: Concentração de mirex (em ng.g^{-1} peso úmido) no fígado de cada classe de *Prionace glauca*.

Para as diferentes classes de tubarões, o mirex apresentou valores aproximadamente semelhantes. Foi observada, entretanto, uma ligeira elevação nas concentrações dos indivíduos imaturos para os maduros, indicando uma possível acumulação da fase juvenil para a fase adulta.

Em relação ao comprimento, os valores estão apresentados na Figura 17.

Figura 17: Variação dos níveis de mirex (em ng.g⁻¹ peso úmido) em relação ao comprimento total no fígado de *Prionace glauca*.

Os valores no fígado apresentaram uma significativa variação em relação ao comprimento, indicando a acumulação do mirex ao longo dos anos de vida do animal.

O heptacloro e os heptacloros epóxido A e B não foram detectados em nenhuma amostra de musculatura de tubarão-azul. Cornish *et al.* (2007) observaram em seu trabalho a redução da concentração de heptacloro no músculo com o aumento do comprimento total dos *C. plagiosum*, o que não pode ser avaliado para os dados deste trabalho, já que não foram detectados. Schlenk *et al.* (2005) não encontrou correlação entre as concentrações de heptacloro no fígado com o tamanho dos *C. carcharias* analisados.

No fígado, o heptacloro epóxido A não foi detectado, e os heptacloro e heptacloro epóxido B ocorreram em 70 e 10% das amostras, respectivamente. As médias de concentrações de heptacloro em fígado encontram-se na Figura 18.

Figura 18: Concentração de heptacloro (em ng.g⁻¹ peso úmido) no fígado de cada classe de *Prionace glauca*.

Novamente não foi possível notar um padrão definido de distribuição para os níveis encontrados. Sugere-se que isso tenha ocorrido devido às baixas concentrações encontradas de heptacloro, ou pela não-correlação de dados de organoclorados em tubarões, como também observado para Schlenk *et al.* (*op. cit.*).

Os valores de heptacloro variaram de <2,76 a 18,4 ng.g⁻¹, e os valores relacionados com o comprimento total dos tubarões e linha de tendência encontram-se na Figura 19.

Figura 19: Variação dos níveis de heptacloro, heptacloro hepóxido A e B (em ng.g⁻¹ peso úmido) em relação ao comprimento total, com linha de tendência para o heptacloro, no fígado de *Prionace glauca*.

O heptacloro não apresentou valores correlacionados com o comprimento total dos tubarões, como pode ser notado pela linha de tendência com R^2 baixo. Para os heptacloro epóxido A e B, não foi possível estabelecer uma tendência, pela carência de valores acima do limite de detecção nas amostras.

Como os tubarões geralmente vivem em mar aberto, as concentrações presentes no seu organismo podem ser provenientes da acumulação ao longo do tempo em seu próprio habitat, já que esses compostos podem ser transportados por longas distâncias pelo transporte atmosférico. Parte dos níveis pode estar presente pela acumulação em áreas mais costeiras, onde os tubarões ocorrem durante o período reprodutivo e enquanto juvenis (Szpilman, 2004).

5.2.2. Diclorodifeniletanos

Os diclorodifeniletanos são compostos muito estudados no mundo todo e em diversos tipos de amostras ambientais, dada sua persistência no meio ambiente.

Os DDTs*¹ totais apresentaram concentrações variando de 0,43 a 1,19 ng.g⁻¹ na musculatura, com média de 0,83 ng.g⁻¹, e de 32,02 a 202,42 ng.g⁻¹ de peso úmido no fígado, com média de 82,98 ng.g⁻¹. Os DDTs* encontrados para o tubarão-azul por Azevedo-Silva (2007) são semelhantes aos encontrados neste trabalho, com média de 0,93 ng.g⁻¹, e dados variando de 0,4 a 2,1 ng.g⁻¹. Entretanto, maiores médias foram registradas em músculo de *Triakis semifasciata* de São Francisco (Davis *et al.*, 2002), com 5,3 ng.g⁻¹ de média, *Carcharodon carcharias* da África do Sul (Schlenk *et al.*, 2005), com média de 12,7 ng.g⁻¹, *C. plagiosum* de Hong Kong, com dados variando de 0,60 a 23,55 ng.g⁻¹ (Cornish *et al.*, 2007) e *Centrophorus granulosus* e *Squalus blainvillei* do Mar Mediterrâneo, com variação de 49,3 a 16,8 ng.g⁻¹, respectivamente (Storelli & Marcotrigiano, 2001). Em fígado, valores uma a duas ordens de grandeza maiores foram encontrados em *C. carcharias*, com variação de 600,70 a 2626,20 ng.g⁻¹ (Schlenk, *op. cit.*).

Na musculatura dos tubarões, o 4,4'-DDT e todos os isômeros de DDD apresentaram valores abaixo do limite de detecção. Os demais metabólitos de DDTs (2,4'-DDT, 2,4'-DDE e 4,4'-DDE) foram detectados em aproximadamente 50% das amostras. No fígado, apenas o 2,4'-DDD não foi detectado, e os demais metabólitos e isômeros foram detectados em cerca de 80% das amostras.

Os valores médios dos DDTs e seus metabólitos nas diferentes classes de tubarões encontram-se na Figura 20.

Figura 20: Concentrações de DDTs, DDEs e DDDs (em ng.g⁻¹ peso úmido) em A) musculatura e B) fígado das diferentes classes de tubarões.

¹ DDTs* = 2,4'-DDT + 4,4'-DDT + 2,4'-DDE + 4,4'-DDE + 2,4'-DDD + 4,4'-DDD.

Para os DDTs do fígado e os DDEs da musculatura e fígado dos tubarões, os valores encontrados nas amostras seguem aproximadamente o padrão observado para PCBs, na qual os machos e fêmeas imaturos apresentam níveis comparáveis, os machos maduros valores relativamente mais elevados e fêmeas maduras com valores sensivelmente menores que os machos maduros. Esse padrão denotava a acumulação dos poluentes ao longo da vida do animal e a possível perda de compostos para os filhotes no período gestacional das fêmeas. Os demais compostos não denotaram tal padrão de distribuição.

A concentração de DDEs totais no fígado dos machos maduros (0,17 ppm) foi mais de três vezes superior ao nível de proteção ao predador marinho proposto pela NAS, que é de 0,05 ppm (Mearns *et al.*, 1988).

Os gráficos da Figura 21 ilustram a variação das concentrações de cada metabólito e isômero de DDT em cada tecido em relação ao comprimento total dos tubarões.

Figura 21: Variação dos níveis de DDTs, DDEs e DDDs em relação ao comprimento total na musculatura (esq.) e em fígado (dir.) de *Prionace glauca*. (Linhas de tendência contínuas: Musculatura: 2,4'-DDT e 4,4'-DDE; Fígado: 4,4'-DDT, 4,4'-DDE e 4,4'-DDD – Linha de tendência tracejada: 2,4'-DDT).

Nota-se na Figura 21 a boa correlação dos DDTs e seus diferentes metabólitos em relação ao comprimento total. Destaca-se o fato dos compostos 4,4'-DDT e 4,4'-DDD acumularem-se mais eficientemente no fígado do que na musculatura.

Os isômeros 4,4'-DDE no músculo e 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, 4,4'-DDE e 4,4'-DDD no fígado apresentaram um aumento de concentrações em relação ao comprimento, indicando uma possível bioacumulação deles nos

tecidos do tubarão azul. A capacidade de bioacumulação de cada composto é relacionada a algumas propriedades físico-químicas e biológicas próprias, como lipoficidade, estabilidade e metabolismo, dieta e habitat dos organismos (Serrano *et al.*, 2000).

No caso dos DDEs, comparando os gráficos para os dois tipos de tecidos, ressalta-se a maior proporção do 4,4'-DDE em relação ao 2,4'-DDE no fígado, em relação à musculatura. Isso pode ser um indicativo da maior persistência relativa do 4,4'-DDE no fígado em relação à musculatura e/ou da maior facilidade de eliminação deste composto, relativamente ao 2,4'-DDE. Não há dados publicados sobre essa diferença de padrão do 2,4'-DDE e 4,4'-DDE em fígado e musculatura, dificultando a comparação.

Tal como nos dados apresentados neste trabalho, na musculatura dos *C. plagiosum* de Hong Kong (Cornish *et al.*, 2007), *Prionace glauca* e *Dalatias licha* (Storelli *et al.*, 2005), *C. granulatus*, *S. blainvillei* do Mar Mediterrâneo (Storelli & Marcotrigiano, 2001) e *C. carcharias* da África do Sul (Schlenk *et al.*, 2005), também foram registrados maiores valores de 4,4'-em relação ao 2,4'-DDE.

O 4,4'-DDD no fígado apresentou grande aumento de concentração com relativo pouco aumento do comprimento total, apresentando considerável correlação. De fato, o 4,4'-DDD possui baixo K_{ow} (6,02), em relação aos outros isômeros e metabólitos (6,51 a 6,79), com exceção do 4,4'-DDE (6,00), o que indica uma maior tendência de se acumular em matrizes gordurosas (Swann *et al.*, 1981; Howard & Meylan, 1997). Porém, para avaliar melhor o rápido aumento desse isômero em relação ao comprimento total, são necessários estudos com um maior n amostral.

As Figuras 22 e 23 apresentam as proporções entre os isômeros de DDTs, DDEs e DDDs dos tecidos.

Figura 22: Contribuição de cada metabólito de DDT, DDE e DDD em relação aos DDTs* em musculatura dos tubarões.

Figura 23: Contribuição de cada metabólito de DDT, DDE e DDD em relação aos DDTs* no fígado dos tubarões.

Na musculatura dos *P. glauca*, nota-se a predominância do 4,4'-DDE e do 2,4'-DDT na maior parte das amostras em que os diclorodifeniletanos foram detectados. Em terceiro lugar foi detectado o 2,4'-DDE.

Para o fígado, a proporção entre eles é diferente em relação à musculatura. Nesta, com exceção da amostra PG5, todas as demais apresentaram o 4,4'-DDE como o composto predominante, indicando a preferência de acumulação dele em relação aos demais. Além dos compostos detectados na musculatura, também estiveram presentes o 4,4'-DDT e o 4,4'-DDD, em torno de 10 a 15% de contribuição do total, quando detectados.

A razão do 4,4'-DDE pelos DDTs* é geralmente utilizada como indicador de recentes introduções de DDT no meio ambiente. Aguilar (1985) sugere, para mamíferos marinhos, que uma razão maior que 0,6 implica que o sistema é relativamente estável e com ausência de novas introduções. Assim como em outros trabalhos com tubarões (Cornish *et al.*, 2007, Storelli *et al.*, 2005, Storelli & Marcotrigiano, 2001), essa relação foi aplicada para os dados deste trabalho para possivelmente avaliar se houveram introduções recentes.

Para a musculatura, esse cálculo pode implicar em erro, pois como os dados são próximos ao limite de detecção, alguns deles que não foram detectados entrariam no cálculo, atribuindo um valor nulo para alguns metabólitos.

A aplicação da razão proposta por Aguilar (*op. cit.*) para fígados dos tubarões deste estudo é apresentada na Figura 24.

Figura 24: Razão entre DDEs e DDTs* em cada amostra de fígado de tubarão-azul.

A partir da Figura acima, nota-se que as amostras PG3, PG5, PG9 e PG19 apresentam a razão abaixo de 0,6. Porém, com exceção da PG5, que apresentou concentração de DDE abaixo do limite de detecção, as outras três apresentaram valores próximos a 0,6. Sugere-se, portanto, que os tubarões *Prionace glauca* do estudo não estiveram significativamente expostos a DDTs recentes no meio ambiente.

5.2.3. Benzeno clorados

Os HCBs podem estar presentes em águas oceânicas a partir da destilação global, na qual os poluentes são transportados para longas distâncias de suas fontes. Nos *Prionace glauca* da costa sul brasileira, os HCBs estiveram presentes em um terço das amostras de fígado, porém em nenhuma amostra de musculatura. As concentrações dos HCBs encontrados variaram de $<3,48$ a $25,36 \text{ ng.g}^{-1}$, e as médias encontram-se na Figura 25.

Figura 25: Concentração de HCBs (em ng.g^{-1} peso úmido) no fígado de cada classe de tubarões.

Para os HCBs, as concentrações nos machos maduros estiveram sensivelmente acima das fêmeas maduras, de modo similar aos PCBs. Para os imaturos, o HCB esteve abaixo do limite de detecção do método.

A Figura 26 apresenta a variação de concentrações de HCB em relação ao comprimento total.

Figura 26: Variação dos níveis de HCBs (em ng.g⁻¹ peso úmido) em relação ao comprimento total em fígado de *Prionace glauca*.

Pelo gráfico da Figura 26, nota-se a baixa correlação entre as concentrações de HCBs em relação ao comprimento total, como já foi observado para alguns pesticidas organoclorados deste trabalho.

5.2.4. Ciclohexanos

Em nenhuma amostra analisada foram encontrados resíduos de α -HCH e β -HCH. Nos dois tecidos, porém, o γ -HCH e o δ -HCH apresentaram níveis detectáveis. Os valores totais de HCHs (α -HCH + β -HCH + γ -HCH + δ -HCH) variaram de <n.d. a 2,19 ng.g⁻¹ na musculatura, com média de 0,61 ng.g⁻¹, e 4,08 a 24,4 ng.g⁻¹ no fígado, com média de 9,99 ng.g⁻¹. Inversamente aos dados verificados para PCBs e DDTs, as concentrações de *C. plagiosum* de Hong Kong apresentaram valores de HCHs totais uma ordem de grandeza menores, com variação de 0,009 a 0,063 ng.g⁻¹ (Cornish *et al.*, 2007).

Na musculatura, o γ -HCH foi detectado em 90% das amostras, com níveis variando de $<0,20$ a $0,82 \text{ ng.g}^{-1}$, e o δ -HCH em 15% delas, com concentrações entre $<0,11$ a $1,43 \text{ ng.g}^{-1}$.

Ressalta-se que os altos níveis de δ -HCH, em relação ao γ -HCH, fato incomum em amostras ambientais. Para os tubarões, entretanto, Cornish *et al.*, (*op. cit.*) também encontrou consideráveis concentrações relativas do delta- em relação ao gama-HCH na musculatura, encontrando médias de $0,0061$ e $0,0048 \text{ ng.g}^{-1}$ de peso úmido, respectivamente.

Nas amostras de fígado, o γ -HCH e o δ -HCH foram detectados em 95 e 65% das amostras, com concentrações variando de $<4,00$ a $11,88 \text{ ng.g}^{-1}$ e $<2,28$ a $12,52 \text{ ng.g}^{-1}$ de peso úmido (Figura 27).

Figura 27: Concentração (em ng.g^{-1} peso úmido) dos isômeros de HCH em A) musculatura e B) fígado do tubarão-azul.

Os dados apresentados na Figura 27 denotam a baixa variação das concentrações dos HCHs nas diferentes classes de tubarões. Isso ressalta a diferença no comportamento dos ciclohexanos no organismo dos tubarões *P. glauca*, em relação aos PCBs, por exemplo.

Pandit *et al.* (2001) sugerem que, como os HCHs se volatilizam e degradam rapidamente em ambientes tropicais, baixos valores podem ser encontrados em peixes dessa região, como é o caso dos tubarões deste estudo. Outras circunstâncias também podem ter ocorrido, como a limitada introdução desses pesticidas no ambiente ou eficiência da metabolização pelos tubarões.

As Figuras 28 e 29 ilustram a variação de concentração dos HCHs gama e delta em relação ao comprimento total.

Figura 28: Variação dos níveis de γ -HCH e δ -HCH (em ng.g^{-1} peso úmido) em relação ao comprimento total na musculatura de *Prionace glauca*.

Figura 29: Variação dos níveis de γ -HCH e δ -HCH (em ng.g^{-1} peso úmido) e linhas de tendência (contínua: γ -HCH; tracejada: δ -HCH) em relação ao comprimento total em fígado de *Prionace glauca*.

Nos dados de musculatura e fígado, é possível notar a pouca variação dos HCHs delta e gama em relação ao comprimento total dos tubarões, ilustrando que a concentração de HCHs mantém um nível constante nos tubarões ao longo da vida.

Isso pode ser um indicativo da baixa bioconcentração desse tipo de pesticida organoclorado, na qual as taxas de absorção e eliminação e/ou metabolização do composto permanecem constantes. E por não apresentarem diferenças significativas sequer entre as fêmeas maduras e as demais classes, possivelmente o HCH pode não ser transferido de maneira eficaz da fêmea para sua cria.

O HCH técnico, como era comercializado, é uma mistura de cinco isômeros conhecidos: alfa, beta, gama, delta e épsilon (Mariconi, 1983). A composição centesimal se dá por 65-70% do isômero alfa, 7-10% para o beta, 14-15% para o isômero gama, 7% para o delta e 1-2% para impurezas e subprodutos (Oliveira *et al.*, 1995). A toxicidade do HCH técnico, porém, provém do isômero gama, e é o único isômero que possui considerável poder inseticida (Mariconi, *op. cit.*).

Para os tubarões deste trabalho, as proporções de cada isômero em relação ao total de HCHs são ilustradas nas Figuras 30 e 31.

Figura 30: Proporção de cada isômero de HCH em relação ao total na musculatura.

Figura 31: Proporção de cada isômero de HCH em relação ao total no fígado.

Na musculatura, apenas três das amostras com HCHs detectáveis indicaram a presença do δ -HCH, sendo que as demais apresentaram exclusivamente o γ -HCHs. Essa exclusividade do gama-HCH na amostra foi observada em sete amostras de fígado. Em geral, todas as demais amostras apresentaram concentrações aproximadamente equivalentes de δ -HCH e γ -HCHs.

5.3. PBDES

Todas as amostras apresentaram concentrações de PBDEs abaixo do limite de detecção.

6. CONCLUSÕES

A ocorrência de diversos tipos de poluentes organoclorados foi observada nos tubarões *Prionace glauca* da costa sul brasileira. Para os organobromados, não houve ocorrência determinável nas amostras.

Apesar da alta posição na cadeia trófica, a concentração dos poluentes nos tecidos dos tubarões são expressivamente mais baixas em relação às concentrações registradas para outros organismos topo de cadeia, como os mamíferos aquáticos.

As grandes diferenças entre as concentrações encontradas neste trabalho com outros trabalhos publicados para tubarões em diversas partes do mundo demonstram a influência das diferenças de metabolismo, dieta, comportamentais e habitat dos elasmobrânquios no nível de contaminação dos seus organismos.

Considerando todos os grupos de organoclorados pesquisados, os PCBs foram os compostos predominantes, seguidos pelos diclorodifeniletanos, ciclodienos, benzeno clorados e ciclohexanos.

As concentrações encontradas no fígado apresentaram-se com 1-2 ordens de grandeza mais elevadas que as encontradas na musculatura, indicando a preferência de acumulação dos poluentes organoclorados no fígado, em relação à musculatura.

A maior parte dos compostos apresentou um padrão de distribuição específico, com as concentrações similares nos machos e fêmeas imaturos. Para a fase sexualmente madura, os machos apresentaram um acréscimo significativo dos seus níveis, enquanto as fêmeas mostraram níveis sensivelmente mais baixos, o que indicou a possível transferência de poluentes organoclorados para os seus filhotes.

Em geral, observou-se um acréscimo na concentração dos compostos em relação ao comprimento total, indicando uma possível acumulação de poluentes nos seus tecidos com a idade .

A ocorrência de PCBs e pesticidas organoclorados em tubarões com habitat predominantemente oceânico indicam a ampla distribuição global desses poluentes pelo meio ambiente.

7. BIBLIOGRAFIA

- ABESSA, D.M.S. 2002. Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema estuarino de Santos, SP, Brasil. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 290 p.
- AFGHAN, B.K. & CHAU, A.S.Y. 1989. Analysis of trace organics in the aquatic environment. Florida: CRC Press. 320 p.
- AGUILAR, A. 1984. Relationship of DDE/ Σ DDT in marine mammals to the chronology of DDT input into the ecosystem. Can J Fish Aquat Sci 41:840-4.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 1989. Decision guide for identifying substance specific data needs related to toxicological profiles. Federal Register, 54:174.
- _____. 1993. Toxicological profile for selected PCBs. TP 92/16.
- _____. 1995. ToxFAQs Chlordane. TFacts 31.
- _____. 1996 ToxFAQs for Mirex and Chlordecone. TFacts 66.
- _____. 2002. Toxicological profile for Aldrin/Dieldrin. TP 1.
- _____. 2007. Toxicological profile for Heptachlor and Heptachlor Epoxide. TP 12.
- AZEVEDO-SILVA, C. E.; AZEREDO, A.; LAILSON-BRITO, J.; TORRES, J. P. M. T.; MALM, O. 2007. Polychlorinated biphenyls and DDT in swordfish (*Xiphias gladius*) and blue shark (*Prionace glauca*) from the Brazilian coast. Chemosphere, 67: S48-S53.
- _____; AZEREDO, A.; DIAS, A. C. L.; COSTA, P.; LAILSON-BRITO, J.; MALM, O.; GUIMARÃES, J. R. D.; TORRES, J. M. 2009. Organochlorine compounds in sharks from the Brazilian coast. Marine Pollution Bulletin, 58: 294:298.
- BAIRD, C. 2002. Química Ambiental. 2ª ed. Bookman. Porto Alegre.
- BALLANTYNE, J.S. 1997. Jaws: the inside story. The metabolism of elasmobranch fishes. Comparative Biochemistry and Physiology 118, 703–742.

- BALLSCHMITER, K. & ZELL, M. 1980. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 302: 20-31.
- BARCELÓ, D. 1995. *Environmental Analysis: Techniques, Applications and Quality Assurance*. Elsevier Science Publishers, Netherlands. p.113
- BORJA, J., TALEON, D. M., AURESENIA, J., GALLARDO, S. 2005. Review: Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40:1999-2013.
- BRAGIGAND, V.; AMIARD-TRIQUET, C.; PARLIER, E.; BOURY, P.; MARCHAND, P.; HOURCH, M. E. 2006. Influence of biological and ecological factors on the bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers in aquatic food webs from French estuaries. *Science of the Total Environment*, 368:615-626.
- BRASIL. 1997. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Departamento Técnico-Normativo. Divisão de Meio Ambiente e Ecologia Humana. Organização Pan-Americana de Saúde: Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. Brasília.
- BROMINE SCIENCE AND ENVIRONMENTAL FORUM (BSEF). 2000. An introduction to Brominated Flame Retardants. Belgium, 28pp.
- BURREAU, S.; BROMAN, D.; ZEBÜHR, Y. 1999. Biomagnification quantification of PBDEs in fish using stable nitrogen isotopes. *Organohalog. Compd.*, 40:363-6.
- CETESB. 2001. Sistema estuarino de Santos e São Vicente. Programa de controle de poluição. São Paulo, 141p.
- CIPRO, C. V. Z. 2007. Ocorrência de compostos organoclorados em *Euphasia superba* e em ovos gorados de pingüins do gênero *Pugoscelis*. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 116p+Anexos.
- COLBURN, T., DUMANOSKI, D., MEYERS, J. P. 1996. *Our Stolen Future*. Penguin Books, New York, US.
- COMPAGNO, L.J.V. 1984 *FAO species catalogue*. Vol. 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 2 - Carcharhiniformes. *FAO Fish. Synop.* 125(4/2):251-655.

- COMPAGNO, L.J.V., 1998. Lamnidae. Mackerel sharks, makos, white sharks, porbeagles. p. 1274-1278. In: K.E. Carpenter and V.H. Niem (eds.) FAO identification guide for fishery purposes. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific. FAO, Rome.
- CORNISH, A. S.; NG, W. C.; HO, V. C. M.; WONG, H. L.; LAM, J. C. W.; LAM, P. K. S.; LEUNG, K. M. Y. 2007. Trace metals and organochlorines in the bamboo shark *Chiloscyllium plagiosum* from the southern waters of Hong Kong, China. Science of the Total Environment, 376: 335-345.
- COSD (City of San Diego). 1998. Annual Receiving Waters Monitoring Report for the Point Loma Ocean Outfall, 1997. City of San Diego Ocean Monitoring Program, Metropolitan Wastewater Department, Environmental Monitoring and Technical Services Division. San Diego, CA.
- D'AMATO, C. D., TORRES, J. P. M., MALM, O. 2002. DDT (Dicloro difenil tricloroetano): Toxicidade e contaminação ambiental – uma revisão. Quím. Nova, Vol. 25, No. 6, 995-1002, 2002.
- DARNERUD, P. O.; GUNNAR, E. S.; JÓHANNESSEN, T.; LARSEN, P. B.; VILUKSELA, M. 2001. Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure and toxicology. Environ. Health Perspect. 109 (suppl.1): 49-68.
- DAVIS, J. A., MAY, M. D., GREENFIELD, B. K., FAIREY, R., ROBERTS, C., ICHIKAWA, G., STOELTING, M. S., BECKER, J. S., TJEERDEMA, R. S. 2002. Contaminant concentrations in sport fish from San Francisco Bay. Marine Pollution Bulletin, 44: 1117-1129.
- DE BOER, J.; DE BOER, K.; BOON, J. P. 2000. Polybrominated biphenyls and diphenylethers. In: Paasivirta, J. ed. The handbook of environmental chemistry, 3, Part. K. Berlin, Germany: Springer-Verlag, p.62-95.
- DE WIT, C. 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment. Chemosphere, 46:583-624.
- FILHO, A. C. Peixes: Costa brasileira. 3 ed. Ed. Melro, SP, 1999.
- GADIG, O. B. F.; MOTTA, F. S.; NAMORA, R. C. 2002. Projeto Cação: a study on small coastal sharks in São Paulo, Southeast Brazil. In: Proceedings of the International Conference on Sustainable

- Management of Coastal Ecosystem, pp. 239-246. Ed. By P. Duarte. Universidade Fernando Pessoa, Porto, 260pp.
- GELSLEICHTER, J.; SZABO, N. J.; BELCHER, C. N.; ULRICH, G. F. 2008. Organochlorine contaminants in bonnethead sharks (*Sphyrna tiburo*) from Atlantic and Gulf estuaries on the US east coast. Marine Pollution Bulletin, 56: 348-379.
- GUSTAFSSON, K.; BJÖRK, M.; BURREAU, S.; GILEK, M. 1999. Bioaccumulation kinetics of brominated flame retardants (polybrominated diphenyl ethers) in blue mussels (*Mytilus edulis*). Environ. Toxicol. Chem., 18:1218-1224.
- HARNER, T.; SHOEIB, M. 2002. Measurements of octanol-air partition coefficients (KOA) for polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): predicting partitioning in the environment. J. Chem. Eng. Data, 47: 228-232.
- HOOPER, K.; MC DONALD, T. A. 2000. The PBDEs: an emerging environmental challenge and another reason for breast-milk monitoring programs. Environ. Health Perspect., 108:387-392.
- HOWARD, P. H., MEYLAN, W. M. 1997. Prediction of physical properties, transport and degradation for environmental fate and exposure assessments. In: Chen, F., Schuurmann, G. (eds.) Quantitative Structure-Activity
- HUTZINGER, O.; SAFE, S. & ZITKO, V. 1974. The chemistry of PCBs., CRC Press, Cleveland, OH.
- ICCAT (International Commission for the Conservation of Atlantic tunas). 2006. Field Manual: Chapter 2.2.1.1: Blue Shark. Disponível on-line em: <<http://www.iccat.int/en/ICCATManual.htm>>. Acesso em: 13 dez. 2008.
- IKONOMOU, M. G.; RAYNE, S.; ADDISON, R. F. 2002. Exponential Increases of the Brominated Flame Retardants, Polybrominated Diphenyl Ethers, in the Canadian Arctic from 1981 to 2000. Environ. Sci. Technol., 36(9):1886-1892.
- _____; FERNADEZ, M. P.; HICKMAN, Z. L. 2006. Spatio-temporal and species-specific variation in PBDE levels/patterns in British Columbia's coastal waters. Environmental Pollution, 140:355-363.
- JENSEN, S. 1972. The PCB story. Ambio 1(4):123-131.

- KEMI (The Swedish National Chemical Inspectorate). 1999. Phase-out of PBDEs and PBBs – Report on a Governmental Commission. Report No. 2/99. Disponível em: <<http://www.kemi.se>>. Acesso em: 29 abr. 2008.
- LARA, W.H. 1976. Bifenilas policloradas. Sua história e seus problemas. Resumos do I Congresso de Toxicologia Tropical, Manaus, 11 a 14 de abril de 1976, 181-185.
- LARA, W. H.; BATISTA, G.C. 1992. Pesticidas. Química Nova, v. 15, n. 2, p. 161-166.
- LAST, P.R. AND J.D. STEVENS, 1994. Sharks and rays of Australia. CSIRO, Australia. 513 p. ;
- LAW, R. J.; ALAEE, M.; ALLCHIN, C.R.; BOON, J. P.; LEBEUF, M.; LEPOM, P.; *et al.* 2003. Levels and trends of polybrominated diphenylethers and other brominated flame retardants in wildlife. Environ. Int., 29:757-770.
- MAGALHÃES, C.A. 2005. PCBs e Pesticidas Organoclorados em tecidos de peixes da Baixada Santista, São Paulo. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 71p.
- MARICONI, F.A.M. 1973. Inseticidas e seu emprego no combate às pragas. 7.ed. São Paulo : Nobel, 1983. Tomo II, 466p.
- MATOS, M.A.C. 2002. Resíduos de pesticidas organoclorados e bifenilos policlorados em sedimentos e algas de Santos e Cananéia, SP, Brasil. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 200 p.
- MCDONALD, T. A. 2002. A perspective on the potential health risks of PBDE. Chemosphere, 46:745-455.
- MENNI, R.C. & LUCIFORA, L. O. 2007 Condricios de la Argentina y Uruguay. ProBiota, FCNyM, UNLP, Serie Técnica-Didáctica, La Plata, Argentina, 11: 1-15.
- MMA. 1996. Os ecossistemas brasileiros e os principais macrovetores de desenvolvimento. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Secretaria de Coordenação dos Assuntos do Meio Ambiente, Programa Nacional do Meio Ambiente, Brasília.
- MONTONE, R.C. 1995. Determinação de bifenilos policlorados (PCBs) no ambiente antártico marinho. Tese de Doutorado. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 98 p.

- MOTTA, F. S.; NAMORA, R. C.; GADIG, O. B. F.; BRAGA, F. M. S. 2007. Reproductive biology of the Brazilian sharpnose shark (*Rhizoprionodon lalandii*) from southeastern Brazil. – ICES Journal of Marine Science, 64:1829-1835.
- MOURATO, B. L. 2007. Padronização da captura por unidade de esforço de espadarte, *Xiphias gladius* (L., 1758) e de tubarão-azul, *Prionace glauca* (L., 1758) capturados pela frota atuneira brasileira no Oceano Atlântico. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesca, São Paulo, 97p.
- NAS. 1980. The International Mussel Watch. Washington, DC: National Academy of Sciences.
- NISBET, I.C.T. & SAROFIM, A.F. 1972. Rates and routes of transport of PCB's in the environment, Environ. Health Persp., 1: 21.
- NOWAK, B. 1991. Experimental investigation of endosulfan residues in tissues of catfish (*Tandanus tandanus*). pp 213-224. In: A.G. Miskiewicz (ed.), Proceedings of a Bioaccumulation Workshop: Assessment of the Distribution, Impacts and Bioaccumulation of Contaminants in Aquatic Environments. Australian Marine Science Association, Inc/WaterBoard. Sydney, New South Wales.
- OLIVEIRA, R. M., BRILHANTE, O. M., MOREIRA, J. C., MIRANDA, A. C. 1995. Contaminação por hexaclorociclohexanos em área urbana da região Sudeste do Brasil. Ver. Saúde Pública, 20(3):228-233.
- QUAGGIO, A. L. C.; KOTAS, J. E.; HOSTIM, M. 2008. As capturas do tubarão-azul, *Prionace glauca* (Elasmobranchii, Carcharhinidae), na pescaria de espinhel-desuperfície (monofilamento), sediada em Itajaí (SC), Brasil. Pan-American Journal of Aquatic Sciences 3(1): 61-74.
- QUIJANO, S. M. 2007. Biologia populacional do tubarão- azul, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) (Carcharhinidae), na região sudoeste do oceano atlântico. Tese de Doutorado. FURG, Departamento de Oceanografia Biológica.
- PAN-UK. 2005. The List of Lists. Disponível em: <<http://www.pan-uk.org/Publications/Briefing/list%20of%20lists%202005.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2009.

- PANDIT, G. G.; MOHAN RAO, A. M.; JHA, S. K.; KRISHNAMOORTHY, T. M.; KALE, S. P.; RAGHU, K.; MURTHY, N. B. K. 2001. Monitoring of organochlorine pesticides residues in the Indian marine environment. *Chemosphere* 44, 301-305.
- PENTEADO, J.C.P. & VAZ, J.M. 2001. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). *Quím. Nova* 24(3), pp. 390-398.
- PHILLIPS, D. J. H. 1995. The chemistries and environmental fates of trace metals and organochlorines in aquatic ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 193-200.
- RAMADE, F. 1979. *Écotoxicologie*. Collection d'Écologie, 9. Paris: Masson.
- RAND, G.M.. & PETROCELLI, S.R. (eds.) 1985. *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. Washington, McGraw Hill, pp.335-373.
- ROBBAT JR., A. & LIU, T.Y. 1992. Field detection of organochlorine pesticides by Thermal Desorption Gas Chromatography – Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography*, 625: 277-288.
- SCHLENK, D.; SAPOZHNIKOVA, Y.; CLIFF, G. 2005. Incidence of organochlorine pesticides in muscle and liver tissues of South African great white sharks *Carcharodon carcharias*. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 208-236.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. 1999. *Fisiologia Animal (Adaptação e Meio Ambiente)*. Santos, 600 p.
- SELLSTRÖM, U.; SÖDERSTRÖM, G.; DE WIT, C.; TYSKLIND, M. 1998. Photolytic debromination of decabromodiphenyl ether (DeBDE). *Organohalogen Compounds*, 35:447-450.
- SERRANO, R.; FERNANDEZ, M.; RABANAL, R.; HERNANDEZ, M.; GONZALEZ, M. J. 2000. Congener-specific determination of polychlorinated biphenyls in shark and grouper livers from the Northwest African Atlantic Ocean.
- STEFANELLI, P., AUSILI, A., DI MUCCIO, A., FOSSI, C., DI MUCCIO, S., ROSSI, S., COLASANTI, A., 2004. Organochlorine compounds in tissues of swordfish (*Xiphias gladius*) from Mediterranean Sea and Azores islands. *Marine Pollution Bulletin* 49, 938–950.

- STORELLI, M. M.; MARCOTRIGIANO, G. O. 2001. Persistent organochlorine residues and toxic evaluation of polychlorinated biphenyls in sharks from the Mediterranean Sea (Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 42(12): 1323-1329.
- STORELLI, M. M.; CECI, E. ; STORELLI, A. ; MARCOTRIGIANO, G. O. 2003. Polychlorinated biphenyl, heavy metal and methylmercury residues in hammerhead shark contaminant status and assessment. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1035-1048.
- STORELLI, M. M.; STORELLI, A.; ONOFRIO, G.; MARCOTRIGIANO, O. 2005. Concentrations and hazard assessment of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in shark liver from the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 850-855.
- SWANM, R. L., MCCALL, P. J., LASKOWSKI, D. A., DISHBURGER, H. J. 1981. Estimation of soil sorption constants of organic chemicals by high-performance liquid chromatography. In: *Aquat. Toxicol. Hazard Assess.*, ASTM Special Technical Publication 737, pp. 43-48.
- SZPILMAN, M. 2004. Tubarões no Brasil – Guia prático de identificação. Rio de Janeiro: Aqualittera, 160p.
- TANABE, S.; TATSUKAWA, R. & PHILLIPS, D.J.H. 1987. Mussels as Bioindicators of PCB Pollution: a case study on uptake and release of PCB isomers and congeners in green-lipid mussels (*Perna viridis*) in Hong Kong Waters. *Environmental Pollution*, 47: 41-62.
- WADE, T.L. & CANTILLO, A.Y., 1994. Use of standards and reference materials in the measurement of chlorinated hydrocarbon residues - chemistry workbook. In: NOAA Technical Memo NOS ORCA 77 (National Status and Trends Program for Marine Environmental Quality), NOAA, Silver Spring, MD.
- WATANABE, I.; TATSUKAWA, R. 1987. Formation of brominated dibenzofurans from the photolysis of flame retardant decabromobiphenyl ether in hexane solution by UV and sunlight. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 39:953-959.

- WEBER, R.R., MONTONE, R.C. 1990. Distribution of organochlorines in the atmosphere of the South Atlantic and Antarctic Oceans. In: Kurtz, D.A., ed. Long range transport of pesticides. Lewis Publishers, p. 185-197.
- WHITE W.T., P.R. LAST, J.D. STEVENS, G.K. YEARSLEY, F. D. 2006. Economically important sharks and rays of Indonesia [Hiu dan pari yang bernilai ekonomis penting di Indonesia]. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.