



Tércia Guedes Seixas

**Influência de Parâmetros Ecológicos e Biológicos na
Acumulação de Elementos Essenciais (Se, As, Cu) e Não-
essenciais (Hg, Cd, Ag, Pb) em Fígado e Rins de Cetáceos
da Porção Oeste do Oceano Atlântico Sul**

Tese de Doutorado

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-
Graduação em Química da PUC-Rio.

Orientadoras: Profa. Dra. Isabel Maria Neto da Silva Moreira
Profa. Dra. Helena do Amaral Kehrig

Rio de Janeiro
Julho de 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Tércia Guedes Seixas

Influência de Parâmetros Ecológicos e Biológicos na Acumulação de Elementos Essenciais (Se, As, Cu) e Não-essenciais (Hg, Cd, Ag, Pb) em Fígado e Rins de Cetáceos da Porção Oeste do Oceano Atlântico Sul

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Profa. Dra. Isabel Maria Neto da Silva Moreira
Orientador - Departamento de Química - PUC-Rio

Profa. Dra. Helena do Amaral Kehrig
Orientador - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - UFRJ

Profa. Dra. Ana Paula Madeira Di Beditto
Centro de Bociências e Biotecnologia - UENF

Prof. Dr. José Marcus de Oliveira Godoy
Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Dr. Josino Costa Moreira
Escola Nacional de Saúde Pública - FIOCRUZ

Profa. Dra. Monica Ferreira da Costa
Departamento de Oceanografia - UFPE

Prof. Dr. Ricardo Erthal Santelli
Departamento de Geoquímica – UFF

Prof. José Eugenio Leal
Coordenador Setorial do Centro Técnico Científico - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 28 de julho de 2008

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do orientador.

Tércia Guedes Seixas

Possui graduação em Química Industrial pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (2001) e mestrado em Química Analítica pela Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (2004). Desde 2003 vem participando de projetos na área de Ecologia Aplicada em conjunto com pesquisadores da UFRJ (IBCCF-LREPF) e da UFPE (Departamento de Oceanografia). Tem experiência na área de Química Analítica, com ênfase em Química do Mar, atuando principalmente na determinação de elementos-traço (Se, As, Cd, Hg, Ag, Cu e Pb) e também, na análise de especiação de Hg em amostras biológicas utilizando a Espectrometria de Absorção Atômica (GF-AAS e CV-AAS).

Ficha Catalográfica

Seixas, Tércia Guedes

Influência de parâmetros ecológicos e biológicos na acumulação de elementos essenciais (Se, As, Cu) e não-essenciais (Hg, Cd, Ag, Pb) em fígado e rins de cetáceos da porção oeste do Oceano Atlântico Sul / Tércia Guedes Seixas ; orientadoras: Isabel Maria Neto da Silva Moreira e Helena do Amaral Kehrig. – 2008.

130 f. : il. ; 30 cm

Tese (Doutorado em Química)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Cetáceos marinhos. 3. Elementos-traço e mercúrio orgânico. 4. Parâmetros ecológicos e biológicos. 5. GF-AAS. 6. FI-CV-AAS. 7. Porção oeste do Oceano Atlântico Sul. 8. Inter-relação entre os elementos. I. Moreira, Isabel Maria Neto da Silva. II. Kehrig, Helena do Amaral. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

À memória de meus pais
À minha pequena família
À minha amiga Helena do Amaral Kehrig
À minha grande e nova família
A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho

Agradecimentos

Esta tese é o produto final de um trabalho que contou com a participação e suporte de inúmeras pessoas e instituições, as quais colaboraram comigo tanto no âmbito profissional como no pessoal. É um enorme prazer para mim, relembrar aqui seus nomes e agradecê-las.

Agradeço imensamente à minha orientadora e acima de tudo grande amiga Dra. Helena do Amaral Kehrig, pelo seu grande incentivo, colaboração, parceria, confiança e orientação, indispensáveis na realização deste trabalho. Muito obrigada por todo aprendizado!

Agradeço à Profa. Dra. Isabel Maria Neto da Silva Moreira, pela oportunidade do meu retorno ao Departamento de Química da PUC-Rio e também pela orientação.

Ao Professor Dr. Olaf Malm por toda confiança, apoio, incentivo e pelo imprescindível suporte instrumental.

Às Professoras da UENF, Dra. Ana Paula M. Di Benedetto e Dra. Cristina Maria M. Souza, por gentilmente terem cedido as amostras de *Pontoporia blainvillei*, *Sotalia guianensis* e *Stenella frontalis* que foram empregadas neste estudo.

Aos Professores da FURG, Dr. Gilberto Fillmann e Dr. Eduardo R. Secchi, por gentilmente terem cedido as amostras de *Pontoporia blainvillei*, *Stenella coeruleoalba* e *Stenella frontalis* que foram empregadas neste estudo.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos que me foi concedida durante este trabalho e também, pelo auxílio financeiro concedido através do projeto N°. 151634/2006-8.

À FAPERJ, pelo auxílio financeiro concedido através do projeto N°. E-26/150187/2006.

À UFRJ e à PUC-Rio, pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

Ao meu amigo Rodrigo, do Laboratório de Absorção Atômica da PUC-Rio, por toda sua ajuda nos momentos difíceis com o equipamento.

A todos do Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, em especial à Dra. Elisabete Palermo, à MSc. Daniele Kasper, à MSc. Marianna Badini e Kelly Fernandes por toda a ajuda durante a preparação das amostras e a realização da parte experimental da tese.

Ao Ricardinho, do Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, por toda sua paciência e ajuda na determinação de Hg nas minhas amostras.

Aos professores do Departamento de Química por todo aprendizado durante esses anos de estudo.

Aos professores que participaram da Comissão examinadora.

À minha amada “irmã-mãe” Tarsis, por toda a força durante os momentos mais difíceis da minha vida, pelo incentivo e carinho. Muito obrigada por tudo!

Aos funcionários do Departamento de Química, em especial à Fátima Almeida, pelos ensinamentos e pela sua indispensável ajuda.

A todos os que não foram mencionados nominalmente, mas que de algum modo contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo

Seixas, Tércia Guedes. **Influência de Parâmetros Ecológicos e Biológicos na Acumulação de Elementos Essenciais (Se, As, Cu) e Não-essenciais (Hg, Cd, Ag, Pb) em Fígado e Rins de Cetáceos da Porção Oeste do Oceano Atlântico Sul.** Rio de Janeiro, 2008. 130p. Tese de Doutorado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Neste estudo, avaliou-se a influência de alguns parâmetros ecológicos e biológicos sobre a acumulação dos elementos-traço e mercúrio orgânico (Hg_{Org}) no fígado e rins de espécies de cetáceos de hábitos costeiros (*Pontoporia blainvillei*, N = 31; *Sotalia guianensis*, N = 21) e oceânicos (*Stenella coeruleoalba*, N = 3; *Stenella frontalis*, N = 4), acidentalmente capturados em duas áreas distintas da costa brasileira (tropical - litoral do norte do estado do Rio de Janeiro e subtropical - litoral do estado do Rio Grande do Sul). Assim, foram gerados novos dados a respeito das concentrações destes elementos em órgãos de cetáceos marinhos ainda pouco estudados, especialmente em uma região com pouca informação como a porção oeste do Oceano Atlântico Sul. Para tal, foram aplicados métodos analíticos baseados na técnica da espectrometria de absorção atômica (AAS), utilizando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF-AAS) e a espectrometria de absorção atômica com vapor frio (CV-AAS), as mais frequentemente aplicadas para a determinação de elementos-traço e mercúrio respectivamente, em amostras biológicas. Estas técnicas apresentaram ótima precisão e exatidão comprovadas através da análise de materiais de referência certificados (CRM) do National Research Council – Canadá (DORM-2, DOLT-2 e TORT-2). Foram observadas diferenças regionais (região tropical e subtropical) e inter-específicas (golfinhos de hábitos costeiro e oceânico) sobre a acumulação dos elementos-traço e Hg_{Org} nos órgãos estudados. As espécies de hábito oceânico apresentaram as maiores concentrações destes elementos em seus órgãos. O sexo dos indivíduos não influenciou na bioacumulação dos elementos e Hg_{Org} . Os parâmetros população, comprimento total, e maturidade sexual, influenciaram na acumulação dos elementos-traço e Hg_{Org} em ambos os órgãos, de acordo com a espécie e a área de captura. *S. guianensis*, co-habita o mesmo ambiente que *P. blainvillei*, e preferencialmente se alimenta de peixes maiores e predadores, neste estudo, apresentou a razão molar de 1:1 entre o Se e o Hg,

mostrando assim, que provavelmente o processo de destoxificação de metilmercúrio hepático esteja ocorrendo. A espécie *P. blainvillei* se alimenta preferencialmente de cefalópodes e peixes pequenos, e apresentou uma razão molar de 4:1 entre o Se e o Hg no fígado. Os metais de transição Cd e Ag, que também interagem com o Se hepático nos mamíferos, apresentaram correlações significativas no fígado dos cetáceos marinhos estudados. A espécie *S. guianensis* apresentou correlações significativas entre as concentrações molares de Se e Cd ($p = 0,01$) e Se e Ag ($p < 0,001$) no fígado. Para a espécie *P. blainvillei*, os indivíduos provenientes de ambas as regiões (tropical e subtropical) apresentaram correlações significativas entre as concentrações molares de Se e Hg ($p < 0,001$) no fígado. Somente os indivíduos de *P. blainvillei* capturados na região tropical apresentaram correlações significativas entre as concentrações molares de Se e Cd ($p < 0,001$). Não só as diferentes condições ambientais, mas também, o tempo de vida, o estágio de crescimento e, principalmente a preferência alimentar, influenciaram fortemente sobre a acumulação de elementos-traço e Hg_{Org} nos tecidos dos cetáceos assim como, sobre suas inter-relações.

Palavras-chave

Cetáceos marinhos; elementos-traço e mercúrio orgânico; parâmetros ecológicos e biológicos; GF-AAS; FI-CV-AAS; porção oeste do Oceano Atlântico Sul; inter-relação entre os elementos.

Abstract

Seixas, Tércia Guedes. **Influence of Ecological and Biological Parameters on the Accumulation of Essential (Se, As, Cu) and Non-essential Elements (Hg, Cd, Ag, Pb) by the Liver and Kidney of Cetaceans from the Western South Atlantic Ocean.** Rio de Janeiro, 2008. 130p. Tese de Doutorado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The present work tested whether ecological and biological parameters have an influence on the accumulation of trace elements and organic mercury (Hg_{Org}) by the liver and kidney of coastal (*Pontoporia blainvillei*, N = 31; *Sotalia guianensis*, N = 21) and oceanic (*Stenella coeruleoalba*, N = 3; *Stenella frontalis*, N = 4) cetaceans species incidentally caught in fishing nets along two Brazilian coastal areas (tropical – northern Rio de Janeiro State and subtropical –Rio Grande do Sul State). This research added new insight to the existing studies with trace element concentrations in internal organs of marine cetaceans from the southwestern Atlantic Ocean. Few studies have documented trace element concentrations in marine mammals in this area. Analytical methodologies based on atomic absorption spectrometry (AAS), using the graphite furnace (GF-AAS) and cold vapor (CV-AAS) techniques were applied for this purpose. They are the most popular analytical techniques applied for trace element and mercury determination, respectively, in biological samples. Precision and accuracy of the analytical methods were determined and monitored using certified material from National Research Council – Canada (DORM-2, DOLT-2 and TORT-2). Inter-species (coastal and oceanic cetacean species) and regional (tropical and subtropical regions) differences were observed in the accumulation of trace elements and organic mercury in organs, liver and kidney. The highest concentrations of these elements were observed in the liver of the oceanic cetacean species. However, no gender differences were found on the bioaccumulation of trace elements and also organic mercury. Biological parameters such as, population, body length and sexual maturity influenced on the trace element and organic mercury accumulation by both organs, according to the cetacean species and caught area. *S. guianensis*, which co-habits the same coastal marine environment that *P. blainvillei* species, was the only dolphin species that presented a Se:Hg molar ratio close to 1:1, showing that a probable detoxification

process can be occurring in the liver of *S. guianensis*. This dolphin species feeds mainly on predatory fish, while *P. blainvillei* feeds mainly on fish and cephalopods. *P. blainvillei* presented a Se:Hg molar ratio close to 4:1. It's known that transition metals, such as Hg, Cd and Ag, have an interaction with Se in the liver of marine mammals. The molar concentrations of Cd ($p = 0.01$) and Ag ($p < 0.001$) presented significant correlations with the hepatic molar Se in the liver of *S. guianensis*. *P. blainvillei* from both sampling areas presented a high significant correlation for molar Se to Hg concentrations ($p < 0.001$) in liver. Meanwhile, only individuals of *P. blainvillei* from tropical region showed a significant correlation with hepatic Se and Cd ($p < 0.001$). Based on the results present here, it is possible to conclude that, not only the different environmental conditions, but also life span, growth stage but mainly the feeding habit influenced the accumulation of trace elements and organic mercury by cetacean tissues. These ecological and biological parameters influenced on the inter-element relationships.

Keywords

Marine cetaceans; trace elements and organic mercury; ecological and biological parameters; GF-AAS; FI-CV-AAS; western South Atlantic Ocean; inter-element relationship.

Sumário

1. Introdução	19
2. Objetivos e Hipóteses	24
2.1. Objetivo Geral	24
2.2. Objetivos Específicos	25
2.3. Hipóteses	25
3. Métodos Analíticos Utilizados na Determinação de Elementos-traço em Amostras Biológicas	26
3.1. Espectrometria de absorção atômica (AAS)	28
3.1.1. A técnica do forno de grafite	31
3.1.2. A técnica do vapor frio	36
4. Materiais e Métodos	39
4.1. Áreas de estudo	39
4.2. Descrição das espécies estudadas	41
4.2.1. <i>Pontoporia blainvillei</i> (Gervais & D'Orbigny, 1844)	41
4.2.2. <i>Sotalia guianensis</i> (van Bénéden, 1862)	45
4.2.3. gênero <i>Stenella</i> (Gray, 1866)	47
4.3. Preparo das amostras	50
4.4. Soluções e reagentes	52
4.5. Determinação de Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb nas amostras	52
4.5.1. Efeitos de matriz em GF-AAS	55
4.5.2. Procedimento analítico para a determinação de Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb nas amostras de fígado e rins dos cetáceos marinhos por GF-AAS	56
4.6. Determinação de Hg _{Tot} e Hg _{Org} nas amostras	57
4.6.1. Procedimento analítico para a determinação de Hg _{Tot} nas amostras de fígado e rins dos cetáceos marinhos por FI-CV-AAS	58
4.6.2. Procedimento analítico para a determinação de Hg _{Org} nas amostras de fígado e rins dos cetáceos marinhos por FI-CV-AAS	58

4.7. Análises Estatísticas	59
5. Resultados e discussão	61
5.1. Limites de detecção (L.D.) e quantificação (L.Q.)	61
5.2. <i>Pontoporia blainvillei</i> (Gervais & D'Orbigny, 1844)	63
5.2.1. Concentração dos elementos-traço nos órgãos	63
5.2.2. O efeito de parâmetros biológicos (comprimento total, sexo e maturidade sexual) sobre a acumulação dos elementos-traço	69
5.2.2.1. Elementos essenciais (Se, As e Cu)	71
5.2.2.2. Elementos não-essenciais (Hg, Cd, Ag e Pb)	73
5.2.2.3. Elementos x idade	77
5.2.3. Comparação com outras regiões costeiras da América do Sul	80
5.3. <i>Sotalia guianensis</i> (van Bénédén, 1862)	82
5.3.1. O efeito de parâmetros biológicos (comprimento total, sexo e maturidade sexual) sobre a acumulação hepática dos elementos-traço	82
5.4. gênero <i>Stenella</i>	86
5.5. Relação entre as espécies de cetáceos investigadas	87
5.6. Diferenças regionais	91
5.6.1. <i>Pontoporia blainvillei</i> (Gervais & D'Orbigny, 1844)	91
5.6.2. <i>Stenella frontalis</i> (Cuvier, 1829)	92
5.7. Relações entre os elementos	93
5.7.1. Relação entre mercúrio e selênio	93
5.7.2. Relação entre cádmio e selênio	99
5.7.3. Relação entre prata e selênio	102
6. Conclusões	105
7. Referências bibliográficas	107
Anexos	117

Lista de tabelas

Tabela 1. Alguns métodos instrumentais utilizados na análise de elementos-traço (adaptado de Skoog et al., 2002)	27
Tabela 2. Comparação entre diversos métodos de análise para elementos-traços (adaptado de Welz & Sperling, 1999; Skoog et al., 2002; Nordberg et al., 2007)	28
Tabela 3. Dados biológicos de <i>Pontoporia blainvillei</i> acidentalmente capturadas ao longo da costa norte do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S)	44
Tabela 4. Dados biológicos de <i>Sotalia guianensis</i> acidentalmente capturados ao longo da costa norte do Rio de Janeiro (SE)	47
Tabela 5. Condições instrumentais e parâmetros analíticos otimizados para a determinação de Se, As, Ag, Cd, Cu e Pb total em amostras biológicas (volume de injeção de 20 µL) por GF-AAS	54
Tabela 6. Inclinações correspondentes à calibração aquosa (β_1) e a calibração por adição de analito (β_2) para a determinação de elementos-traço em amostras de fígado de cetáceos marinhos	56
Tabela 7. Resultados para a análise dos materiais de referência certificados	61
Tabela 8. Concentrações dos elementos essenciais e não-essenciais ($\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco) nos órgãos das espécies de cetáceos acidentalmente capturadas ao longo da costa norte do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S)	64
Tabela 9. Comparação das concentrações dos elementos essenciais e não-essenciais ($\mu\text{g g}^{-1}$) no fígado de cetáceos da costa da América do Sul	81
Tabela 10. Valor de F e a distância de Mahalanobis (D^2) entre as diferentes espécies de cetáceos analisadas, dados a partir da análise de discriminante	88

Lista de figuras

Figura 1. Representação do forno original de L'vov (a) e do Forno de Massmann (b) (Modificado de Welz & Sperling, 1999)	32
Figura 2. Programa de temperatura do forno de grafite (modificado de Seixas, 2004)	33
Figura 3. Pulso de absorção: Absorvância x Tempo (modificado de Seixas, 2004)	35
Figura 4. Esquema de um sistema para determinação de mercúrio pela técnica de vapor frio	37
Figura 5. Áreas de captura acidental das espécies de golfinhos	40
Figura 6. Distribuição geográfica (destacada em verde) da espécie <i>Pontoporia blainvillei</i> na costa leste da América do Sul (modificado de Crespo, 2002)	42
Figura 7. <i>Pontoporia blainvillei</i> (desenhado por Wurtz-Artescienza) (Adaptado de www.cms.int)	43
Figura 8. Distribuição geográfica (destacada em verde; no litoral) da espécie <i>Sotalia guianensis</i> (Adaptada do site www.cms.int)	45
Figura 9. <i>Sotalia guianensis</i> (desenhado por Wurtz-Artescienza) (Adaptado de www.cms.int)	46
Figura 10. Distribuição geográfica (destacada em verde) da espécie <i>Stenella frontalis</i> nas águas tropicais e subtropicais do Oceano Atlântico Sul e nas águas temperadas do Oceano Atlântico Norte (modificado de Perrin et al., 1994)	48
Figura 11. <i>Stenella frontalis</i> (desenhado por Wurtz-Artescienza) (Adaptado de www.cms.int)	49
Figura 12. Distribuição geográfica (destacada em verde) da espécie <i>Stenella coeruleoalba</i> nas águas tropicais, subtropicais e temperadas ao redor do mundo (modificado de Perrin et al., 1994 e Archer & Perrin, 1999)	49
Figura 13. <i>Stenella coeruleoalba</i> (desenhado por Wurtz-Artescienza) (Adaptado de www.cms.int)	49

Figura 14. Liofilizador Terroni (série LD) acoplado a uma bomba de vácuo	51
Figura 15. Espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite Analytik Jena, modelo AAS ZEE nit 60 e sistema automático de amostragem líquida Analytik Jena (modelo MPE 52) acoplado	53
Figura 16. Espectrômetro de absorção atômica com vapor frio, modelo FIMS 400 (Perkin Elmer), associado a um sistema de injeção em fluxo, modelo FIAS 400 (Perkin Elmer) e equipado com um sistema automático de amostragem líquida, modelo AS 90 (Perkin Elmer)	57
Figura 17. Relação da % Hg _{Org} com a concentração de mercúrio total no fígado da <i>Pontoporia blainvillei</i>	66
Figura 18. Relação da % Hg _{Org} com a concentração de mercúrio total nos rins da <i>Pontoporia blainvillei</i>	66
Figura 19. Relação entre a idade e o comprimento total – L (cm) dos indivíduos de <i>Pontoporia blainvillei</i> provenientes da costa do Rio Grande do Sul (S)	70
Figura 20. Relação entre as concentrações dos elementos essenciais nos órgãos da <i>Pontoporia blainvillei</i> e o comprimento total – L (cm)	72
Figura 21. Relação entre as concentrações dos elementos não-essenciais nos órgãos da <i>Pontoporia blainvillei</i> e o comprimento total – L (cm)	75
Figura 22. Relação entre as proporções de mercúrio orgânico em relação ao mercúrio total (% Hg _{Org}) nos órgãos da <i>Pontoporia blainvillei</i> e o comprimento total – L (cm)	76
Figura 23. Variação das concentrações hepáticas dos elementos com a idade da <i>P. blainvillei</i> (S)	78
Figura 24. Variação das concentrações renais de Hg e Cd e a % Hg _{Org} com a idade da <i>Pontoporia blainvillei</i> (S)	79
Figura 25. Relação entre as concentrações dos elementos essenciais no fígado e o comprimento total – L (cm) da <i>Sotalia guianensis</i>	83

Figura 26. Relação entre as concentrações dos elementos não-essenciais no fígado e o comprimento total – L (cm) da <i>Sotalia guianensis</i>	83
Figura 27. Relação da % Hg _{Org} com a concentração de mercúrio total no fígado da <i>Sotalia guianensis</i>	84
Figura 28. Relação entre as proporções de mercúrio orgânico em relação ao mercúrio total (% Hg _{Org}) no fígado com o comprimento total – L (cm) da <i>Sotalia guianensis</i>	85
Figura 29. Representação gráfica das variáveis canônicas para a <i>Pontoporia blainvillei</i> , <i>Sotalia guianensis</i> e gênero <i>Stenella</i>	89
Figura 30. Representação gráfica da guilda trófica da <i>Sotalia guianensis</i> (em vermelho) e da <i>Pontoporia blainvillei</i> (em azul) acidentalmente capturadas na costa do Rio de Janeiro (SE)	90
Figura 31. Relação entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado e rins dos indivíduos de <i>Pontoporia blainvillei</i> coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S)	94
Figura 32. Relação entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado dos indivíduos de <i>Sotalia guianensis</i> coletados na costa norte do Rio de Janeiro (SE)	95
Figura 33. Relação entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado dos indivíduos do gênero <i>Stenella</i> coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e do Rio Grande do Sul (S)	96
Figura 34. Distribuição das espécies de mercúrio apresentadas no fígado de dois indivíduos de <i>Sotalia guianensis</i> : (a) exemplo de uma amostra com as mais baixas concentrações hepáticas de Hg _{Tot} e (b) exemplo de uma amostra com as mais elevadas concentrações hepáticas de Hg _{Tot} (adaptado de Kehrig et al., 2008)	98
Figura 35. Relação entre a concentração molar de cádmio e selênio no fígado dos indivíduos de <i>Pontoporia blainvillei</i> coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S)	99
Figura 36. Relação entre a concentração molar de cádmio e selênio nos rins dos indivíduos de <i>Pontoporia blainvillei</i> coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S)	100

Figura 37. Relação entre a concentração molar de cádmio e selênio no fígado dos indivíduos de <i>Sotalia guianensis</i> coletados na costa norte do Rio de Janeiro (SE)	101
Figura 38. Relação entre a concentração molar de cádmio e selênio no fígado dos indivíduos do gênero <i>Stenella</i> coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e do Rio Grande do Sul (S)	101
Figura 39. Relação entre a concentração molar de prata e selênio no fígado e rins dos indivíduos de <i>Pontoporia blainvillei</i> coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S)	102
Figura 40. Relação entre a concentração molar de prata e selênio no fígado dos indivíduos de <i>Sotalia guianensis</i> coletados na costa norte do Rio de Janeiro (SE)	103
Figura 41. Relação entre a concentração molar de prata e selênio no fígado dos indivíduos do gênero <i>Stenella</i> coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S)	103

*“Atravessas rudes
provas...
Acalma-te e abençoa.
Alguma ofensa à vista?
Esquece e abençoa.
Amigos desertaram...
Segue à frente e abençoa.
Sofres dificuldades?
Age, serve e abençoa.
Alguém te menospreza...
Silencia e abençoa.
Por nada te revoltas...
Deus te guarda e abençoa.”*

Emmanuel do livro "Assim Vencerás"

1 Introdução

Com o aumento das atividades industriais e agrícolas, e também, com o crescimento populacional, observados nas últimas décadas, uma série de contaminantes e poluentes (como por exemplo, matéria orgânica, óleos e um grande número de outros compostos, incluindo-se os elementos traço) vêm sendo liberados para o meio ambiente, principalmente para o ecossistema aquático (Srogi, 2008). Alguns elementos-traço são de grande interesse biológico e ecológico para a comunidade científica mundial, pois mesmo em baixas concentrações ao mesmo tempo em que podem ser classificados como nutrientes ou essenciais, podem ser também, considerados poluentes altamente tóxicos (Sures et al., 1995; Srogi, 2008). Aqueles classificados como nutrientes ou essenciais do ponto vista biológico, como por exemplo, o selênio, o arsênio e o cobre, podem, sob condições específicas, causar impactos negativos aos ecossistemas aquáticos, constituindo-se, assim, em contaminantes ou poluentes (Guilherme et al., 2005). Tornam-se tóxicos para organismos aquáticos em concentrações um pouco acima daquelas requeridas nutricionalmente (Shibata et al., 1992; Srogi, 2008). Elementos classificados como não essenciais, dentre eles alguns metais, tais como o mercúrio, o cádmio, a prata e o chumbo também são de grande interesse biológico e ambiental, devido principalmente à sua alta toxicidade a baixas concentrações e também, ao seu amplo uso em atividades industriais e agrícolas, além da sua presença em efluentes domésticos (Eisler, 2000; Guilherme et al., 2005; Srogi, 2008). Em face à persistência apresentada por esses elementos no ambiente e à tendência em se acumularem nos tecidos da biota aquática (Altindag & Yigit, 2005), há um grande interesse em se estudar os problemas relacionados à poluição dos sistemas aquáticos por elementos-traço (Guilherme et al., 2005), uma vez que destas áreas provêm as principais fontes de proteína animal de origem marinha para uma parcela significativa da população.

A biota aquática é capaz de concentrar os elementos-traço em várias ordens de grandeza acima das concentrações encontradas na coluna d' água, sendo por

isso, responsável por grande parte da dinâmica destes poluentes no ambiente. Além disso, os organismos aquáticos também respondem por grande parte da reciclagem dos elementos-traço retidos nos compartimentos abióticos do sistema (sedimento e material particulado em suspensão) e, conseqüentemente, constituem a principal via de exportação desses elementos do ambiente aquático para o terrestre, via cadeia alimentar, podendo chegar até o homem (Fowler, 1982).

Os mamíferos marinhos, por possuírem vida longa e ocuparem os mais elevados níveis tróficos da teia trófica aquática, são conhecidos por acumularem altas concentrações de contaminantes em seus tecidos (Woshner et al., 2001; Kunito et al., 2004), assemelhando-se em alguns aspectos ao homem. Os órgãos internos dos mamíferos marinhos, fígado e rins, que são os principais órgãos de destoxificação, filtração e eliminação, geralmente apresentam elevadas concentrações de contaminantes, dentre estes, alguns elementos-traço. Na verdade os mamíferos marinhos representam o último repositório para muitos poluentes persistentes (Thompson et al., 2007), sendo, portanto, muito sensíveis às variações ambientais (Capelli et al., 2000). Assim sendo, a análise de tecidos de diferentes espécies de mamíferos marinhos tem sido utilizada como ferramenta para se avaliar a poluição marinha por elementos-traço (Caurant et al., 1994; Woshner et al., 2001; Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a, 2008; Kehrig et al., 2008).

A poluição de ambientes costeiros é uma tendência mundial em que eventos ligados à morte de organismos marinhos e a observação de várias doenças que os afligem vêm sendo reportados na literatura (Kannan et al., 2006). Com relação aos mamíferos marinhos, estes problemas estão relacionados a diversos fatores e, provavelmente, ligados não só à ação de poluentes e de efluentes urbanos, mas também, à destruição dos habitats onde eles vivem, às variações climáticas globais, assim como à ação da atividade pesqueira, que através da captura acidental leva muitos indivíduos à morte (Schwartz et al., 2005).

Na literatura é encontrada uma série de trabalhos a respeito das concentrações dos elementos-traço em tecidos de mamíferos marinhos oriundos do Hemisfério Norte (André et al., 1990; Leonzio et al., 1992; Augier et al., 1993; Caurant et al., 1994; Becker et al., 1995; Dietz et al., 1996; Wagemann et al., 1996; Monaci et al., 1998; O'Shea, 1999; Capelli et al., 2000; Cardellicchio et al., 2000, 2002; Frodello et al., 2000; Woshner et al., 2001; Anan et al., 2002; Szefer et al., 2002; Watanabe et al., 2002; Roditi-Elasar et al., 2003; Ikemoto et al., 2004;

Dehn et al., 2006; Kannan et al., 2006; Stockin et al., 2007; Capelli et al., 2008), enquanto no Hemisfério Sul, poucos estudos deste tipo foram produzidos (Kemper et al., 1994; Marcovecchio et al., 1994; de Moreno et al., 1997; Gerpe et al., 2002; Bustamante et al., 2003; Lavery et al., 2008).

No Brasil, o estudo dos elementos-traço (como o Se, As, Cu, Hg, Cd, Ag e Pb) e das espécies orgânicas de mercúrio (Hg_{Org}) em mamíferos marinhos é ainda pouco representativo. Poucos trabalhos abordam os aspectos ecológicos e biológicos relacionando os elementos-traço e espécies de mamíferos marinhos, como por exemplo, os cetáceos (Lailson-Brito et al., 2002; Monteiro-Neto et al., 2003; Kehrig et al., 2004; Kunito et al., 2004; Dorneles et al., 2007; Seixas et al., 2007a, 2008, 2009).

Na literatura científica ainda são muito escassos e fragmentados os trabalhos onde se relacionam as concentrações de selênio com as de certos metais e semi-metais (Hg, Cd, Ag, Pb, Cu, As) nos órgãos e tecidos de mamíferos marinhos de regiões costeiras do Atlântico Sul (Kehrig et al., 2004; Kunito et al., 2004; Lavery et al., 2008; Seixas et al., 2007a, 2008, 2009).

O selênio (Se) é reconhecidamente um micronutriente de grande importância biológica (OMS, 1987; Shibata et al., 1992) e ecotoxicológica (Hamilton, 2004). Na literatura, já está clara a função protetora e antagonista, desempenhada por este elemento contra a ação tóxica de certos elementos, como por exemplo, o mercúrio, o cádmio, a prata e o arsênio em organismos marinhos (EPA, 1998; Becker et al., 1995), sobretudo nos mamíferos marinhos, mesmo sob condições normais de exposição (Becker et al., 1995; Palmisano et al., 1995; Dietz et al., 2000; Cardellicchio et al., 2002; Chen et al., 2002). O exato modo da interação entre o selênio e os metais, principalmente os de transição (Sasakura & Suzuki, 1998), e semi-metais (Francesconi et al., 1999) é complexo e ainda não é totalmente compreendido (Eisler, 2000). Somente para o mercúrio, esta interação parece já estar mais esclarecida (Wagemann et al., 1998, 2000). Neste caso o selênio desempenha um importante papel no processo de destoxificação da espécie mais tóxica do mercúrio, o metilmercúrio (Schultz et al., 1994), através da formação de grânulos inertes de $HgSe$, que se depositam principalmente no fígado e rins dos mamíferos marinhos (Endo et al., 2002).

Embora na literatura científica não sejam normalmente abordados problemas relacionados à toxicidade da Ag em mamíferos, o estudo do

comportamento deste elemento em mamíferos marinhos é de grande interesse, principalmente devido à sua interação com o Se. De acordo com Becker et al. (1995), a interação da Ag com Se se diferencia das interações observadas entre o Se e outros metais, pois a Ag pode induzir sintomas de deficiência de Se. Poucos estudos abordaram a determinação de Ag em tecidos de diferentes espécies de cetáceos em diferentes regiões do Hemisfério Norte (Becker et al., 1995; Woshner et al., 2001; Dehn et al., 2006; Stockin et al., 2007). Entretanto, mais escassos ainda são os dados reportados na literatura com relação a este elemento em mamíferos marinhos de regiões costeiras do Hemisfério Sul, como é o caso da costa brasileira (Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2009).

Os poucos estudos sobre a bioacumulação de elementos-traço em cetáceos marinhos realizados no litoral brasileiro e, principalmente a carência de informações a respeito das inter-relações entre o selênio e os elementos-traço em organismos desta região, motivaram a realização deste trabalho que visa gerar novos dados além de complementar aqueles que já foram e estão sendo gerados nesta região. Para tal, foram utilizadas como ferramentas analíticas as técnicas baseadas na espectrometria de absorção atômica (AAS – *Atomic Absorption Spectrometry*). Atualmente, a AAS é considerada como uma técnica analítica bem-sucedida, sendo uma das mais utilizadas na determinação de elementos-traço em amostras biológicas.

A apresentação do estudo foi dividida em 6 capítulos. O presente capítulo (Capítulo 1) traz uma breve descrição do problema a ser abordado, evidenciando a importância e o motivo da sua escolha como tema desta tese. O Capítulo 2 apresenta os principais objetivos a serem alcançados neste estudo e suas hipóteses. Fechando a parte introdutória da tese, o Capítulo 3 apresenta uma breve abordagem das ferramentas analíticas empregadas neste estudo para se determinar as concentrações de elementos-traço nas amostras biológicas analisadas, fígado e rins de cetáceos.

O Capítulo 4 abrange a parte de materiais e métodos deste estudo onde são apresentadas as duas áreas de coleta ao longo da costa brasileira (litoral norte do estado do Rio de Janeiro e litoral do estado do Rio Grande do Sul), a descrição das amostras utilizadas dos cetáceos marinhos (fígado e rins) ainda pouco estudados (*Pontoporia blainvillei*, *Sotalia guianensis*, *Stenella coeruleoalba* e *Stenella frontalis*) destas regiões e suas principais características biológicas, assim como

os equipamentos e as metodologias analíticas aplicadas para a determinação dos elementos-raço e também, do mercúrio orgânico (Hg_{Org}).

A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF-AAS) e efeito Zeeman de correção de fundo foi a metodologia analítica aplicada para a determinação dos elementos-traço, Se, As, Cu, Ag, Cd e Pb, no fígado e rins dos cetáceos marinhos (*P. blainvillei*, *S. guianensis*, *S. coeruleoalba* e *S. frontalis*) (Seixas et al., 2008, 2009).

A metodologia analítica empregada na determinação de mercúrio total (Hg_{Tot}) e mercúrio orgânico (Hg_{Org}) nos tecidos da *P. blainvillei* e *S. guianensis*, foi a espectrometria de absorção atômica com vapor frio acoplada a um sistema de injeção em fluxo (FI-CV-AAS) (Kehrig et al., 2006, 2008).

No Capítulo 5 são apresentados e discutidos os resultados obtidos neste estudo.

Por fim, no Capítulo 6, encontram-se as principais conclusões levantadas nestes anos de estudo.

2

Objetivos e Hipóteses

2.1. Objetivo Geral

- Adicionar novas informações que supram a carência de dados a respeito dos parâmetros ecológicos e biológicos que influem na bioacumulação dos elementos-traço (Se, Cu, As, Hg, Cd, Ag e Pb) e mercúrio orgânico (Hg_{Org}) em órgãos (fígado e rins) que desempenham importante papel na biotransformação e eliminação de contaminantes em algumas espécies de cetáceos de hábitos costeiros (*Pontoporia blainvillei*, *Sotalia guianensis*) e oceânicos (*Stenella coeruleoalba* e *Stenella frontalis*), de duas áreas da costa brasileira (litoral do norte do estado do Rio de Janeiro e litoral do estado do Rio Grande do Sul) possibilitando assim uma melhor compreensão dos mecanismos que influem no comportamento destes elementos nos organismos.

- Verificar algumas relações entre os elementos (como por exemplo, Se e Ag, Se e Hg, Se e Cd) que possam influir nos processos de destoxificação no fígado das espécies de cetáceos estudadas.

2.2. Objetivos Específicos

- Verificar a existência de diferenças regionais (região tropical e subtropical) e inter-espécies (golfinhos de hábitos costeiro e oceânico) sobre a acumulação dos elementos-traço e Hg_{Org} nos órgãos estudados;

- Examinar a influência de parâmetros ecológicos e biológicos, tais como área geográfica (região tropical e subtropical), população, comprimento total, sexo, maturidade sexual e diferenças na preferência alimentar no padrão de acumulação dos elementos-traço e Hg_{Org} nos órgãos das espécies de cetáceos estudadas;

- Avaliar as inter-relações entre as concentrações de selênio e Hg, Ag e Cd nos órgãos dos cetáceos marinhos e sua possível influência na bioacumulação dos elementos.
- Otimizar as metodologias analíticas para a determinação de elementos-traço e mercúrio orgânico em matrizes biológicas (fígado e rins de cetáceos marinhos), utilizando a técnica analítica de espectrometria de absorção atômica (AAS).

2.3. Hipóteses

- As condições ambientais das áreas de captura (tropical e subtropical) e os parâmetros biológicos (população, comprimento total, idade, sexo, maturidade sexual e diferenças na preferência alimentar) influem na bioacumulação dos elementos-traço e Hg_{Org} nos órgãos da espécie *P. blainvillei*, que pertencem a duas populações de áreas distintas.
- As condições ambientais das áreas de captura (tropical e subtropical) influem na bioacumulação dos elementos-traço no fígado dos indivíduos de duas espécies de golfinhos do gênero *Stenella*, que pertencem a duas populações de áreas distintas.
- Metais de transição tais como o Hg, o Cd e a Ag interagem com o Se, apresentando relações significativas no fígado dos mamíferos marinhos.
- As espécies de golfinhos, *Sotalia guianensis* e *Pontoporia blainvillei*, que co-habitam o mesmo ambiente e possuem diferenças na preferência alimentar apresentam razões molares distintas entre o Se e o Hg no fígado.
- O gênero *Stenella*, que possui hábito oceânico, apresenta diferente padrão de bioacumulação dos elementos-traço quando comparado com as espécies de golfinhos de hábito costeiro, *P. blainvillei* e *S. guianensis*.

3

Métodos Analíticos Utilizados na Determinação de Elementos-traço em Amostras Biológicas

O crescente interesse relativo à análise de traços em amostras ambientais e biológicas, principalmente com o intuito de se estimar o impacto destas concentrações no meio ambiente, principalmente no sistema aquático, ocasionou um substancial progresso no aprimoramento de técnicas de análise para se determinar as concentrações destes elementos em diferentes matrizes. Em virtude da alta toxicidade apresentada por alguns elementos, geralmente em concentrações na faixa de microgramas por quilograma para alguns organismos aquáticos, o desenvolvimento (ou redescobrimto) de vários métodos, técnicas e procedimentos analíticos foram realizados nos últimos 40 anos, com o objetivo, entre outros, de melhorar os limites de detecção disponíveis (Nordberg et al., 2007; Srogi, 2008). Um exemplo desta evolução, por exemplo, foi a substituição, na absorção atômica, da chama por atomizadores eletrotérmicos, bem mais sensíveis. Assim, embora usando os mesmos princípios do método, a nova técnica desceu a menores limites de detecção, e abriu um largo campo para o estudo de sua otimização e aplicabilidade (Welz & Sperling, 1999). Outro exemplo foi a evolução do ICP ótico para o ICP massa. Ambos os métodos convivem, hoje em dia, com seus campos de aplicação, mas não resta dúvida quanto ao salto de sensibilidade e de limites de detecção trazido pelo último (Bocca et al., 2007; Nordberg et al., 2007).

Segundo a literatura, dentre as técnicas analíticas atualmente empregadas para a análise de sub-microgramas de elementos-traço em amostras biológicas, as mais utilizadas são: a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Bocca et al., 2007; Nordberg et al., 2007; Batista et al., 2008; Pozebon et al., 2008; Srogi, 2008; Nardi et al., 2009); a espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) e a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (Nordberg et al., 2007; Srogi, 2008; Suleiman et al., 2008; Amorim et al., 2008); a análise de

ativação por nêutrons (NAA) (Kučera, 2007; Nordberg et al., 2007; Srogi, 2008); a emissão de raios-X induzida por partículas (PIXE) (Nordberg et al., 2007; Srogi, 2008) e a espectrometria de absorção atômica com chama, vapor frio e forno de grafite (Nordberg et al., 2007; Amorim et al., 2008; Batista et al., 2008; Srogi, 2008).

A determinação de concentrações traço e até subtraço de alguns elementos impuseram exigências especiais na hora de se selecionar o método a ser empregado, tais como: disponibilidade do equipamento, o tempo e a complexidade do processamento das amostras, a reprodutibilidade, a sensibilidade e o limite de detecção (Skoog et al., 2002; Nordberg et al., 2007; Srogi, 2008). Porém, nem sempre é fácil selecionar um método ótimo entre as técnicas instrumentais disponíveis. Generalizações sobre as vantagens dos diversos métodos disponíveis, com base na precisão, conveniência ou no tempo dispendido são igualmente difíceis de avaliar (Skoog et al., 2002).

As Tabelas 1 e 2 ilustram alguns desses métodos e algumas de suas características.

Tabela 1. Alguns métodos instrumentais utilizados na análise de elementos-traço (adaptado de Skoog et al., 2002).

Absorciometria molecular
Fluorimetria
Absorção atômica
Fluorescência atômica
Emissão atômica
Espectrometria de massa com plasma
Voltametria de Redissolução anódica
Polarografia de pulso diferencial
Potenciometria
Fluorescência de Raio X
Espectroscopia eletrônica (ESCA)
Espectroscopia eletrônica (AUGER)
Espectrometria de massa
Cromatografia gasosa
Cromatografia líquida de alta resolução
Análise por ativação
Métodos combinados

Tabela 2. Comparação entre diversos métodos de análise para elementos-traços (adaptado de Welz & Sperling, 1999; Skoog et al., 2002; Nordberg et al., 2007).

Método	Precisão (%)	L.D. absoluto (g)	Massa da amostra	Destrutivo	Multi-elementar	Tempo
Análise por ativação	2-10	$>10^{-12}$	mg's	Não	Sim	min
Espectro/massa-centelha	20-30	$10^{-3}-10^{-4}$	mg's	Sim	Sim	horas
Emissão (arco)	5-20	$10^{-5}-10^{-6}$	10-100mg	Sim	Sim	1-2h
Absorção Molecular	4-8	$10^{-5}-10^{-7}$	10mg-1g	Sim	Não	horas
AA Chama	2-5	$10^{-6}-10^{-7}$	0,1-1g	Sim	Não	min
AA Forno	2-5	$10^{-11}-10^{-12}$	1mg-2 g	Sim	Não	horas
ICP-OES	1-3	$10^{-8}-10^{-9}$	0,1-1g	Sim	Sim	min
ICP-MS	1-3	$10^{-12}-10^{-13}$	0,1-1g	Sim	Sim	min
Fluorescência R-X	1-2	$10^{-3}-10^{-5}$	0,1-2g	Não	Sim	1h
Polarografia	4-8	$10^{-6}-10^{-7}$	0,010-1g	Sim	Não	1-2h

Neste estudo, empregou-se o método de absorção atômica utilizando-se como técnicas de atomização o forno de grafite e o vapor frio para a determinação das concentrações totais de alguns elementos-traço (Se, Cu, As, Cd, Ag e Pb) e mercúrio total e orgânico (Hg e Hg_{Org}), respectivamente, em amostras biológicas.

3.1. Espectrometria de absorção atômica (AAS)

Considerada como uma técnica analítica bem-sucedida, a espectrometria de absorção atômica (AAS – *Atomic Absorption Spectrometry*) é uma das mais utilizadas na determinação de elementos em baixas concentrações, que estão presentes numa variedade de amostras, sejam estas líquidas, sólidas, em suspensão, e até mesmo gasosas, podendo estar associada a sistemas de análise em

fluxo e permitir também, os estudos de especiação (Welz & Sperling, 1999; Amorim et al., 2008).

Todas as aplicações analíticas modernas da AAS tiveram origem a partir de trabalhos publicados no final da década de 50 (Walsh, 1955 apud Amorim et al., 2008; Alkemade & Milatz, 1955 apud Amorim et al., 2008), que propuseram pela primeira vez o uso da AAS para análises químicas (Koirtyohann, 1980 apud Amorim et al., 2008). Marcando, em 2005, o aniversário de 50 anos de existência destas publicações, deve-se reconhecer que o uso da AAS muito contribuiu para o progresso científico. Neste meio século de aplicações, a confiabilidade e, principalmente, a economia apresentadas pela AAS foram os dois aspectos mais importantes para a utilização desta técnica analítica na determinação rotineira de concentrações traço ou sub-traço vários elementos em diversos tipos de matrizes, principalmente em amostras biológicas (Nordberg et al., 2007; Srogi, 2008; Amorim et al., 2008). Cerca de 70 diferentes elementos têm sido determinados por métodos de absorção atômica, incluindo os terras-raras mais comuns. A aplicação direta da técnica é limitada aos metais e semi-metais embora, por princípio, ela também possa ser aplicada a ametais, sendo este o caso do fósforo. Ao mesmo tempo, diversos ametais também têm sido determinados por métodos indiretos (Welz & Sperling, 1999).

Devido a sua simplicidade e baixo custo de operação, a AAS atraiu bastante interesse, mostrado principalmente, pelo crescente número de publicações a partir da década de 60. Este interesse foi mais evidenciado analisando-se o número de laboratórios que adquiriram este equipamento, principalmente os laboratórios industriais (Boar, 1999 apud Amorim et al., 2008). Porém, com o desenvolvimento de técnicas como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e a espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES), as vantagens e desvantagens de cada técnica passaram a ser comparadas e começaram então, a aparecer previsões a respeito do abandono da AAS como técnica analítica (Hieftje, 1989 apud Amorim et al., 2008). Entretanto, a AAS apresenta algumas vantagens quando comparada às estas técnicas analíticas, tais como, menor custo do equipamento, menor custo operacional, facilidade de operação, além do reduzido número de linhas espectrais, que acarreta uma possibilidade bem menor de interferência por sobreposição de linhas. Além do mais, a absorção atômica vem sofrendo um

desenvolvimento contínuo, com novas células de absorção, fontes de radiação, detectores e técnicas de introdução de amostra, assim como melhores sistemas de leitura e softwares que não acarretam na possibilidade de abandono desta técnica analítica (Welz & Sperling, 1999; Amorim et al., 2008).

Atualmente, verifica-se que a AAS é ainda bastante empregada e que ganha bastante força com o emprego de técnicas de injeção em fluxo e possibilidade de separação e pré-concentração on-line (Amorim et al., 2008). Segundo Sneddon et al. (1993), o uso e o interesse pela AAS não são representados pelo número de publicações, que são indicativos do interesse acadêmico, mas sim, pelo número laboratórios que fazem uso desta técnica.

A AAS é uma técnica espectrométrica óptica atômica baseada na medida da absorção específica de energia por átomos livres, gasosos, no estado fundamental. A transformação do analito, presente na amostra, em átomos livres é proporcionada pela utilização de diferentes tipos de atomizadores. Os atomizadores mais utilizados na AAS são: uma chama formada pela combinação de diferentes combustíveis e oxidantes, na espectrometria de absorção atômica com chama (F-AAS); enquanto na espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (ET-AAS) diferentes tipos de atomizadores eletrotérmicos são empregados, tais como o forno de grafite na GF-AAS ou o tubo de quartzo aquecido na espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG-AAS). Os diferentes modos de se produzir o vapor atômico (atomização) a partir da amostra são que definem as técnicas de absorção atômica (chama, geração de hidretos, vapor frio e forno de grafite) (Welz & Sperling, 1999; Skoog et al., 2002).

Neste estudo foram empregadas duas técnicas de atomização da AAS para se determinar as concentrações dos elementos nas amostras de fígado e rins dos cetáceos da costa brasileira. A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF-AAS) foi utilizada para se determinar as concentrações totais de Se, Cu, As, Cd, Ag e Pb, enquanto a espectrometria de absorção atômica com vapor frio (CV-AAS) foi utilizada para se determinar a concentração de mercúrio total e orgânico (Hg e Hg_{Org}) nestas amostras.

3.1.1. A técnica do forno de grafite

O uso de um forno de grafite como atomizador foi proposto por Bóris V. L'vov, em 1959. Este forno baseou-se naquele projetado inicialmente por King, em 1905. A idéia de L'vov era que a amostra deveria ser completamente vaporizada e atomizada, e a absorvância total, associada devida ao elemento de interesse, usada para a quantificação do mesmo. L'vov, já em 1956, havia tido contato com o artigo de Walsh, que fora enviado ao seu chefe para uma revisão. Desde então, tornou-se “encantado por este elegante método para toda a vida” (Welz & Sperling, 1999).

A Figura 1a mostra o forno original de L'vov. Este consistia em um tubo de 10cm de comprimento, internamente revestido com uma folha de Ta, para evitar a difusão dos átomos através das paredes do tubo. A amostra era colocada em um eletrodo de grafite móvel e, entre este eletrodo e o tubo de grafite, era aplicada uma diferença de potencial. Assim, quando o eletrodo se aproximava do tubo, formava-se um arco elétrico, vaporizando a amostra, enquanto o tubo era, ao mesmo tempo, aquecido pelo efeito joule, pela passagem de uma corrente elétrica ao longo de seu comprimento. Todo o conjunto era montado numa câmara contendo argônio, e janelas de quartzo permitiam a passagem de radiação. Com este arranjo, L'vov atingiu limites de detecção entre 10^{-10} e 10^{-14} g, diversas ordens de grandeza melhores do que os obtidos até então pela chama (primeira técnica de atomização a ser desenvolvida na AAS). Posteriormente, L'vov utilizou o aquecimento Joule, tanto para o tubo como para a amostra, além de diminuir as dimensões do forno. Outra novidade foi a utilização do grafite pirolítico, menos poroso e mais denso do que o grafite eletrolítico, no lugar da folha de Ta (Welz & Sperling, 1999).

Na Figura 1b também está representado o forno de Massmann, que surgiu em 1967. O forno de Massmann representou um grande avanço para o desenvolvimento de um atomizador eletrotérmico que pudesse ser usado em aparelhos comerciais. O forno, mostrado na Figura 1b, consistia numa versão compacta do aparelho de King, aquecido pelo efeito Joule. Um tubo de grafite, de 50mm de comprimento, aquecido pela aplicação de uma corrente muito alta (500A), a baixa voltagem (10V), permitia uma gradação muito fina de

temperatura e, portanto, a seleção de condições de temperaturas ótimas para a atomização de cada elemento. O tubo de Massmann não era montado em uma câmara de argônio e, portanto, tinha de ser submetido a um fluxo constante de um gás inerte. Uma amostra (0,5 mg de sólido ou 50 μL de solução) era introduzida no tubo através de um furo. A temperatura do forno era aquecida em etapas, de modo que o solvente e os concomitantes mais voláteis fossem eliminados de se proceder ao aquecimento final, capaz de levar o analito à atomização. Com este forno, Massmann obteve limites de detecção cerca de 10 vezes piores que os obtidos por L'vov. A razão disto pode ser atribuída ao fluxo de gás inerte, que nos aparelhos modernos, pode ser interrompido na etapa da atomização. Além disso, o aquecimento resistivo é mais lento do que o arco (Welz & Sperling, 1999).

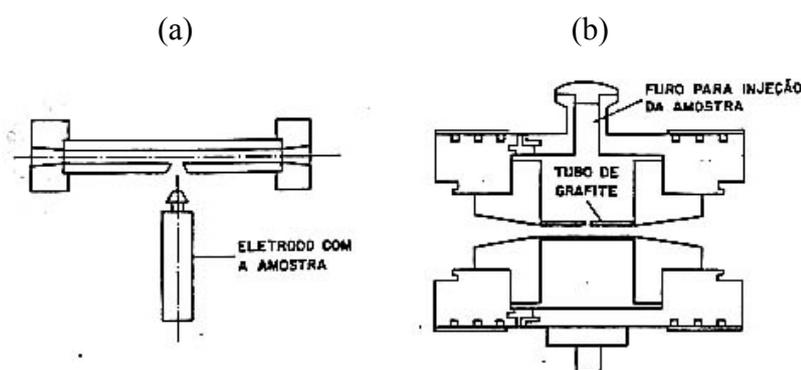


Figura 1. Representação do forno original de L'vov (a) e do Forno de Massmann (b) (Modificado de Welz & Sperling, 1999).

Uma série de outros autores propôs dispositivos alternativos de atomização, mas o modelo de Massmann é o que foi adotado pelos fabricantes e introduzido comercialmente em 1970, como um acessório dos instrumentos de absorção atômica em chama (Welz & Sperling, 1999). Porém, logo em seguida, os fabricantes dos instrumentos reconheceram o erro ao vender o forno como um acessório de instrumentos desenhados e planejados para trabalhos em chama. O sinal de absorção no forno de grafite, medido durante a etapa de atomização, era

muito rápido e aqueles instrumentos não proporcionavam respostas reais do pico de absorção. Além disso, as medidas de absorvância em altura de pico, dependiam da cinética de atomização e das condições do grafite, não sendo, portanto, reprodutivas. O forno possuía características não isotérmicas, que aumentavam as interferências. Estes equívocos foram, então, sendo corrigidos, com o tempo (Welz & Sperling, 1999).

Na técnica do forno de grafite, o aquecimento resistivo pode ser variado pelo controle da corrente elétrica, de modo que podem ser conseguidas temperaturas até o limite de resistência do grafite, em torno de 3000 °C. Geralmente, o aquecimento ocorre em três etapas: a secagem, em torno da temperatura de ebulição do solvente, a pirólise, que é usada para destruir a matriz, sem perder o elemento a ser determinado e que, portanto, depende da matriz e do elemento e a atomização. O forno é aquecido mais lentamente até a secagem e até a pirólise (rampas), mas tão rapidamente quanto possível no passo de atomização. A absorvância é medida durante a atomização. Cada estágio pode ser constituído de mais de uma etapa de temperatura. Uma etapa final de limpeza é também aconselhada (ver Figura 2).

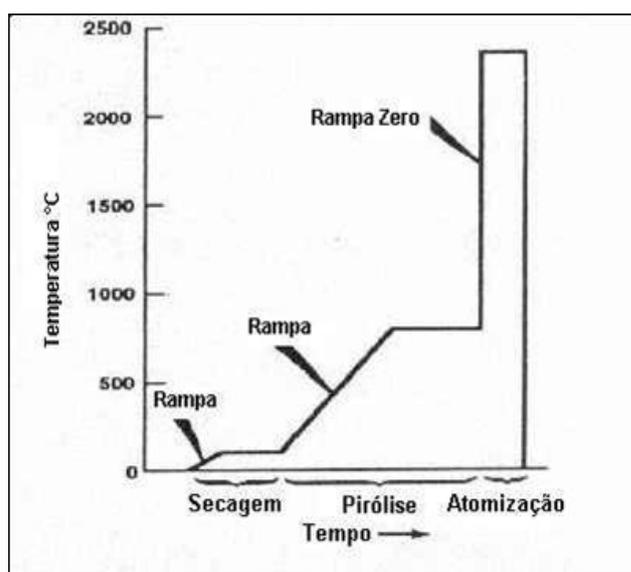


Figura 2. Programa de temperatura do forno de grafite (modificado de Seixas, 2004).

Entre as vantagens do forno de grafite podem ser citadas: a alta sensibilidade, a pequena quantidade de amostra requerida (5-100 μL), a possibilidade de se analisar amostras de outro modo difíceis de lidar com a nebulização pneumática, a possibilidade de se analisar amostras sólidas diretamente, sem solubilização prévia e, usando-se um amostrador automático, a possibilidade de automação, com o funcionamento sem a presença do operador. Em relação à técnica de chama, os limites de detecção melhoram de várias ordens de grandeza (Welz & Sperling, 1999). Entretanto, o tempo de análise e as chances de interferência são bem maiores. Estas interferências ocorrem porque não só o analito, mas também os componentes da matriz estão mais concentrados no interior do forno; daí, a importância da etapa de pirólise onde se tenta simplificar ao máximo a matriz para que, no momento da atomização, as chances de interferência sejam minimizadas.

As dificuldades de controle das interferências, quase provocaram o abandono da técnica, mas em 1981, foi introduzido por Slavin o conceito STPF (*Stabilized Temperature Platform Furnace*) que, se seguido, leva ao sucesso da análise (Welz & Sperling, 1999). O conceito STPF consiste, fundamentalmente em:

- (i) Proceder a atomização em uma atmosfera isotérmica no tempo e no espaço, o que pode ser conseguido pelo aquecimento rápido do forno no momento da atomização (rampa “zero”), pelo uso da plataforma de L'vov e, mais recentemente, pelo aquecimento transversal do forno;
- (ii) Uso de modificadores químicos, que são agentes que buscam ajudar na simplificação da matriz previamente à atomização; os modificadores podem atuar aumentando a volatilidade da matriz ou, mais frequentemente, aumentando a estabilidade térmica do analito, permitindo maiores temperaturas de pirólise;
- (iii) Uso de correção de fundo mais eficiente, como o corretor Zeeman;
- (iv) Integração do sinal de absorção (leitura em área); como se trata de um sinal transiente (Figura 3), a leitura em área evita a influência da cinética de atomização, desde que realizada por um sistema de leitura suficientemente rápido (10 a 20 ms);

- (v) Uso do “stop-flow”, isto é, fluxo zero do gás de proteção (geralmente argônio) durante a etapa de atomização, o que aumenta o tempo de residência do vapor do analito no caminho ótico, com aumento conseqüente da sensibilidade e aproxima o forno das condições de isothermicidade;
- (vi) Uso de tubo de grafite recoberto com grafite pirolítico, mais inerte e menos poroso ao vapor atômico (Welz & Sperling, 1999).

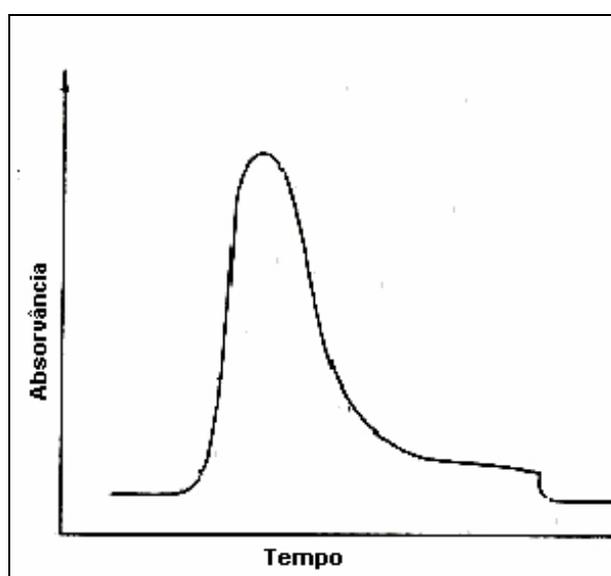


Figura 3. Pulso de absorção: Absorvância x Tempo (modificado de Seixas, 2004).

Hoje em dia, a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF-AAS) tornou-se uma das técnicas mais bem estabelecidas para a determinação rotineira de elementos-traço em amostras biológicas ou ambientais, devido, principalmente, à sua alta sensibilidade, precisão, exatidão e simplicidade (Srogi, 2008; Welz & Sperling, 1999). Entretanto, para bons resultados, o analista sempre deve estar atento a problemas de interferência, checando alguns resultados por adição de analito, por exemplo. O forno apresenta ainda a possibilidade da análise direta de sólidos ou de suspensões, o que contorna a etapa de abertura de

amostras, evitando os riscos de contaminação ou perdas e a diluição a ela associadas.

3.1.2.

A técnica do vapor frio

Atualmente, o método analítico, baseado na espectrometria de absorção atômica (AAS), mais amplamente utilizado para a determinação de concentrações traço de mercúrio em uma grande variedade de matrizes, é aquele conhecido como vapor frio (CV-AAS) (Srogi, 2008).

Esta técnica é específica para a determinação de mercúrio, pois, este é o único elemento metálico cuja forma atômica (Hg^0) está presente na forma de vapor à temperatura ambiente. Assim, o método se baseia na redução, que normalmente utiliza o cloreto estanoso ou borohidreto de sódio da forma iônica mais oxidada, Hg^{2+} a Hg^0 (vapor) que é arrastado por um gás inerte para a célula de absorção, um tubo cilíndrico de vidro, com janelas de quartzo, postado longitudinalmente no caminho ótico do equipamento de absorção atômica. Como o elemento já chega à célula de absorção na forma atômica, esta não necessita ser aquecida. Daí, ser chamada técnica do “vapor frio” (Welz & Sperling, 1999).

Nos aparelhos atuais, o mercúrio é reduzido pela adição de cloreto estanoso ou borohidreto de sódio, e arrastado da fase líquida para fase vapor por borbulhamento da solução com ar ou nitrogênio, ou agitando-a fortemente. Uma montagem para a técnica do vapor frio é mostrada na Figura 4. No caso de aeração ter sido realizada por agitação, o gás carreador não precisa, necessariamente, borbulhar a solução. Não há diferença de sensibilidade entre os dois procedimentos. Mas, no caso do borbulhamento é importante o uso de um tubo dessecante (geralmente com perclorato de magnésio), a fim de evitar condensação de água nas paredes da célula. Alternativamente, a célula de absorção pode ser aquecida a uns 200 °C, evitando, assim, qualquer condensação de vapor d’água. A célula de absorção deve ter janelas de quartzo, em função do comprimento de onda utilizado (253.7 nm), embora um tubo T, sem janelas, também possa ser utilizado. O fluxo de gás carreador (de 0,1 a 0,5 L min⁻¹) e o tempo de agitação, se for o caso, devem ser otimizados. A agitação deve ser bem

intensa, de modo a garantir que o equilíbrio $\text{Hg}_{(l)} \leftrightarrow \text{Hg}_{(v)}$ seja alcançado, dentro de frasco de reação, para só depois haver a transferência do Hg para a célula de absorção, garantindo, assim, leituras reprodutivas (Welz & Sperling, 1999).

Na técnica do vapor frio, a leitura deve ser realizada em altura de pico, uma vez que o tempo de integração teria que ser excessivamente longo para conter todo o pico. Melhores limites de detecção podem ser encontrados utilizando-se a pré-concentração por amalgamação: uma armadilha consistindo de uma rede de ouro é postada entre o tubo de reação e a célula de absorção; o mercúrio gerado no frasco de reação é amalgamado pelo ouro; a operação pode ser repetida várias vezes, acumulando-se na rede do ouro mais mercúrio a cada ciclo. O mercúrio concentrado na rede de ouro é, então, liberado pelo aquecimento da armadilha. Limites de detecção da ordem de $0,001 \text{ ng mL}^{-1}$ são assim relatados (Welz & Sperling, 1999).

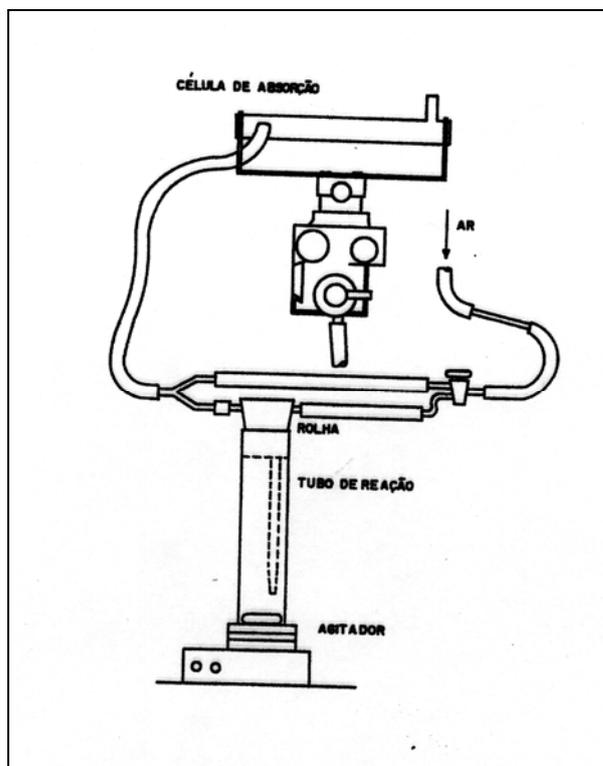


Figura 4. Esquema de um sistema para determinação de mercúrio pela técnica de vapor frio.

Muitas vezes, o mercúrio pode ser apresentar em solução na forma inorgânica (Hg^{2+}), ou na forma de diversos derivados organomercuriais, sendo o mais importante deles, do ponto de vista toxicológico e ambiental, o metil-mercúrio, HgCH_3^+ . É interessante observar que o cloreto estano, em meio ácido, é capaz de reduzir somente o íon Hg^{2+} e alguns organomercuriais. O metil-mercúrio não é reduzido pelo cloreto estano em meio ácido. A redução completa dos organomercuriais pode ser alcançada pela utilização do cloreto estano em meio básico, na presença de cloreto de cádmio, ou pela utilização de um redutor mais enérgico, como o borohidreto de sódio (Welz & Sperling, 1999).

O uso de sistemas em fluxo, automatizados, se tornou bastante popular na técnica do vapor frio, poupando o tempo do analista, diminuindo os riscos de contaminações e aumentando a repetibilidade das operações, o que leva a melhores limites de detecção. A especificidade do comportamento do mercúrio, permitindo o uso de uma célula de absorção fria, e principalmente, a importância ambiental deste elemento, têm levado os fabricantes a oferecer ao mercado equipamentos exclusivos para a determinação de mercúrio. Em geral, nestes casos, são equipamentos com uma célula de absorção de caminho óptico mais longo, de modo a aumentar a sensibilidade, que utilizam lâmpadas de descarga de mercúrio como fonte primária de radiação, mais potentes, diminuindo, assim, o nível de ruído, com detectores de estado sólido e sistema de fluxo acoplado. Estes equipamentos apresentam limites de detecção bem mais baixos (Welz & Sperling, 1999).

No presente estudo, a espectrometria de absorção atômica com vapor frio, acoplado a um sistema de injeção em fluxo (FI-CV-AAS) e equipado com um sistema automático de amostragem líquida, utilizando como agente redutor, uma solução 0,2% (m/v) de borohidreto de sódio em 0,05% (m/v) de hidróxido de sódio (Kehrig et al., 2008), foi o método analítico utilizado para a determinação de mercúrio total e mercúrio orgânico nos órgãos das espécies de cetáceos estudadas.

4

Materiais e Métodos

4.1. Áreas de estudo

Neste estudo, foram analisadas amostras de fígado e rins de cetáceos marinhos que apresentam diferenças na preferência alimentar e habitam distintas regiões marinhas da costa brasileira. Os indivíduos de cetáceo utilizados neste estudo pertencem a populações que estão nos limites com o Large Marine Ecosystem 14 (Patagonia) e o Large Marine Ecosystem 16 (East Brazil shelf).

A costa brasileira pode ser dividida em duas grandes áreas, de acordo com as características climáticas e suas regiões marinhas correspondentes: tropical (5°N - 23°S) e subtropical (23°S - 35°S) (Palacio, 1982; UNEP, 2004).

Os indivíduos de diferentes espécies de cetáceos empregados neste estudo são provenientes de capturas acidentais em redes de pesca e de encalhes ao longo do litoral norte do estado do Rio de Janeiro (região tropical; SE) e do litoral do estado do Rio Grande do Sul (região subtropical; S) (Figura 5).

Os limites geográficos da costa norte do Rio de Janeiro estão entre a localidade de Barra do Itabapoana (21°18'S), e o município de Macaé (22°25'S) (Figura 5) (Meuhe & Valentine, 1998). Na área do porto de Atafona (21°37'S) as redes de espera são amplamente utilizadas por embarcações sediadas neste local. De modo geral, o campo de pesca dessas embarcações está compreendido entre os limites da costa norte do estado do Rio de Janeiro e as redes de espera são lançadas de menos de uma (1) a cerca de 42 milhas náuticas (aproximadamente 77,8 km) da linha da costa, em profundidades que variam entre 5 e 70 m (Di Benedetto, 2003). A região norte da costa do estado do Rio de Janeiro está permanentemente sob influência do rio Paraíba do Sul, que é o mais importante influxo fluvial desta área (Meuhe & Valentine, 1998).

O litoral do estado do Rio Grande do Sul possui como limites geográficos a fronteira com o estado de Santa Catarina (27°04'S) ao norte e o Uruguai (33°45'S) ao sul. Os indivíduos desta região foram coletados em águas costeiras que vão da cidade de Rio Grande (32°02'S) até o Arroio Chuí (33°45'S), que é o ponto mais

meridional do Brasil, e está situado no extremo Sul do estado do Rio Grande do Sul, na fronteira com o Uruguai (Figura 5).

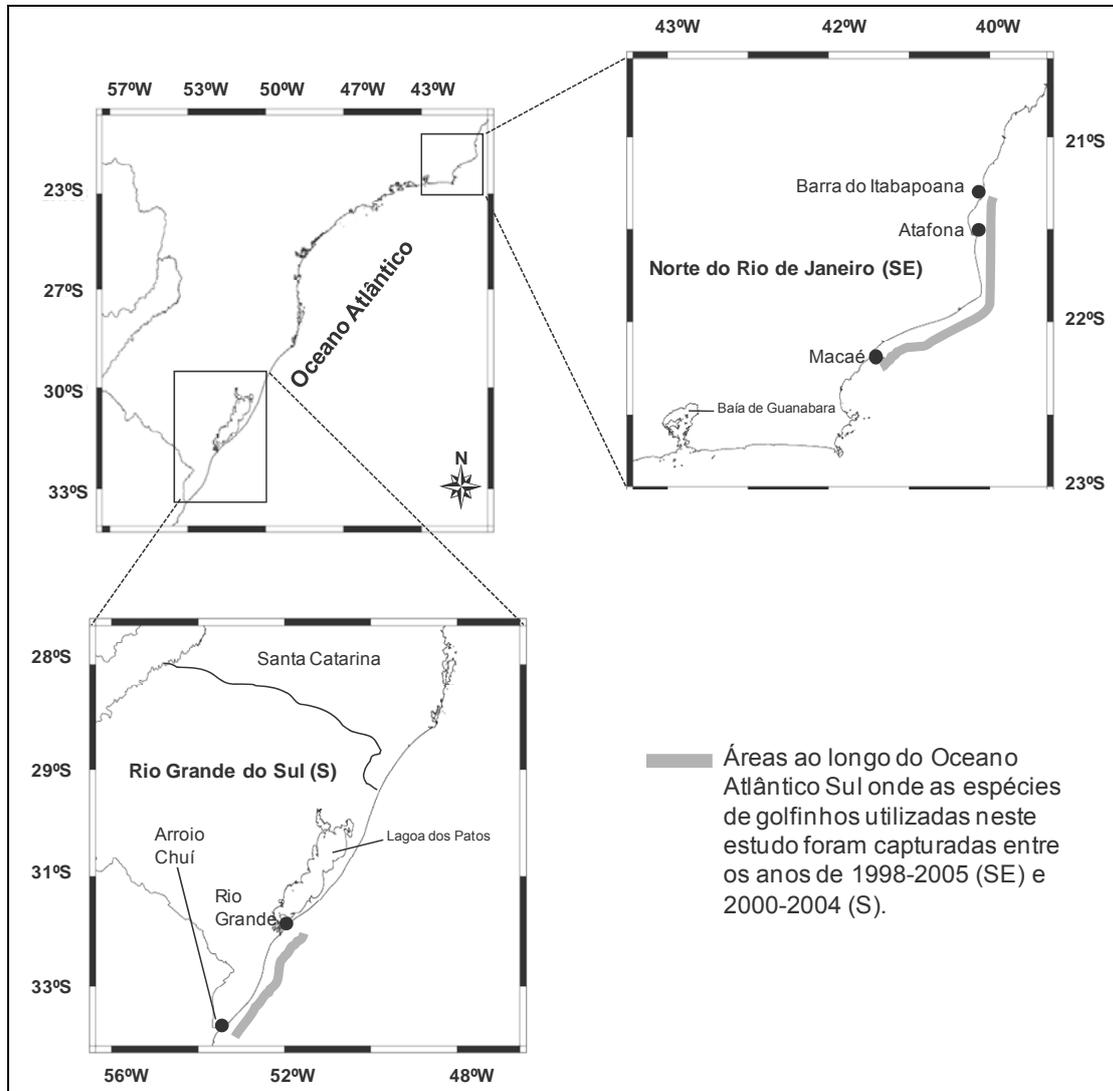


Figura 5. Áreas de captura acidental das espécies de golfinhos.

As amostras provenientes do litoral norte do estado do Rio de Janeiro (SE) foram fornecidas pelo Banco de Espécies Biológicas do Centro de Biociência e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Estas correspondem a amostras de fígado e rins de 18 indivíduos da espécie *P. blainvillei*, 19 indivíduos de *S. guianensis* e 2 indivíduos da espécie *S.*

frontalis, que foram coletadas pelos pesquisadores do Laboratório de Ciências Ambientais entre os anos de 1998 a 2005. Enquanto, as amostras provenientes do litoral do estado do Rio Grande do Sul (S), foram fornecidas pelo Banco de Amostras de Mamíferos Marinhos do Departamento de Oceanografia da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), correspondendo a amostras de fígado e rins de 13 indivíduos da espécie *P. blainvillei* e amostras de fígado de 3 indivíduos da espécie *S. coeruleoalba* e de 2 indivíduos da espécie *S. frontalis*. Os indivíduos das três espécies de golfinhos foram coletados, durante os anos de 2000, 2003 e 2004, pelos pesquisadores do Laboratório de Tartarugas e Mamíferos Marinhos, do Departamento de Oceanografia e do Museu Oceanográfico “Professor E.C. Rios”.

Nas Tabelas 3 e 4 são apresentados os parâmetros biológicos dos indivíduos de *P. blainvillei* e *S. guianensis*. Os indivíduos de *S. frontalis* empregados neste estudo abrangeram um total de quatro indivíduos, sendo dois deles oriundos do Norte Fluminense com comprimentos totais de 145 cm (fêmea) e 170 cm (macho) e, os outros dois, coletados na costa do Rio Grande do Sul. Nesta última região, não são conhecidos os parâmetros biológicos (comprimento total e sexo) dos indivíduos de *S. frontalis* (N = 2) e de *S. coeruleoalba* (N = 3).

4.2. Descrição das espécies estudadas

4.2.1. *Pontoporia blainvillei* (Gervais & D’Orbigny, 1844)

A espécie *Pontoporia blainvillei*, conhecida como franciscana, é um pequeno cetáceo endêmico de águas costeiras do Oceano Atlântico Sul Ocidental. Sua área de distribuição está compreendida entre Itaúnas (18°25’S), no sudeste Brasileiro (Siciliano, 1994) até o Golfo de São Matias (42°10’S), Península Valdés, na Argentina (Crespo et al., 1998) (Figura 6).



Figura 6. Distribuição geográfica (destacada em verde) da espécie *Pontoporia blainvillei* na costa leste da América do Sul (modificado de Crespo, 2002).

A franciscana está incluída na categoria “insuficientemente conhecida” na lista de espécies de cetáceos da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN, 1991), embora Perrin & Brownell (1989) tenham recomendado que ela seja classificada como “vulnerável”. Esta espécie encontra-se também, listada na Lista Oficial de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção (Bernardes et al., 1989) e no Livro Vermelho dos Mamíferos Brasileiros Ameaçados de Extinção (Fonseca et al., 1994).

P. blainvillei (Figura 7) ocupa os mais elevados níveis tróficos da cadeia alimentar marinha e habita principalmente águas rasas com até 30 m de profundidade (ou um pouco mais) (Secchi et al., 2003) e, bem próximas à linha da costa (em torno de 30 milhas náuticas; aproximadamente 55,6 km) (Bordino et al., 2002), tornando-se particularmente vulnerável às atividades antropogênicas, principalmente aquelas relacionadas a capturas acidentais em redes de pesca (Di Benedetto, 2003; Secchi et al., 2003). Esta espécie apresenta longevidade em torno de 20 anos (Pinedo et al., 1989), mas a maioria dos indivíduos registrados a partir de encalhes ou capturas acidentais em pescarias não ultrapassa 10 anos de idade (Basso, 2005).

P. blainvillei possui uma distribuição restrita em áreas costeiras e nas proximidades de estuários e, alimenta-se preferencialmente de pequenos peixes ósseos (de até 10 cm) e cefalópodes, seguidos de crustáceos peneídeos (Di Benedetto & Ramos, 2001; Danilewicz et al., 2002). Segundo Di Benedetto*, a *P. blainvillei* é considerada uma espécie predominantemente piscívora.

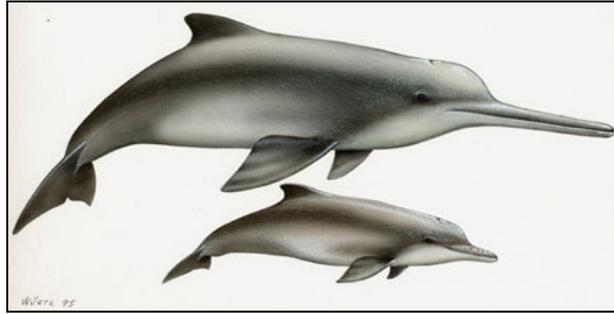


Figura 7. *Pontoporia blainvillei* (desenhado por Wurtz-Artescienza) (Adaptado de www.cms.int).

Informações sobre a estrutura populacional de *P. blainvillei* vêm sendo acumuladas consideravelmente nos últimos dez anos, embora ainda haja muito para ser compreendido sobre as divisões populacionais da espécie. A primeira evidência de que a franciscana subdivide-se em mais de uma população ao longo de sua distribuição geográfica foi apresentada por Pinedo (1991). Baseada em análise discriminante de caracteres osteológicos, a autora diferenciou duas formas geográficas da espécie: uma forma norte, de tamanho menor (de 120 a 150 cm), ocorrendo do Estado de Santa Catarina até o Espírito Santo; e uma forma sul, de tamanho maior (de 140 a 170 cm), ocorrendo do Rio Grande do Sul até a Argentina. Posteriormente, através do seqüenciamento de uma região controle do DNA mitocondrial de animais do Rio Grande do Sul e do Rio de Janeiro, Secchi et al. (1998) apresentaram evidências genéticas que pelo menos estas duas regiões representam populações distintas de *P. blainvillei*.

* Di Benedetto, A.P.M., (Centro de Biociência e Biotecnologia, UENF, Campus Campos dos Goytacazes) Comunicação pessoal, 2008.

Franciscanas da costa do estado do Rio de Janeiro (SE) atingem sua maturidade sexual quando estão com aproximadamente 2 anos de idade e 115 cm (machos) ou 3 anos de idade e 130 cm de comprimento (fêmeas) (Di Benedito & Ramos, 2001). Enquanto, indivíduos da costa do Estado do Rio Grande do Sul (S) atingem sua maturidade sexual quando estão com 4 anos de idade e cerca de 130 cm de comprimento (machos) ou 6 anos de idade e cerca de 146 a 152 cm de comprimento (fêmeas) (Barreto & Rosas, 2006).

As amostras utilizadas neste estudo abrangeram indivíduos sexualmente maduros e imaturos com comprimentos totais que variaram de 68 a 147 cm (SE) e 99,5 a 153,5 cm (S). Indivíduos do sexo masculino (65 %) e sexualmente imaturos (71 %) predominaram em ambas as amostras (Tabela 3).

Tabela 3. Dados biológicos de *Pontoporia blainvillei* acidentalmente capturadas ao longo da costa norte do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S).

Região	Maturidade sexual	Sexo	Número de indivíduos	Comprimento total (min – máx em cm)
SE	Imaturo	Macho	8	82,0 – 113,0
		Fêmea	4	68,0 – 107,0
	Maduro	Macho	3	116,0 – 123,0
		Fêmea	2	135,0 – 147,0
	Nº total de indivíduos	Não identificado	1	103,0
			18	68,0 – 147,0
S	Imaturo	Macho	6	101,0 – 126,0
		Fêmea	4	99,5 – 132,2
	Maduro	Macho	2	130,0 – 133,0
		Fêmea	1	153,5
	Nº total de indivíduos			13

4.2.2. *Sotalia guianensis* (van Bénédén, 1862)

A espécie *Sotalia guianensis*, conhecida como boto-cinza, é um pequeno cetáceo que vive em águas costeiras e estuarinas, desde Honduras (14°N), na América Central, até o Sul do Brasil (27°S) (Figura 8) (Di Benedetto & Siciliano, 2007). *Sotalia guianensis* diferencia-se da espécie *Sotalia fluviatilis*, cuja distribuição é observada ao longo da América Central e América do Sul, inclusive na bacia Amazônica (Borobia et al., 1991). Ambas espécies foram recentemente diferenciadas, partindo-se do complexo taxonômico *Sotalia fluviatilis*, que agregava ambas espécies, como morfotipos diferenciados.



Figura 8. Distribuição geográfica (destacada em verde; no litoral) da espécie *Sotalia guianensis* (Adaptada do site www.cms.int).

A *Sotalia guianensis* (Figura 9) é um pequeno cetáceo de vida longa (em torno de 30 anos) (Di Benedetto & Ramos, 2004) com hábito tipicamente costeiro e também, é simpátrico no Sudeste do Brasil. Nesta região, principalmente na costa norte do estado do Rio de Janeiro (21°35'S – 22°25'S), esta espécie vem sofrendo os impactos da atividade pesqueira, em que as redes de pesca são responsáveis pela captura acidental de indivíduos desta espécie de cetáceo. Porém, não existe uma competição entre os pescadores e os pequenos cetáceos, uma vez

que há uma seleção, por parte dos pescadores, na captura de peixes de interesse comercial (Di Benedetto & Ramos, 2001).

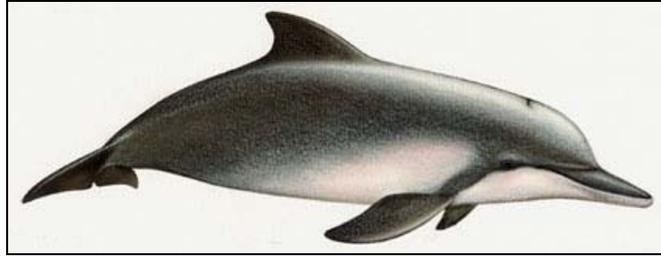


Figura 9. *Sotalia guianensis* (desenhado por Wurtz-Artescienza) (Adaptado de www.cms.int).

Os peixes, com comprimento entre 32 até 107 cm, são as principais presas da *Sotalia guianensis* com importância relativa muito superior as demais espécies de peixes e cefalópodes que habitam a costa norte do Rio de Janeiro (Di Benedetto & Ramos, 2004). As espécies de peixe, *Trichiurus lepturus* (peixe-espada; piscívoro voraz), *Paralanchurus brasiliensis* (maria-luiza; carnívoro de fundo, que alimenta-se de pequenos peixes, crustáceos e moluscos) e *Anchoa filifera* (manjubinha: alimenta-se de animais planctônicos) são as presas preferenciais da espécie *Sotalia guianensis*. A espécie de cefalópode, *Loligo sanpaulensis* (Brakoniecki, 1984: Mollusca: Cephalopoda), denominada de lula, que se alimenta de pequenos peixes, foi a espécie dominante de cefalópode encontrada no conteúdo estomacal do boto-cinza da costa norte do estado do Rio de Janeiro (Di Benedetto & Ramos, 2004). Segundo Di Benedetto*, a *S. guianensis* é considerada uma espécie predominantemente piscívora.

De acordo com a relação entre a idade, o comprimento total e as características reprodutivas, os indivíduos machos são considerados sexualmente maduros quando atingem uma idade igual ou superior a seis anos e um comprimento total igual ou superior a 180 cm; enquanto para as fêmeas, quando

* Di Benedetto, A.P.M., (Centro de Biociência e Biotecnologia, UENF, Campus Campos dos Goytacazes) Comunicação pessoal, 2008.

estas atingem a mesma idade e um comprimento total superior ou igual a 160 cm (Di Benedetto & Ramos, 2004).

As amostras utilizadas neste estudo abrangeram indivíduos sexualmente maduros e imaturos com comprimentos totais que variaram de 86 a 200 cm. Indivíduos do sexo masculino (63%) e sexualmente maduros (68%) predominaram na amostra (Tabela 4).

Tabela 4. Dados biológicos de *Sotalia guianensis* acidentalmente capturados ao longo da costa norte do Rio de Janeiro (SE).

Região	Maturidade sexual	Sexo	Número de indivíduos	Comprimento total (min – máx em cm)
SE	Imaturo	Macho	7	86,0 – 179,0
		Fêmea	-	-
	Maduro	Macho	5	180,0 – 200,0
		Fêmea	8	160,0 – 196,0
	Nº total de indivíduos	Não identificado	1	-
			21	86,0 – 200,0

4.2.3. gênero *Stenella* (Gray, 1866)

O gênero *Stenella* compreende cinco espécies de golfinhos que se distribuem, principalmente, em águas oceânicas tropicais, subtropicais e temperadas de todo o mundo (Moreno et al., 2005). Duas espécies são endêmicas do Oceano Atlântico, Golfo do México e Caribe: *Stenella frontalis* (G. Cuvier, 1829), conhecida como Golfinho-pintado-do-Atlântico; e *Stenella clymene* (Gray, 1850) ou Golfinho-clímene (Fertl et al., 2003). As outras três espécies: *Stenella attenuata* (Gray, 1846) ou Golfinho-pintado-pantropical; *Stenella longirostris* (Gray, 1828) ou Golfinho-rotador e *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833), conhecida como Golfinho-listrado ou Golfinho-riscado, são consideradas espécies cosmopolitas, ou seja, habitam todas as principais bacias oceânicas mundiais (Archer & Perrin, 1999).

Neste estudo foram analisadas somente as amostras de fígado e rins de indivíduos das espécies *S. frontalis* (N=4) (Figuras 10 e 11) e *S. coeruleoalba* (N=3) (Figuras 12 e 13), acidentalmente capturados em áreas costeiras abertas do norte do estado do Rio de Janeiro (SE) e também, do estado do Rio Grande do Sul (S).

Segundo Moreno et al. (2005), a distribuição dos golfinhos do gênero *Stenella* é muito pouco conhecida na porção oeste do oceano Atlântico Sul. Nesta região, duas espécies do gênero, *S. frontalis* (Figura 11) e *S. coeruleoalba* (Figura 13), apresentam uma maior preferência por habitar águas rasas (de 20 a 200 m) e bem próximas à costa (Moreno et al., 2005). A preferência por este tipo de habitat torna essas espécies, particularmente, vulneráveis às atividades antropogênicas, principalmente àquelas relacionadas a capturas acidentais em redes de pesca que, ocasionam, em muitas vezes, a morte de indivíduos cujas carcaças são posteriormente encontradas encalhadas nas areias das praias das regiões estudadas (Di Benedetto)*.

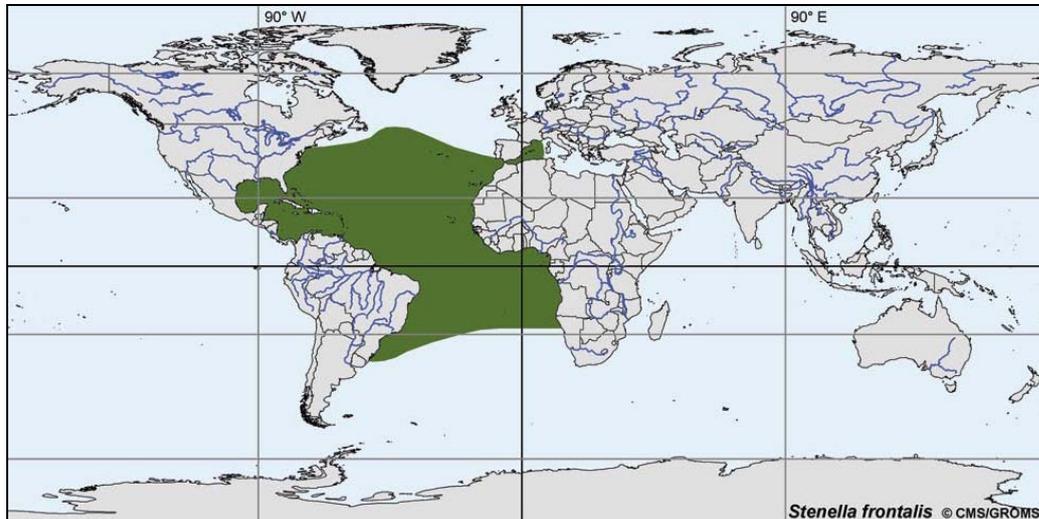


Figura 10. Distribuição geográfica (destacada em verde) da espécie *Stenella frontalis* nas águas tropicais e subtropicais do Oceano Atlântico Sul e nas águas temperadas do Oceano Atlântico Norte (modificado de Perrin et al., 1994).

* Di Benedetto, A.P.M., (Centro de Biociência e Biotecnologia, UENF, Campus Campos dos Goytacazes) Comunicação pessoal, 2008.



Figura 11. *Stenella frontalis* (desenhado por Wurtz-Artescienza) (Adaptado de www.cms.int).

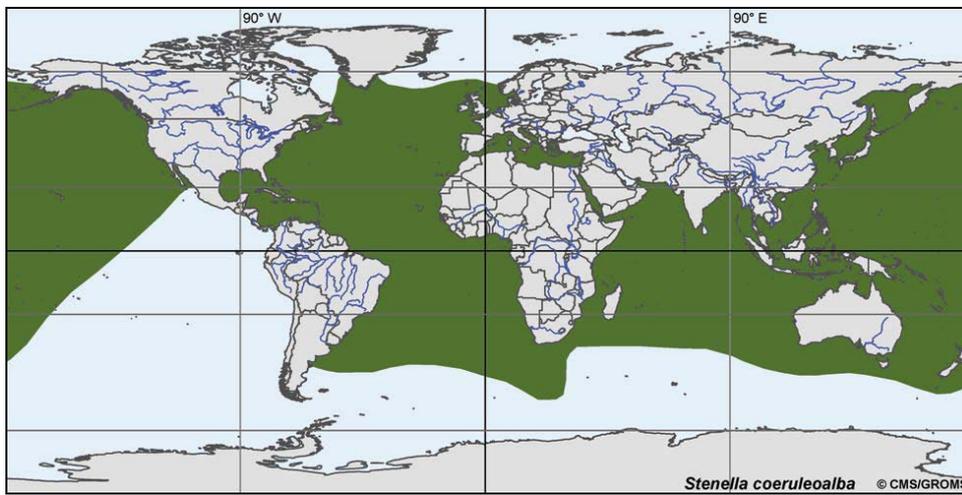


Figura 12. Distribuição geográfica (destacada em verde) da espécie *Stenella coeruleoalba* nas águas tropicais, subtropicais e temperadas ao redor do mundo (modificado de Perrin et al., 1994 e Archer & Perrin, 1999).

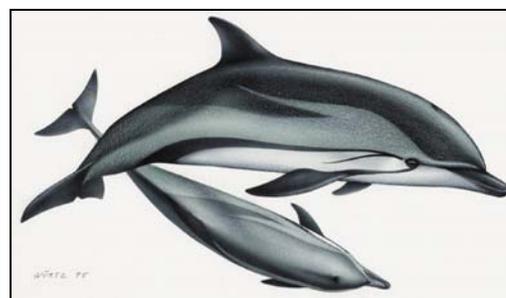


Figura 13. *Stenella coeruleoalba* (desenhado por Wurtz-Artescienza) (Adaptado de www.cms.int).

A análise do conteúdo estomacal de indivíduos da espécie *S. frontalis* indicou que esta pode ser considerada, principalmente, uma espécie teutófaga (Di Benedetto et al., 2001), isto é, que se alimenta preferencialmente de cefalópodes. A presença de lulas na dieta alimentar do gênero *Stenella* foi reportada anteriormente em estudos realizados no Mar Mediterrâneo (Duguy et al., 1979), no Oceano Pacífico Oriental (Robertson & Chivers, 1997) e também, no Sul (Emerim et al., 1996) e sudeste (Di Benedetto et al., 2001) do Brasil, onde nestas últimas áreas, foram identificadas a presença de lulas (da família Loliginidae), em maior quantidade, e de peixes, em menor quantidade no conteúdo estomacal da *S. frontalis*.

Com relação ao hábito alimentar da espécie *S. coeruleoalba*, cefalópodes das famílias Ommastrephidae e Enoploteuthidae foram encontrados no conteúdo estomacal de indivíduos encontrados encalhados na costa do estado de São Paulo (Rosas et al., 2002). Segundo Rosas et al. (2002), estes dois tipos de presa pertencem à espécies oceânicas onde, os cefalópodes da última família fazem parte preferencialmente da dieta alimentar da *S. coeruleoalba*. Este fato reflete, portanto, o hábito pelágico desta espécie de golfinho.

As amostras de fígado e rins de *S. frontalis* utilizadas neste estudo abrangeram um total de quatro indivíduos, sendo dois deles oriundos do Norte Fluminense com comprimentos totais de 145 cm (fêmea) e 170 cm (macho) e, os outros dois, coletados na costa do Rio Grande do Sul. Nessa região, não são conhecidos os parâmetros biológicos (comprimento total e sexo) dos indivíduos de *S. frontalis* (N = 2) e de *S. coeruleoalba* (N = 3), pois não foi possível identificar esses parâmetros no momento da coleta e, apenas as amostras de fígado foram analisadas.

4.3. Preparo das amostras

As sub-amostras de fígado e rins que foram enviadas ao Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca (IBCCF-UFRJ) pelos pesquisadores da UENF e da FURG, em diferentes períodos, foram inicialmente armazenadas a -18 °C. Posteriormente, estas foram liofilizadas utilizando um equipamento Terroni

(São Carlos, Brasil), série LD equipado com uma bomba de vácuo (Figura 14). Neste equipamento pode-se utilizar tanto a câmara de liofilização com fechamento, quanto a torre para balões que são acoplados diretamente ao condensador, que se mantém a $-52\text{ }^{\circ}\text{C}$ e aproximadamente a 0,1 atm.

Após a liofilização, as amostras foram trituradas com o auxílio de um triturador elétrico e posteriormente, foram homogeneizadas, devidamente identificadas e guardadas em frascos de vidro âmbar hermeticamente fechados até ao momento das análises.

Todo o material empregado, tanto no preparo quanto na análise das amostras, sofreu uma descontaminação através de uma prévia lavagem com detergente e água corrente, com posterior imersão em um banho de Extran (10% v/v) por, no mínimo, 24 horas. Decorrido este período, o material foi lavado com água desionizada e colocado em um banho de HNO_3 (15% v/v) por no mínimo 24 horas. Antes de ser usado, todo material foi rinsado com água desionizada ultrapura ($18,2\text{ M}\Omega\text{ cm}$), obtida de um sistema Milli-Q (Millipore, USA), e posteriormente foi seco à temperatura ambiente.



Figura 14. Liofilizador Terroni (série LD) acoplado a uma bomba de vácuo.

4.4. Soluções e reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Ácido nítrico 65% (p/v) (Tedia) foi utilizado tanto na digestão das amostras quanto no preparo das soluções estoque a serem utilizadas no espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite. Soluções estoque de $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb (Titrisol[®], Merck) foram preparadas por diluição com uma solução 0,2% (v/v) de HNO_3 . Água desionizada ultrapura ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$), obtida de um sistema purificador Milli-Q (Millipore, USA) foi usada em todas as diluições. As soluções de trabalho de Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb, foram obtidas a partir da diluição da solução estoque de $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ com uma solução 0,2% (v/v) de HNO_3 (Tedia), que foram preparadas diariamente. Uma solução de $1.500 \mu\text{g mL}^{-1}$ de nitrato de paládio (Merck) foi utilizada como modificador químico nas determinações de Se, As, Cd, Ag e Pb. A mesma foi preparada a partir da diluição, em água desionizada, de uma solução estoque de $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (Merck).

Para as determinações de mercúrio total (Hg_{Tot}) e mercúrio orgânico (Hg_{Org}) no espectrômetro de absorção atômica com vapor frio, uma solução estoque de $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Hg (Merck) foi utilizada. As soluções de trabalho de Hg, foram obtidas a partir da diluição da solução estoque de $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ com soluções a 5% (v/v) de HNO_3 (Tedia) e 0,01% (v/v) de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (Merck) e água ultrapura (q.s.p.), que foram preparadas diariamente. Como recomendação do fabricante, 2 gotas de uma solução 5% (m/v) de KMnO_4 (Merck) foram adicionadas para a estabilização destas soluções, uma solução 3% (v/v) de HCl (Tedia) foi utilizada como solução carreadora e, como agente redutor foi utilizada uma solução 0,2% (m/v) de NaBH_4 em NaOH 0,05% (m/v) (Merck).

4.5. Determinação de Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb nas amostras

As determinações de Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb em amostras biológicas foram realizadas através de um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite Analytik Jena (Jena, Alemanha), modelo AAS ZEE nit 60 equipado com atomizador de grafite aquecido transversalmente e efeito Zeeman como sistema de

correção de fundo (Figura 15). Esse sistema de correção permite variar a intensidade do campo magnético de 0,05 T a 0,80 T.

Neste trabalho, como recomendação do fabricante, a intensidade do campo magnético foi fixada em 0,70 T para a determinação da Ag e 0,80 T para as determinações de Se, As, Cu, Cd e Pb. Um sistema automático de amostragem líquida Analytik Jena (modelo MPE 52) (Figura 15) e tubos de grafite revestidos piroliticamente com plataformas de grafite (PIN, Analytik Jena, part nº 407-152.011) também foram utilizados. Como gás de proteção interna, externa e também, como carreador do vapor atômico do forno de grafite, foi utilizado o argônio (Ar) com 99,96 % de pureza (Aga, Rio de Janeiro, Brasil).

Os parâmetros de operação e as condições instrumentais do AAS ZEE nit 60 foram ajustados de acordo com as recomendações do fabricante. As condições instrumentais e os programas de temperatura e tempo otimizados para a determinação de cada elemento (Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb) em amostras biológicas são apresentados na Tabela 5. Todas as medidas foram realizadas por área de absorvância integrada, utilizando um tempo de integração de 5 segundos, sendo feitas em duplicata e descontados os respectivos brancos.



Figura 15. Espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite Analytik Jena, modelo AAS ZEE nit 60 e sistema automático de amostragem líquida Analytik Jena (modelo MPE 52) acoplado.

Tabela 5. Condições instrumentais e parâmetros analíticos otimizados para a determinação de Se, As, Ag, Cd, Cu e Pb total em amostras biológicas (volume de injeção de 20 µL) por GF-AAS.

	Se	As	Ag	Cd	Cu	Pb
<i>Condições instrumentais</i>						
Comprimento de onda (nm)	196,0	193,7	328,1	228,8	324,8	283,3
Largura da fenda (nm)	1,2	0,5	0,8	0,8	0,8	0,5
Corrente da Lâmpada (mA)	6,0	10,0	4,0	4,0	3,0	8,0
<i>Programas de temperatura</i>						
Secagem						
Temperatura (°C)	90	90	90	90	90	90
Rampa (°C s ⁻¹)	10	10	10	10	10	1
Hold (s)	15	15	10	5	5	10
Fluxo de Argônio	2 L h ⁻¹					
Secagem						
Temperatura (°C)	120	120	105	105	105	120
Rampa (°C s ⁻¹)	15	15	7	7	7	20
Hold (s)	25	25	10	30	30	20
Fluxo de Argônio	2 L h ⁻¹					
Secagem						
Temperatura (°C)	-	-	120	120	120	-
Rampa (°C s ⁻¹)	-	-	10	15	15	-
Hold (s)	-	-	10	10	10	-
Fluxo de Argônio	-	-	2 L h ⁻¹	2 L h ⁻¹	2 L h ⁻¹	-
Pirólise 1						
Temperatura (°C)	500	500	500	-	-	-
Rampa (°C s ⁻¹)	7	7	10	-	-	-
Hold (s)	20	20	20	-	-	-
Fluxo de Argônio	2 L h ⁻¹	2 L h ⁻¹	2 L h ⁻¹	-	-	-
Pirólise 2						
Temperatura (°C)	1200	1200	800	900	1000	900
Rampa (°C s ⁻¹)	30	30	30	1000	400	10
Hold (s)	30	30	30	10	10	20
Fluxo de Argônio	2 L h ⁻¹					
Auto-zero						
Temperatura (°C)	1200	1200	800	900	1000	900
Rampa (°C s ⁻¹)	0	0	0	0	0	0
Hold (s)	6	6	6	6	6	5
Fluxo de Argônio	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero
Atomização						
Temperatura (°C)	2200	2200	1900	1900	2200	2100
Rampa (°C s ⁻¹)	2500	2600	2000	2500	2500	1500
Hold (s)	6	6	3	5	5	2
Fluxo de Argônio	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero
Limpeza						
Temperatura (°C)	2500	2500	2500	2000	2400	2400
Rampa (°C s ⁻¹)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Hold (s)	5	5	4	3	4	4
Fluxo de Argônio	2 L h ⁻¹					

4.5.1. Efeitos de matriz em GF-AAS

A existência de interferências multiplicativas (interferências oriundas da matriz) na determinação de Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb nas amostras de fígado e rins de cetáceos marinhos, utilizando a técnica da espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, geralmente é verificada através do teste de adição de analito. Este teste consiste em se comparar a inclinação da curva obtida pela técnica de adição de analito (em que se adicionam quantidades conhecidas de analito a alíquotas de igual volume de amostra, levando-se sempre a um mesmo volume final) (β_2) com aquela obtida com uma curva analítica preparada com soluções analíticas aquosas, sem a presença da matriz (β_1) (Tabela 6). Em outras palavras, o teste verifica se caso a curva analítica fosse preparada no mesmo meio que a amostra, ela apresentaria uma inclinação diferente daquela observada com soluções analíticas aquosas. Se as inclinações forem semelhantes, pode-se considerar que não há interferência multiplicativa. Aliás, por segurança, este teste deve ser realizado sempre que um novo tipo de amostra é recebido. Porém, o uso da adição de analito intensifica o trabalho, e deve ser utilizado somente se estritamente necessário (Welz & Sperling, 1999).

A amostra utilizada neste teste foi uma amostra de fígado de cetáceo que passou por todo o procedimento descrito no subitem 4.5.2 e este foi realizado para cada elemento separadamente, antes da determinação dos mesmos em todas as amostras.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6, só houve interferência multiplicativa para a determinação de Pb na amostra estudada. Por essa razão, somente para este elemento (Pb) a adição de analito foi utilizada como técnica de calibração para a determinação deste elemento nas amostras de fígado e rins de cetáceos marinhos. Esta técnica foi empregada também por outros autores na determinação de Pb em amostras de tecido muscular de peixe (Sures et al., 1995) e tecidos moles de mexilhão (Maia et al., 2006), utilizando a técnica da espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF-AAS).

A curva analítica em meio aquoso, que é uma técnica de calibração mais simples e mais rápido, foi portanto, utilizada para a determinação dos demais elementos (Se, As, Cu, Ag e Cd) nas amostras de fígado e rins de cetáceos marinhos por GF-AAS.

Tabela 6. Inclinações correspondentes à calibração aquosa (β_1) e a calibração por adição de analito (β_2) para a determinação de elementos-traço em amostras de fígado de cetáceos marinhos.

<i>Elemento</i>	<i>β_1 ($A \mu\text{g}^{-1} L^{-1}$)</i>	<i>β_2 ($A \mu\text{g}^{-1} L^{-1}$)</i>
As	$3,00 \times 10^{-3}$ (0,9981) ^a	$3,20 \times 10^{-3}$ (0,9936) ^a
Se	$3,10 \times 10^{-3}$ (0,9994) ^a	$3,20 \times 10^{-3}$ (0,9936) ^a
Cu	$5,60 \times 10^{-3}$ (0,9999) ^a	$6,00 \times 10^{-3}$ (0,9910) ^a
Ag	$1,90 \times 10^{-2}$ (0,9978) ^a	$1,92 \times 10^{-2}$ (0,9909) ^a
Cd	$3,32 \times 10^{-2}$ (0,9998) ^a	$3,20 \times 10^{-2}$ (0,9884) ^a
Pb	$6,90 \times 10^{-3}$ (0,9992) ^a	$1,80 \times 10^{-3}$ (0,9958) ^a

^a O coeficiente de correlação múltipla (R^2) está apresentado entre parênteses.

4.5.2. Procedimento analítico para a determinação de Se, As, Cu, Cd, Ag e Pb nas amostras de fígado e rins dos cetáceos marinhos por GF-AAS

Sub-amostras (2 replicatas) de aproximadamente 0,1 g de amostra seca de fígado e rins de cetáceos marinhos sofreram uma pré-digestão ácida em sistema fechado por 12 h com 2,0 mL de HNO₃ 65% (m/v) (Tedia). Posteriormente, os tubos Pirex[®] fechados foram aquecidos por cerca de 2 h a 60 °C em banho-maria, até que fossem observadas soluções amarelas e límpidas. Após o resfriamento, alíquotas de 200 μL das soluções das amostras digeridas foram completadas a um volume de 1,0 mL com água desionizada. Então, 20 μL das amostras pré-diluídas e 7 μL de uma solução de modificador químico (Pd, para as determinações de Se, As, Cd, Ag e Pb) foram sequencialmente introduzidos no forno de grafite, com o auxílio do sistema automático de amostragem líquida (Seixas et al., 2007b) e, os programas otimizados de temperatura para cada elemento-traço (Tabela 5) foram, então, executados. Para se verificar a pureza dos reagentes e a existência de qualquer contaminação, dois brancos analíticos (sem a “presença” dos analitos) foram preparados a cada batelada e analisados conforme o procedimento descrito anteriormente. Da mesma forma, foram tratados os materiais de referência certificados (CRM) para a análise de elementos-traço do National Research Council – Canadá (DORM-2 – amostra de tecido muscular de tubarão; DOLT-2 – amostra de fígado de tubarão e TORT-2 – hepatopâncreas de lagosta) que foram

utilizados para checar a exatidão dos métodos analíticos aplicados. Os resultados foram obtidos a partir das médias de pelo menos duas medidas de cada amostra pré-diluída (branco analítico, CRM e amostras de fígado e rins de cetáceos) cujos coeficientes de variação (C.V.) foram sempre inferiores a 10 % (Seixas et al., 2008).

4.6. Determinação de Hg_{Tot} e Hg_{Org} nas amostras

As determinações de mercúrio total (Hg_{Tot}) e mercúrio orgânico (Hg_{Org}) nas amostras biológicas foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com vapor frio, modelo FIMS 400 (Perkin Elmer), acoplado a um sistema de injeção em fluxo, modelo FIAS 400 (Perkin Elmer) e, equipado com um sistema automático de amostragem líquida, modelo AS 90 (Perkin Elmer) (Figura 16). O argônio (Ar) com uma pureza de 99,998 % (Aga, Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado como gás carreador em uma vazão de 75 mL min^{-1} (Kehrig et al., 2008). Como célula de absorção foi utilizada uma célula de quartzo com diâmetro interno de 1,0 mm e comprimento de 110,0 mm. Uma lâmpada de catodo oco de mercúrio, operando a 4,0 mA, no comprimento de onda de 253,7 nm, e uma fenda de 0,7 nm foram utilizadas nas medidas. As medidas foram realizadas por altura de pico de absorvância, utilizando um tempo de integração de 15 segundos, sendo feitas em duplicata e descontados os respectivos brancos.



Figura 16. Espectrômetro de absorção atômica com vapor frio, modelo FIMS 400 (Perkin Elmer), associado a um sistema de injeção em fluxo, modelo FIAS 400 (Perkin Elmer) e equipado com um sistema automático de amostragem líquida, modelo AS 90 (Perkin Elmer).

4.6.1. Procedimento analítico para a determinação de Hg_{Tot} nas amostras de fígado e rins dos cetáceos marinhos por FI-CV-AAS

Para se determinar a concentração de mercúrio total (Hg_{Tot}) nas amostras de fígado e rins de cetáceos, estas sofreram um processo de digestão ácida a quente em sistema aberto. Sub-amostras (2 replicatas) de aproximadamente 0,05 g das amostras secas foram digeridas com 3,0 mL de uma solução sulfo-nítrica ($H_2SO_4:HNO_3$, 1:1 v/v) (Merck p.a.) e 1,0 mL de uma solução concentrada de H_2O_2 (Merck p.a.) em tubos digestores por aproximadamente 45 min em banho-maria a 60 °C. Após o resfriamento, 5,0 mL de uma solução 5% (m/v) de $KMnO_4$ foram adicionados às amostras digeridas que ficaram em repouso por aproximadamente 12 h. A concentração de mercúrio total (Hg_{Tot}) na solução digerida foi determinada por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio acoplada a um sistema de injeção em fluxo, FIAS 400 (Perkin Elmer), empregando-se uma solução 0,2% (m/v) de $NaBH_4$ em $NaOH$ 0,05% (m/v) (Merck) como agente redutor (Kehrig et al., 2006). Para se verificar a pureza dos reagentes e a existência de qualquer contaminação, dois brancos analíticos (sem a “presença” dos analitos) foram preparados a cada batelada e analisados conforme o procedimento descrito por Kehrig et al. (2008). Da mesma forma, foram tratados os materiais de referência certificados (CRM) para a análise de Hg_{Tot} do National Research Council – Canadá (DORM-2 – amostra de tecido muscular de tubarão; DOLT-2 – amostra de fígado de tubarão e TORT-2 – hepatopâncreas de lagosta) que foram utilizados para checar a exatidão do método analítico aplicado. Os resultados foram obtidos a partir das médias de pelo menos duas medidas de cada amostra (branco analítico, CRM e amostras de fígado e rins de cetáceos) cujos coeficientes de variação (C.V.) foram sempre inferiores a 10 %.

4.6.2. Procedimento analítico para a determinação de Hg_{Org} nas amostras de fígado e rins dos cetáceos marinhos por FI-CV-AAS

Neste estudo foram empregadas aproximadamente 0,05 g de amostra seca que foram transferidas para frascos de Teflon de 50 mL hermeticamente fechados juntamente com 5,0 mL de uma mistura de H_2SO_4 (5% v/v) e KBr (18% m/v), e 1,0 mL de uma solução de $CuSO_4$ 1 mol L^{-1} (Merck p.a.). Os frascos foram

deixados à temperatura ambiente por 15 minutos. As espécies orgânicas de mercúrio (Hg_{Org}) nas amostras foram isoladas das espécies inorgânicas por lixiviação ácida (Kehrig et al., 2008). Posteriormente, foram adicionados a cada frasco 10,0 mL de CH_2Cl_2 (Tedia) que foram, então, fechados agitados vigorosamente por 15 minutos e, centrifugados por 5 minutos a 3200 rpm. Em seguida, foi observada a formação de três fases: uma orgânica (superior), uma aquosa (inferior) e uma sólida (Kehrig et al., 2008). Uma alíquota de 1,0 mL da fase orgânica (superior) foi transferida para tubos digestores abertos contendo 5,0 mL de uma mistura $HNO_3-H_2SO_4$ (1:4 v/v) que foram posteriormente aquecidos em banho-maria a 60 °C por 45 minutos. Nesta etapa, a mistura de solventes orgânicos evapora-se sem perda detectável de Hg_{Org} (Wagemann et al., 2000). A fase aquosa remanescente foi digerida e analisada como descrito no subitem 4.6.1, para a determinação de Hg_{Tot} (Kehrig et al., 2006, 2008). Para se verificar a pureza dos reagentes e a existência de qualquer contaminação, dois brancos analíticos (sem a “presença” dos analitos) foram preparados a cada batelada e analisados conforme o procedimento descrito anteriormente. Da mesma forma, foram tratados os materiais de referência certificados (CRM) para a análise de Hg_{Org} (metilmercúrio, MeHg) do National Research Council – Canadá (DORM-2 – amostra de tecido muscular de tubarão; DOLT-2 – amostra de fígado de tubarão e TORT-2 – hepatopâncreas de lagosta) que foram utilizados para checar a exatidão do método analítico aplicado. Os resultados foram obtidos a partir das médias de pelo menos duas medidas de cada amostra (branco analítico, CRM e amostras de fígado e rins de cetáceos) cujos coeficientes de variação (C.V.) foram sempre inferiores a 10 %.

4.7. Análises Estatísticas

Todas as análises estatísticas dos dados foram realizadas com o auxílio do pacote estatístico STATISTICA[®] 7.0 para o sistema operacional Windows[®] (StatSoft, Inc. 1984-2004, USA).

A estatística descritiva foi empregada na determinação dos valores médios para as duplicatas de cada amostra (branco analítico, CRM, fígado e rins de cetáceos marinhos), assim como para a determinação do desvio padrão e o

coeficiente de variação para cada batelada de análise. Neste estudo, só foram considerados resultados cujo coeficiente de variação foi inferior a 10 %.

O teste de Shapiro-Wilk (teste *W*) foi utilizado para se analisar a distribuição dos dados. Estes apresentaram uma distribuição não-normal e, testes não-paramétricos foram então aplicados.

A diferença entre as concentrações dos elementos-traço e mercúrio orgânico nos tecidos foi testada através da análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis (ANOVA) para *k* amostras independentes. Este teste também foi empregado para se testar as diferenças entre as espécies de cetáceos e os parâmetros biológicos. O teste de Mann-Whitney (teste *U*) foi utilizado para se verificar a significância das diferenças encontradas pelo teste Kruskal-Wallis (ANOVA) e também, para se comparar as concentrações dos elementos nos tecidos entre as diferentes espécies de cetáceos, áreas geográficas e sexo.

O teste de correlação de Spearman (*R*) foi aplicado para se verificar as relações entre os parâmetros biológicos (sexo e comprimento total) e as concentrações dos elementos-traço nos tecidos estudados.

A análise de discriminantes multivariada foi aplicada para comparar as concentrações dos elementos e determinar se existiam variações representativas entre as espécies de cetáceos estudadas. Esta análise fornece o percentual correto de classificação, a distância de *Mahalanobis* (D^2), o valor de *F* referente às médias dos vetores, a correlação canônica dos grupos (espécies de cetáceos) e as variáveis (concentração dos elementos-traço) que foram eficientes na discriminação.

O percentual correto de classificação indica quantas concentrações foram diferentes para serem determinadas pela função discriminante. Quanto maior for o percentual, maior será a diferença entre os grupos analisados.

A distância de *Mahalanobis* (D^2) fornece a distância entre os grupos no espaço multivariado e, quando estes são altos, indicam grandes diferenças entre os grupos.

Através da representação gráfica das variáveis canônicas é possível obter-se uma indicação da discriminação entre os grupos, visto que as distâncias relativas são proporcionais às diferenças entre os grupos.

Em todos os testes estatísticos, considerou-se $p < 0,05$ como estatisticamente significativa. As concentrações foram apresentadas como média \pm desvio padrão e intervalo (min. – máx.) em peso seco.

5 Resultados e discussão

5.1. Limites de detecção (L.D.) e quantificação (L.Q.)

A exatidão dos métodos analíticos foi determinada utilizando materiais de referência certificado (CRM) do National Research Council – Canadá (DORM-2 – amostra de tecido muscular de tubarão; DOLT-2 – amostra de fígado de tubarão e TORT-2 – hepatopâncreas de lagosta). As concentrações dos analitos (Se, As, Cu, Cd, Ag, Pb, Hg_{Tot} e Hg_{Org}) encontradas nos CRMs são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados para a análise dos materiais de referência certificados.

	N	Valores Certificados (mg kg ⁻¹ p.s.)	Valores Encontrados ^a (mg kg ⁻¹ p.s.)
DORM - 2			
Se	12	1,40 ± 0,09	1,30 ± 0,16
As	12	18,0 ± 1,1	18,5 ± 1,8
Cu	6	2,34 ± 0,16	2,03 ± 0,29
Cd	6	0,043 ± 0,008	0,036 ± 0,005
Ag	10	0,041 ± 0,013	0,037 ± 0,008
Pb	4	0,065 ± 0,007	0,065 ± 0,008
Hg _{Tot}	10	4,64 ± 0,26	4,60 ± 0,45
Hg _{Org}	10	4,47 ± 0,32	4,39 ± 0,46
TORT - 2			
Se	14	5,63 ± 0,67	5,43 ± 0,71
As	10	21,6 ± 1,8	21,2 ± 1,0
Cu	10	106 ± 10	98,0 ± 8,0
Cd	10	26,7 ± 0,6	26,2 ± 0,6
Pb	8	0,35 ± 0,13	0,36 ± 0,02
Hg _{Tot}	10	0,27 ± 0,06	0,29 ± 0,03
Hg _{Org}	10	0,152 ± 0,13	0,145 ± 0,022
DOLT - 2			
Ag	2	0,608 ± 0,032	0,590 ± 0,013
Pb	2	0,22 ± 0,02	0,20 ± 0,09

^a Reportados como média das determinações de cada elemento com um intervalo de confiança de 95%.

Os resultados obtidos para a determinação de Se, As, Cu, Cd, Ag, e Pb utilizando GF-AAS demonstraram a boa exatidão do método analítico empregado. Pois, as concentrações destes elementos-traço (Se, As, Cu, Cd, Ag, e Pb) encontradas nos CRMs apresentaram-se entre 83 e 103% da média dos valores certificados e seus coeficientes de variação (desvio padrão/média) e para as duplicatas das amostras esses valores foram menores do que 10% (Tabela 7).

Para as determinações de Hg_{Tot} e Hg_{Org} utilizando o método FI-CV-AAS, os resultados obtidos para Hg_{Tot} e Hg_{Org} demonstraram também, uma boa exatidão do método analítico empregado. Diferenciando-se apenas nas concentrações encontradas para o Hg_{Org} que, em ambos os CRMs utilizados, foi comparada à concentração de metilmercúrio (MeHg) certificadas nestas amostras. Segundo Kehrig et al. (2008), em amostras de tecido muscular, como o DORM-2, 100 % do mercúrio orgânico total (Hg_{Org}) está na forma de MeHg, cujo valor certificado é $4,47 \pm 0,32 \text{ mg kg}^{-1}$. Enquanto, o valor certificado para MeHg no TORT-2 é $0,152 \pm 0,13 \text{ mg kg}^{-1}$. A média dos resultados obtidos neste estudo para DORM-2 e TORT-2 corresponderam a 98 e 95% dos seus respectivos valores certificados para MeHg. Os coeficientes de variação (desvio padrão/média) para as duplicatas das amostras foram menores do que 10% (Tabela 7).

Os limites de detecção (L.D.) e quantificação (L.Q.), sob as condições otimizadas do método empregado, GF-AAS, foram estimados de acordo com as definições da IUPAC (L.D. = $3 s/m$ e L.Q. = $10 s/m$, onde m é a inclinação da respectiva curva de calibração utilizada no método analítico e s é o desvio padrão de pelo menos 10 replicatas do branco das amostras medidas nesta mesma curva). Os valores de L.D. e L.Q. encontrados para cada elemento determinado por GF-AAS foram, respectivamente: $0,62 \mu\text{gAs L}^{-1}$ e $1,97 \mu\text{gAs L}^{-1}$; $0,87 \mu\text{gSe L}^{-1}$ e $2,77 \mu\text{gSe L}^{-1}$; $0,33 \mu\text{gCu L}^{-1}$ e $1,05 \mu\text{gCu L}^{-1}$; $0,08 \mu\text{gAg L}^{-1}$ e $0,26 \mu\text{gAg L}^{-1}$; $0,02 \mu\text{gCd L}^{-1}$ e $0,06 \mu\text{gCd L}^{-1}$; $3,80 \mu\text{gPb L}^{-1}$ e $12,70 \mu\text{gPb L}^{-1}$. Estes valores representam, para a determinação destes elementos-traço utilizando-se aproximadamente 0,1 de amostra seca (CRMs, fígado e rins de cetáceos), um L.D. e L.Q. de: $12,4 \mu\text{gAs kg}^{-1}$ e $39,4 \mu\text{gAs kg}^{-1}$; $17,0 \mu\text{gSe kg}^{-1}$ e $55,4 \mu\text{gSe kg}^{-1}$; $6,6 \mu\text{gCu kg}^{-1}$ e $21,0 \mu\text{gCu kg}^{-1}$; $1,6 \mu\text{gAg kg}^{-1}$ e $5,2 \mu\text{gAg kg}^{-1}$; $0,4 \mu\text{gCd kg}^{-1}$ e $1,2 \mu\text{gCd kg}^{-1}$; $76 \mu\text{gPb kg}^{-1}$ e $254 \mu\text{gPb kg}^{-1}$, respectivamente.

Os valores de L.D. e L.Q. encontrados para o mercúrio total (Hg_{Tot}) e orgânico (Hg_{Org}) determinados por FI-CV-AAS foram, respectivamente: $0,10 \mu gHg L^{-1}$ e $0,34 \mu gHg L^{-1}$. Estes também foram estimados de acordo com as definições da IUPAC. E, esses valores representam, para a determinação de Hg em aproximadamente 0,05 g de amostra seca (CRM, fígado e rins de cetáceos), um L.D. e L.Q. de: $26 \mu gHg kg^{-1}$ e $84,4 \mu gHg kg^{-1}$, respectivamente.

É importante ressaltar, que todas as amostras de fígado e rins analisadas neste estudo apresentaram valores sempre superiores aos dos limites de detecção e quantificação encontrados para os métodos analíticos empregados na determinação de cada elemento, assim como para o Hg_{Org} . Este fato indica, que esses métodos possuem uma margem bastante confortável para se analisar matrizes biológicas como as utilizadas neste trabalho.

5.2. *Pontoporia blainvillei* (Gervais & D'Orbigny, 1844)

5.2.1. Concentração dos elementos-traço nos órgãos

As concentrações dos elementos-traço (em peso seco) encontradas no fígado e nos rins da *P. blainvillei*, assim como as concentrações hepáticas e renais encontradas para as outras espécies de cetáceos utilizadas neste estudo, são apresentadas na Tabela 8.

Alguns dos elementos estudados, tais como o As, Se e Cu são essenciais, onde as suas concentrações são reguladas por processos fisiológicos que mantêm a homeostase do organismo. Entretanto, os outros elementos estudados são classificados como não-essenciais, onde se espera que possa ocorrer uma grande variação nas suas concentrações nos diversos tecidos e órgãos dos mamíferos marinhos. Estas concentrações refletem principalmente, os níveis de exposição ambiental e a preferência alimentar (Capelli et al., 2008). O caso do Se é peculiar, pois ao mesmo tempo em que é um micronutriente também é conhecido por apresentar grandes variações relacionadas às altas concentrações de Hg (Nigro & Leonzio, 1996; Seixas et al., 2008).

Tabela 8. Concentrações dos elementos essenciais e não-essenciais ($\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco) nos órgãos das espécies de cetáceos acidentalmente capturadas ao longo da costa norte do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S).

Espécies de cetáceos (N) ^a	Órgão	Elementos Essenciais			Elementos não-essenciais					Região
		Se Média ± DP (min. – máx.)	As Média ± DP (min. – máx.)	Cu Média ± DP (min. – máx.)	Hg Média ± DP (min. – máx.)	Hg _{Org} Média ± DP (min. – máx.)	Cd Média ± DP (min. – máx.)	Pb Média ± DP (min. – máx.)	Ag Média ± DP (min. – máx.)	
B (18)	Fígado	3,24 ± 2,00 (0,84 – 9,05)	1,10 ± 0,79 (0,21 – 2,75)	25,64 ± 41,28 (3,13 – 188,75)	2,64 ± 2,33 (0,66 – 4,38)	0,86 ± 0,69 (0,12 – 2,36)	0,55 ± 0,97 (0,001 – 3,03)	0,67 ± 0,45 (0,15 – 1,60)	0,60 ± 0,63 (0,04 – 2,06)	SE
B (13)		11,06 ± 13,77 (3,69 – 54,33)	1,69 ± 0,58 (1,02 – 3,02)	17,13 ± 5,39 (10,1 – 25,95)	10,60 ± 14,85 (0,66 – 9,65)	1,62 ± 1,14 (0,12 – 2,36)	1,53 ± 1,26 (0,14 – 4,07)	0,84 ± 0,25 (0,44 – 1,77)	2,12 ± 2,74 (0,25 – 10,60)	S
A (21)		20,70 ± 32,22 (1,38 – 115,32)	1,11 ± 0,58 (0,28 – 2,40)	26,48 ± 19,89 (13,44 – 83,77)	27,64 ± 24,98 (3,60 – 66,62)	3,25 ± 1,95 (0,86 – 8,50)	0,39 ± 0,37 (0,001 – 1,48)	1,55 ± 0,75 (0,74 – 2,73)	1,00 ± 1,34 (0,11 – 4,61)	SE
C (2)		5,57 ± 1,40 (4,58 – 6,56)	0,92 ± 0,47 (0,87 – 0,96)	19,14 ± 1,84 (17,84 – 20,44)	8,61 ± 4,16 (5,67 – 11,55)	-	4,59 ± 0,47 (4,25 – 4,92)	0,55 ± 0,28 (0,35 – 0,74)	0,09 ± 0,03 (0,07 – 0,11)	SE
C (2)		53,25 ± 44,01 (22,13 – 84,37)	1,02 ± 0,34 (0,78 – 1,26)	32,34 ± 5,2 (28,30 – 36,39)	50,00 ± 3,11 (47,80 – 52,19)	-	34,51 ± 41,37 (5,26 – 63,76)	21,96 ± 1,84 (20,65 – 23,26)	1,51 ± 0,51 (1,15 – 1,88)	S
D (3)		91,83 ± 54,61 (30,41 – 134,88)	1,45 ± 0,34 (1,10 – 1,77)	18,09 ± 2,11 (15,68 – 19,58)	110,54 ± 36,93 (72,50 – 146,26)	-	70,83 ± 85,80 (6,04 – 168,13)	29,93 ± 5,36 (26,81 – 36,12)	2,04 ± 1,46 (0,36 – 2,93)	S
B (18)	Rins	6,97 ± 3,58 (1,54 – 12,17)	0,73 ± 0,34 (0,28 – 1,35)	8,43 ± 1,96 (2,34 – 11,04)	1,35 ± 1,14 (0,45 – 5,11)	0,56 ± 0,30 (0,16 – 0,76)	3,40 ± 5,28 (0,06 – 14,78)	0,59 ± 0,45 (0,07 – 1,69)	-	SE
B (13)		8,77 ± 1,84 (6,56 – 74,77)	1,47 ± 1,37 (0,66 – 5,86)	11,01 ± 1,57 (8,95 – 13,15)	1,69 ± 1,42 (0,62 – 4,70)	0,73 ± 0,47 (0,31 – 1,82)	5,47 ± 5,33 (0,70 – 19,57)	0,92 ± 0,32 (0,50 – 1,45)	-	S

(A= *Sotalia guianensis*; B= *Pontoporia blainvillei*; C= *Stenella frontalis*; D= *Stenella coeruleoalba*).

^aN – número de indivíduos.

Neste estudo, observou-se que se levando em consideração todos os indivíduos de *P. blainvillei* coletados (N=31) nas áreas tropical (SE) e subtropical (S), as concentrações hepáticas dos elementos Se ($6,52 \pm 9,67 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) e As ($1,36 \pm 0,76 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$) das encontradas nos rins ($7,83 \pm 2,97 \mu\text{gSe g}^{-1}$ p.s. e $1,13 \pm 1,08 \mu\text{gAs g}^{-1}$ p.s.) (Seixas et al., 2007a). A concentração de Cu no fígado da *P. blainvillei* ($22,07 \pm 31,55 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) foi cerca de duas vezes maior do que a concentração renal ($9,67 \pm 2,19 \mu\text{gCu g}^{-1}$ p.s.). Este mesmo fato foi observado para esta mesma espécie de cetáceo proveniente da costa sudeste brasileira (Lailson-Brito et al., 2002) e também da costa argentina (Marcovecchio et al., 1994; Gerpe et al., 2002).

De acordo com Kubota et al. (2002), o fígado dos mamíferos marinhos desempenha um importante papel no metabolismo do As, sugerindo ser este o órgão preferencial de acumulação de As. Porém, neste estudo os resultados encontrados sugerem que não há uma diferença significativa no padrão de acumulação do As entre os órgãos da *P. blainvillei*. Informações sobre as concentrações de As nos tecidos da franciscana são ainda muito limitadas na literatura, onde poucos trabalhos reportaram suas concentrações hepáticas (Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a) e renais (Seixas et al., 2007a).

Com relação às concentrações dos elementos não-essenciais, a concentração de Hg no fígado ($5,98 \pm 10,37 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) foi cerca de quatro vezes maior do que a encontrada nos rins ($1,52 \pm 1,27 \mu\text{gHg g}^{-1}$ p.s.). De acordo com a literatura, o Hg acumula-se preferencialmente no fígado de mamíferos marinhos (Thompson, 1990; Law, 1996) devido provavelmente, ao papel desempenhado por este órgão em termos de bio-transformação dos poluentes, metabolização de elementos essenciais e nutrientes assim como, a remoção de alguns elementos não-essenciais e toxinas da corrente sanguínea (Frodello et al., 2000). Este padrão de acumulação de Hg também foi observado em estudos anteriores realizados com as franciscanas coletadas na costa da Argentina (Marcovecchio et al., 1994; Gerpe et al., 2002) e do Brasil (Lailson-Brito et al., 2002; Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a; 2008).

A concentração hepática de Hg_{Org} ($1,18 \pm 0,97 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) foi cerca de duas vezes maior do que a encontrada nos rins ($0,66 \pm 0,40 \mu\text{gHg}_{\text{Org}} \text{g}^{-1}$ p.s.), seguindo portanto, o mesmo padrão de acumulação que o mercúrio total. Este comportamento foi observado também, no estudo anterior realizado com

franciscanas coletadas na costa dos estados de São Paulo e Paraná (Kunito et al., 2004).

No presente estudo observou-se uma diminuição significativa ($p < 0,05$) da $\%Hg_{Org}$ em relação à concentração de mercúrio total no fígado dos indivíduos de franciscana, quando são levados em consideração todos os indivíduos de *P. blainvillei* coletados (N=31) nas áreas tropical (SE) e subtropical (S), como mostra a Figura 17. Uma diminuição da $\%Hg_{Org}$ em relação à concentração de mercúrio total foi observada também, nos rins da franciscana, entretanto, esta não foi significativa ($p > 0,05$) (Figura 18).

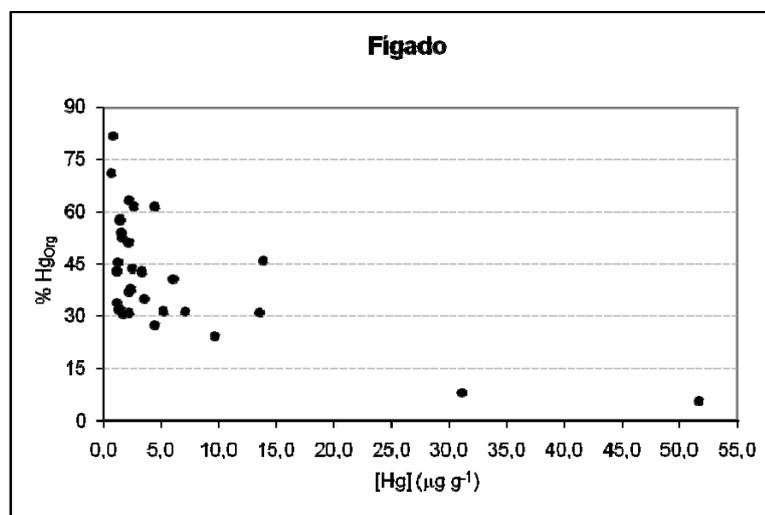


Figura 17. Relação da $\% Hg_{Org}$ com a concentração de mercúrio total no fígado da *Pontoporia blainvillei*.

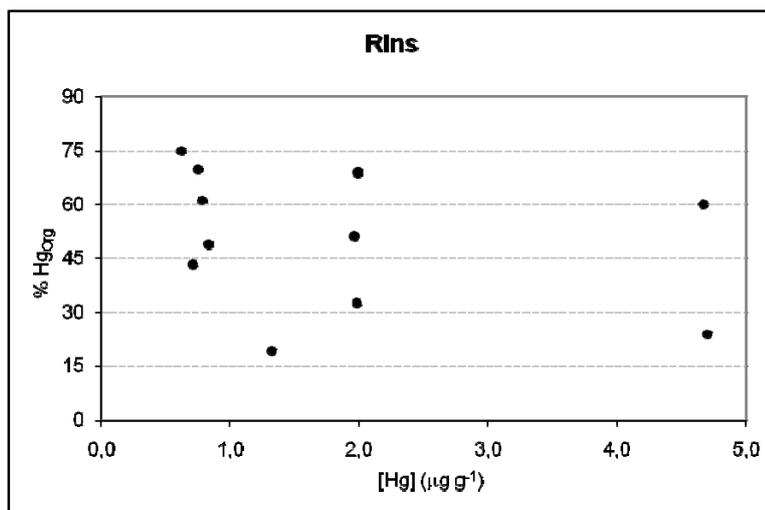


Figura 18. Relação da $\% Hg_{Org}$ com a concentração de mercúrio total nos rins da *Pontoporia blainvillei*.

A concentração de Cd no fígado ($0,96 \pm 1,19 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) foi cerca de cinco vezes menor do que a encontrada nos rins ($4,40 \pm 5,31 \mu\text{gCd g}^{-1}$ p.s.). A literatura reporta que o Cd acumula-se preferencialmente nos rins de mamíferos marinhos (Thompson, 1990; Law, 1996), como foi observado anteriormente no estudo com as franciscanas coletadas na costa da Argentina (Marcovecchio et al., 1994; Gerpe et al., 2002) e do Brasil (Lailson-Brito et al., 2002; Dorneles et al., 2007; Seixas et al., 2007a; 2008). O fato de os rins serem o principal órgão para a acumulação do Cd, provavelmente, está ligado às funções de filtração e eliminação deste órgão e também, à forte ligação do Cd com as metalotioneínas presentes nos rins (Monaci et al., 1998; Das et al., 2000).

As metalotioneínas (MTs) são proteínas importantes na destoxificação de elementos não-essenciais (tais como o Cd e o Hg) em órgãos de diferentes espécies de animais, tais como os moluscos e mamíferos (Kägi, 1991; Dalling et al., 1997; Das et al., 2002, 2006). No entanto, as MTs são induzidas por vários estímulos fisiológicos e toxicológicos, como por exemplo, os metais pesados. Entretanto, as MTs parecem desempenhar um menor papel na destoxificação do Hg nos mamíferos marinhos (Das et al., 2000, 2002, 2006), uma vez que a porcentagem de Hg ligado a MTs no fígado e rins (- 10%) é muito baixa com relação a sua ligação com o Cd ($\approx 100\%$) (Dalling et al., 1997; Das et al., 2000, 2002).

A acumulação do elemento não-essencial Ag ainda é pouco estudada nos tecidos dos cetáceos (Becker et al., 1995; Woshner et al., 2001; Kunito et al., 2004; Dehn et al., 2006), quando comparada aos demais elementos-traço. O seu estudo é importante uma vez que ele é um elemento exógeno e nocivo à saúde dos mamíferos marinhos. A prata interage com o selênio das selenoproteínas existentes no organismo dos mamíferos marinhos, diferentemente das demais interações observadas bioquimicamente entre o selênio e outros metais de transição, como o Cd e o Hg (Sasakura & Suzuki, 1998). Neste caso, a prata pode induzir sintomas de deficiência de selênio no organismo dos mamíferos marinhos (Becker et al., 1995). No presente estudo, este elemento (Ag) foi determinado somente no fígado dos indivíduos de *P. blainvillei*, uma vez que este órgão é conhecido como órgão alvo para a acumulação de Ag além de desempenhar um importante papel na destoxificação de elementos exógenos. A concentração

hepática de Ag ($1,26 \pm 1,98 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) encontrada na franciscana foi da mesma ordem de magnitude daquelas reportadas na literatura (Kunito et al., 2004).

A concentração de Pb no fígado ($0,74 \pm 0,38 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) de todos os indivíduos de *P. blainvillei* (N=31) coletados nas duas áreas de estudo, não foi significativamente diferente ($p > 0,05$) daquela encontrada nos rins ($0,75 \pm 0,42 \mu\text{gPb g}^{-1}$ p.s.). Este fato indica que provavelmente não há diferença no padrão de acumulação de Pb entre os órgãos desta espécie. Informações sobre as concentrações de Pb nos tecidos da franciscana são limitadas na literatura, em que somente dados a respeito de sua acumulação hepática nesta espécie de golfinho costeiro foram reportadas (Kunito et al., 2004). De acordo com a literatura, quando comparado a outros metais, como o Cd e o Hg, o Pb presente nas águas marinhas não é considerado tão tóxico para os organismos que ali vivem. A dieta alimentar é considerada a principal via de exposição dos organismos marinhos ao Pb (Kennish, 1997).

Foi observado que mamíferos marinhos, *Arctocephalus gazella* – Antarctic fur seal, que vivem em águas oceânicas de áreas altamente remotas, como a Antártica, apresentaram concentração de cerca de $0,1 \mu\text{g Pb g}^{-1}$ p.s. em seus tecidos, demonstrando assim, a importância do transporte atmosférico do Pb na sua distribuição global (Kennish, 1997).

Estudos constataram que os tecidos ósseos e os dentes dos mamíferos marinhos (Eisler, 1988) e aves marinhas (Nam et al., 2005) são os principais tecidos para a acumulação deste elemento. Como por exemplo, foi observado que os leões-marinhos da Califórnia (*Zalophus californianus*) apresentaram concentrações de Pb em seus tecidos ósseos cerca de 52 vezes maiores do que aquelas encontradas em seu tecido muscular e gordura (Kennish, 1997). Este padrão de acumulação ocorre devido ao fato do Pb (Pb^{2+}) interagir com o metabolismo do cálcio (Ca^{2+}) nestes tecidos dos mamíferos marinhos (Nam et al., 2005).

5.2.2. O efeito de parâmetros biológicos (comprimento total, sexo e maturidade sexual) sobre a acumulação dos elementos-traço

Neste estudo, não foi observada uma diferença significativa entre os comprimentos totais dos indivíduos de ambas as populações de *P. blainvillei* (Kruskal-Wallis - ANOVA, $p > 0,05$), sugerindo então que estas formam grupos equilibrados, sendo portanto possível comparar as concentrações dos elementos-traço (essenciais e não-essenciais) entre as diferentes áreas de estudo (Monaci et al., 1998).

O fato de os indivíduos de *P. blainvillei* (franciscana) coletados em ambas as regiões apresentarem comprimentos totais semelhantes, não indica, necessariamente, que possuam a mesma idade. Geralmente, indivíduos da costa sudeste brasileira (SE) são mais velhos do que aqueles de mesmo tamanho da costa sul brasileira (S). Isso acontece porque franciscanas da costa do estado do Rio de Janeiro atingem seu comprimento assintótico quando estão com aproximadamente 2 anos de idade e 115 cm (machos) ou 3 anos de idade e 130 cm (fêmeas) (Di Benedetto & Ramos, 2001). Enquanto os indivíduos de franciscana da costa do estado do Rio Grande do Sul, atingem seu comprimento assintótico quando estão com 4 anos de idade e cerca de 130 cm (machos) ou 6 anos de idade e 146-152 cm de comprimento (fêmeas) (Barreto & Rosas, 2006). Estas diferenças não exibem apenas uma tendência apenas geográfica, uma vez que indivíduos de franciscana de regiões intermediárias da costa brasileira (como por exemplo, dos estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo) são menores do que aqueles tanto da costa do Rio Grande do Sul quanto do Rio de Janeiro (Secchi et al., 2003). Estudos genéticos indicam fortes diferenças entre os indivíduos das duas áreas de coleta (Secchi et al., 1998; Ott, 2002; Lázaro et al., 2004).

Neste estudo, foi possível verificar qual a relação entre a idade e o comprimento total (L, cm) somente para os indivíduos de *P. blainvillei* capturados na costa sul brasileira (S). Pois, somente as idades destes indivíduos foram estimadas e fornecidas pelo Dr. Eduardo R. Secchi do Laboratório de Tartarugas e Mamíferos Marinhos, do Departamento de Oceanografia e do Museu Oceanográfico “Professor E.C. Rios” da FURG. Foi observada uma correlação significativa ($p < 0,05$) entre a idade e o comprimento total (L, cm) dos

indivíduos de *P. blainvillei* capturados na costa do estado do Rio Grande do Sul (S), como mostra a Figura 19.

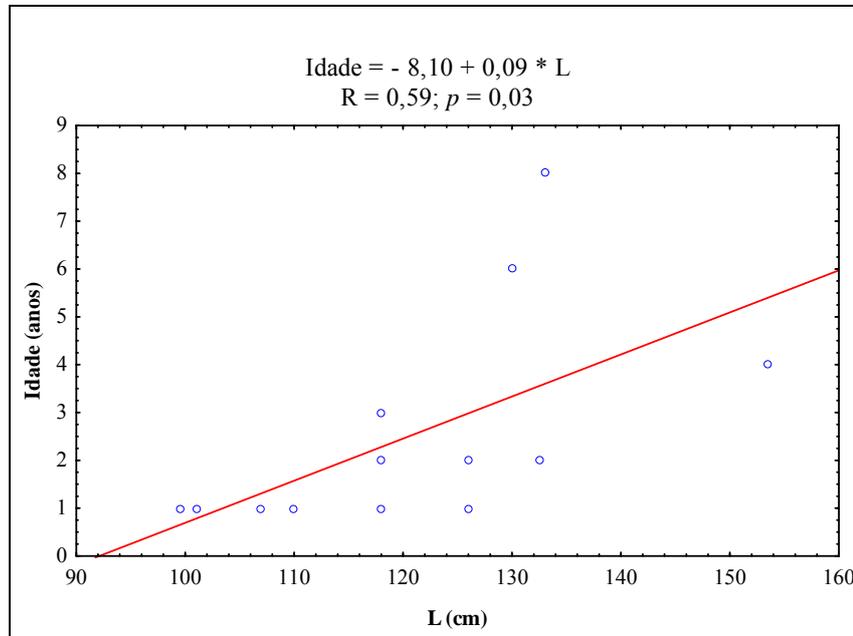


Figura 19. Relação entre a idade e o comprimento total – L (cm) dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* provenientes da costa do Rio Grande do Sul (S).

Segundo Danilewicz (2000), as idades podem ser estimadas a partir da contagem do número de grupo de linhas de crescimento (“Growth Layer Groups” ou GLGs, terminologia proposta pela IWC, 1980) presentes nas camadas de dentina e cemento dos dentes. No caso da *P. blainvillei*, estas GLGs provavelmente são depositadas anualmente (Kasuya & Brownell, 1979; Pinedo, 1994; Pinedo & Hohn, 2000). Portanto, o número de GLGs foi considerado aqui como correspondente à idade em anos.

Não foi observada diferença significativa (Kruskal-Wallis - ANOVA, $p > 0,05$) entre as concentrações dos elementos-traço (essenciais e não-essenciais) nos órgãos (fígado e rins) encontrados nas fêmeas e nos machos de ambas as populações de *P. blainvillei* separadamente. Porém deve-se levar em conta que a maioria dos indivíduos utilizados neste estudo (22 de um total de 31) era jovem.

De acordo com O'Shea (1999), os mamíferos marinhos geralmente, não apresentam diferenças significativas no padrão de acumulação de elementos-traço entre os sexos. Este padrão também foi observado em estudos anteriores realizados com franciscanas da costa sul e sudeste brasileira (Lailson-Brito et al., 2002; Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a, 2008) e da costa Argentina (Gerpe et al., 2002).

5.2.2.1. Elementos essenciais (Se, As e Cu)

A análise dos dados das duas populações de *P. blainvillei* mostrou que dentre os elementos essenciais estudados, somente a concentração de Se em ambos os órgãos dos indivíduos provenientes do norte do estado do Rio de Janeiro (SE) apresentou correlação significativa com o comprimento total (L) (Figura 20a, b). Enquanto, os indivíduos provenientes do Rio Grande do Sul (S), não apresentaram correlação entre as concentrações dos elementos essenciais (Se, As e Cu) em ambos os órgãos e o comprimento total (Figura 20c, d). As linhas de tendências só foram traçadas nas figuras 20a e 20b, onde foram obtidas correlações significativas.

A maturação sexual parece influenciar na acumulação de Se em ambos os órgãos dos indivíduos de franciscana coletados nas áreas de estudo. Os indivíduos maduros apresentaram concentrações de Se maiores do que os indivíduos sexualmente imaturos tanto no fígado quanto nos rins. Entretanto, este fato não foi observado para o arsênio, em que os indivíduos maduros e imaturos não apresentaram diferença na concentração de As tanto no fígado quanto nos rins dos indivíduos de ambas as populações. Enquanto, os indivíduos imaturos apresentaram maiores concentrações hepáticas de Cu do que os indivíduos maduros provenientes das duas regiões de coleta. Esse comportamento não foi observado para as concentrações renais de Cu em indivíduos de ambas as populações, uma vez que não houve uma diferença no padrão de acumulação deste elemento entre indivíduos imaturos e maduros.

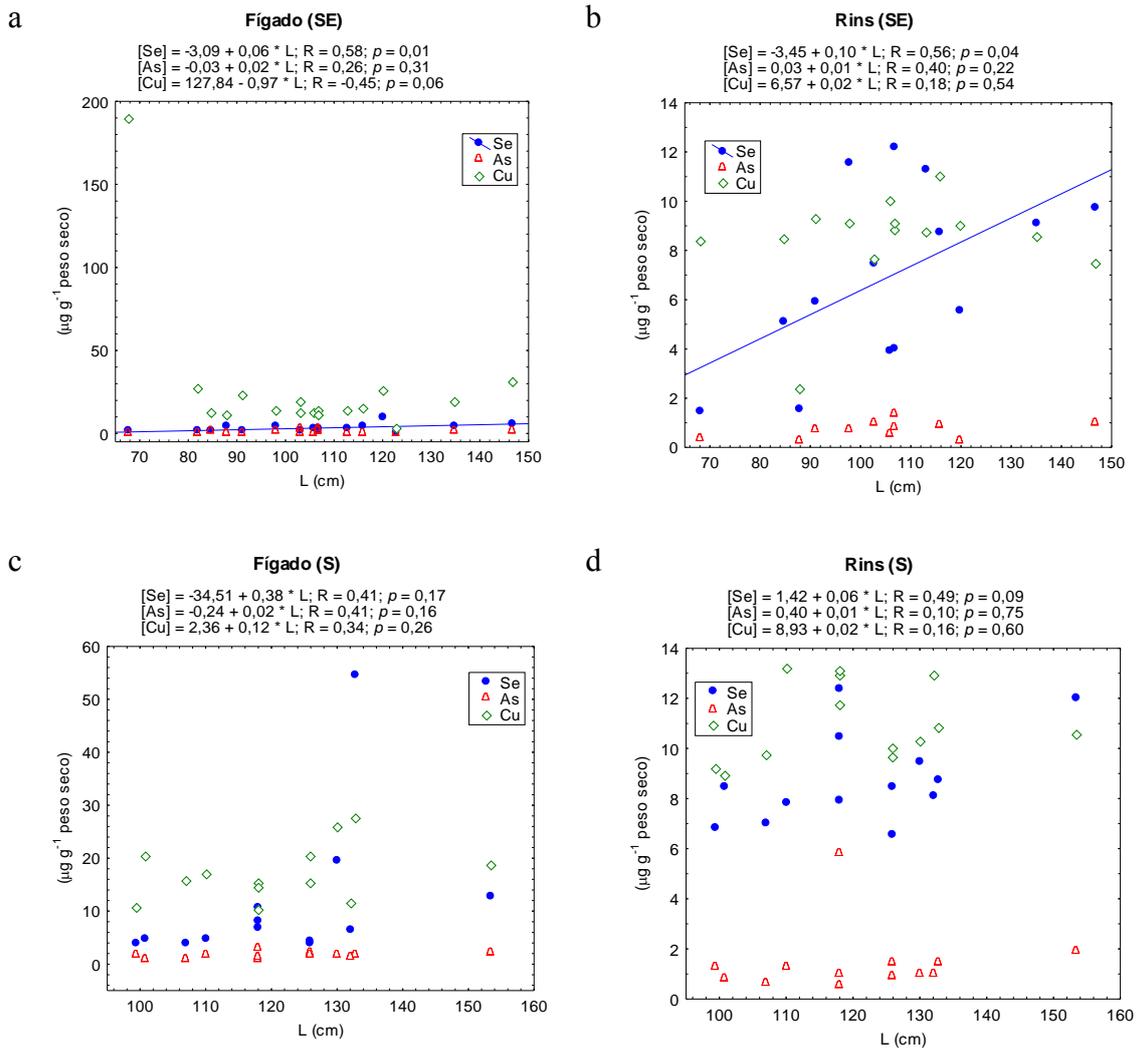


Figura 20. Relação entre as concentrações dos elementos essenciais nos órgãos da *Pontoporia blainvillei* e o comprimento total – L (cm).

Na literatura científica, a relação entre o comprimento total e a concentração de Se nos tecidos da franciscana ainda é escasso. Poucos estudos reportaram que ocorre um aumento nas concentrações hepáticas (Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a, 2008) e renais (Seixas et al., 2007a, 2008) de Se em função do aumento do comprimento total dos indivíduos de *P. blainvillei*. Ainda são mais escassas na literatura, as informações sobre a acumulação de As no fígado (Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a) e rins (Seixas et al., 2007a) em função do comprimento total desta espécie em particular. Kubota et al. (2001) reportaram que ainda não está claro como se comporta o padrão de bioacumulação de As nos tecidos dos

mamíferos marinhos em função do seu crescimento ao longo do tempo. Somente algumas espécies de cetáceos (tais como o boto-do-porto, *Phocoena phocoena*) e pinípedes (tais como a foca-de-Baikal, *Phoca sibirica*; a foca-de-bandas, *Phoca fasciata* e o leão-marinho-de-Steller, *Eumetopias jubatus*) apresentaram correlação significativa entre a concentração hepática de As e a idade (Kubota et al., 2001). Este fato pode estar relacionado a uma maior taxa de incorporação do que a de excreção de As por esses organismos, o que conduz ao aumento da concentração deste elemento com o comprimento total (ou idade) do indivíduo (Kubota et al., 2001). Porém, este comportamento não foi observado em estudos anteriores realizados com franciscanas da costa brasileira (Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a).

Embora não tenha sido observada para a franciscana uma correlação significativa entre a concentração hepática de Cu e o comprimento total dos indivíduos, estudos anteriores realizados com outras espécies de mamíferos marinhos do Hemisfério Norte (Woshner et al., 2001; Endo et al., 2007) e Sul (Lavery et al., 2008), observaram a tendência desta concentração diminuir com o comprimento total dos mamíferos marinhos. De acordo com Woshner et al. (2001), o declínio das concentrações de Cu nos tecidos dos mamíferos marinhos com a idade pode ser resultado da perda de Cu ao longo do tempo; como por exemplo, a diluição dessas concentrações com o aumento da massa muscular com a idade (comprimento total) ou até mesmo a diminuição dos níveis de requerimento de Cu para a realização de atividades metabólicas do organismo dos cetáceos marinhos. Este fato pode então, explicar porque no presente estudo, as menores concentrações hepáticas de Cu foram observadas nos indivíduos sexualmente maduros, ou adultos, com maiores comprimentos de ambas as populações.

5.2.2.2. Elementos não-essenciais (Hg, Cd, Ag e Pb)

Neste estudo, o efeito do comprimento total sobre a acumulação dos elementos não-essenciais (Hg, Cd, Ag e Pb) também foi investigado. A análise dos dados das duas populações de *P. blainvillei* mostrou que dentre estes

elementos, somente as concentrações hepáticas de Hg e Cd apresentaram correlações significativas com os comprimentos totais (L) dos indivíduos do norte do estado do Rio de Janeiro (SE) (Figura 21a). Entretanto, os indivíduos do Rio Grande do Sul (S) apresentaram uma correlação significativa somente entre as concentrações hepáticas de mercúrio orgânico (Hg_{Org}) e o comprimento total (Figura 21c). Com relação às concentrações renais dos elementos não-essenciais estudados, somente o Cd apresentou correlação significativa com o comprimento total (L) dos indivíduos do Rio de Janeiro (SE) (Figura 21b). Foram observadas correlações significativas entre as concentrações renais de Hg e Hg_{Org} e o comprimento total dos indivíduos do Rio Grande do Sul (S) (Figura 21d). As linhas de tendências só foram traçadas nas figuras onde foram obtidas correlações significativas.

A maturação sexual parece influenciar na acumulação de Hg, Cd e Ag em ambos os órgãos das duas populações de franciscana estudadas. Os indivíduos maduros apresentaram as maiores concentrações destes elementos tanto no fígado quanto nos rins, quando comparados com os indivíduos sexualmente imaturos. A maturidade sexual parece não influenciar a acumulação de Pb tanto no fígado quanto nos rins dos indivíduos de ambas as populações de *P. blainvillei*. Este padrão foi observado também, em estudos anteriores com franciscanas da costa brasileira (Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2008).

No presente estudo observou-se que a percentagem de mercúrio orgânico em relação ao mercúrio total (% Hg_{Org}) no fígado dos indivíduos do Rio Grande do Sul (S) apresentou uma diminuição significativa com relação ao comprimento total (L) dos mesmos (Figura 22). Os indivíduos maduros apresentaram as menores % Hg_{Org} , que variaram de 5 a 30 % e os indivíduos imaturos apresentaram a % Hg_{Org} , variando de 11 a 82 %. As baixas % Hg_{Org} encontradas nos indivíduos maduros sugerem que estes apresentam processos mais eficientes de desmetilação/eliminação das formas mais tóxicas de mercúrio nestes órgãos. As linhas de tendências só foram traçadas nas figuras onde foram obtidas correlações significativas.

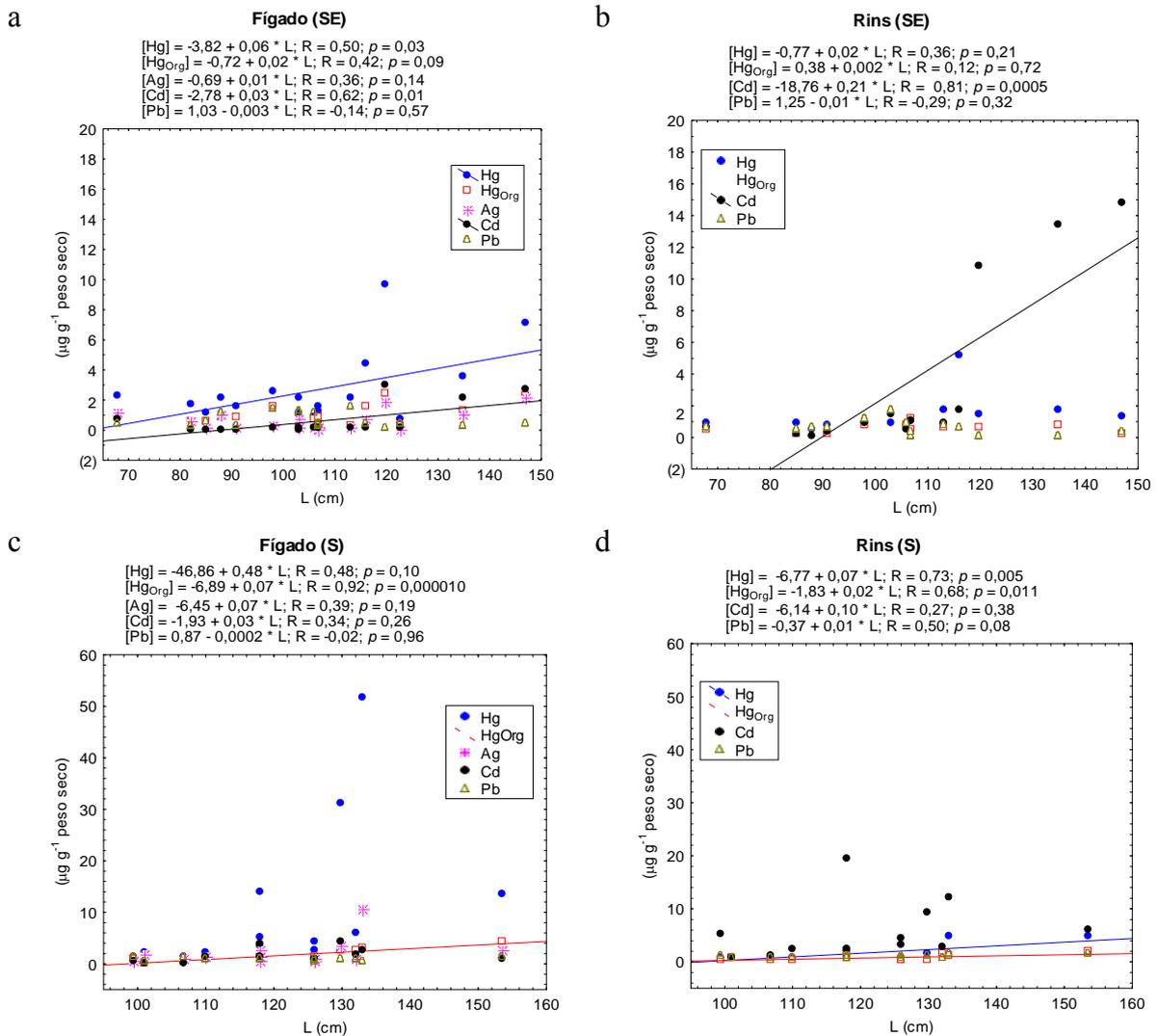


Figura 21. Relação entre as concentrações dos elementos não-essenciais nos órgãos da *Pontoporia blainvillei* e o comprimento total – L (cm).

As relações entre o comprimento total e as concentrações de Hg e Cd no fígado e rins de diferentes espécies de mamíferos marinhos têm sido amplamente estudadas (Leonzio et al., 1992; Caurant et al., 1994; Dietz et al., 1996; Monaci et al., 1998; O’Shea, 1999; Gerpe et al., 2002; Lailson-Brito et al., 2002; Szefer et al., 2002; Monteiro-Neto et al., 2003; Ikemoto et al., 2004; Kunito et al., 2004; Endo et al., 2006, 2007; Seixas et al., 2007a, 2008). Segundo Ikemoto et al. (2004) os mamíferos marinhos apresentam um aumento nas concentrações hepáticas de Hg e Cd com a idade, uma vez que esses animais têm um tempo de vida mais longo e estes elementos possuem um tempo de meia vida biológico grande.

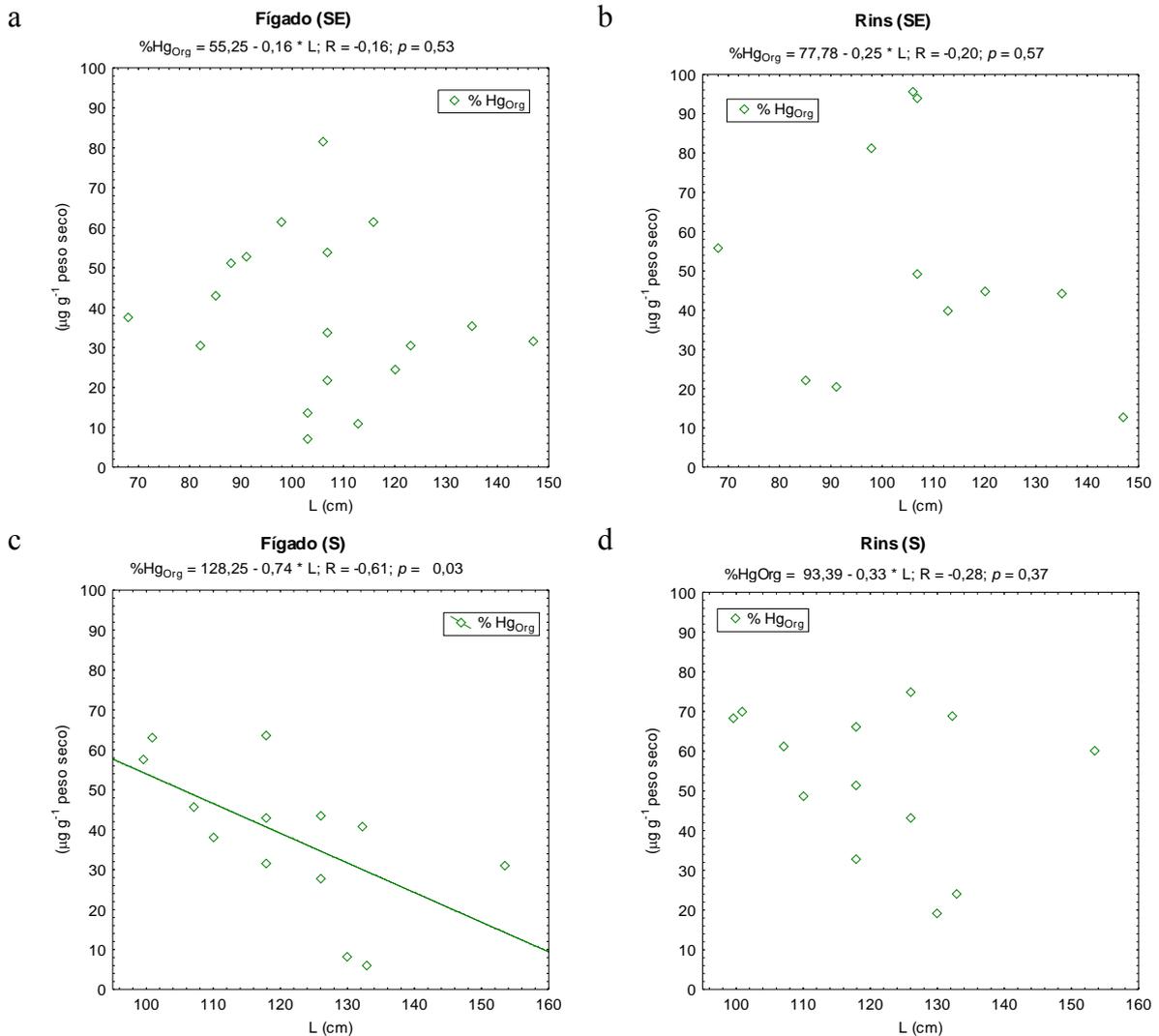


Figura 22. Relação entre as proporções de mercúrio orgânico em relação ao mercúrio total (% Hg_{Org}) nos órgãos da *Pontoporia blainvillei* e o comprimento total – L (cm).

Estudos anteriores realizados com a franciscana, que habita a costa oeste do Atlântico Sul também, mostraram a existência de uma correlação significativa entre as concentrações hepáticas de Hg e Cd (Marcovecchio et al., 1994; Gerpe et al., 2002; Lailson-Brito et al., 2002; Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a, 2008) e o comprimento total dos indivíduos. Esta espécie também apresentou correlação significativa entre as concentrações renais destes elementos e o comprimento total (Seixas et al., 2007a, 2008). Somente Kunito et al. (2004) e Seixas et al. (2008) reportaram que as concentrações de Hg_{Org} aumentaram com o comprimento das franciscanas da costa brasileira.

Na literatura científica, as relações entre o comprimento total e as concentrações de Pb nos tecidos da franciscana ainda são escassos e, somente Kunito et al. (2004) reportaram esses dados anteriormente, em que não foi observado um aumento significativo nas concentrações hepáticas de Pb com o comprimento total desta espécie. Entretanto, nenhuma informação está disponível na literatura com relação às correlações entre as concentrações renais de Pb e o comprimento total ou idade desta espécie de golfinho costeiro.

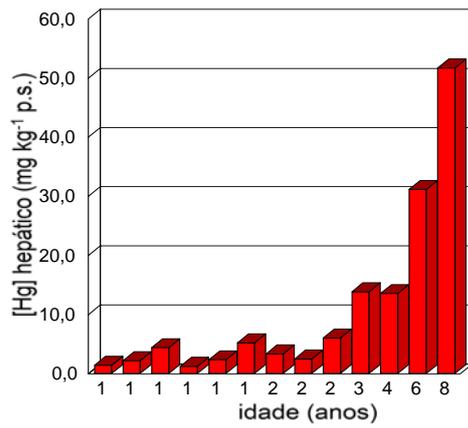
Embora não tenha sido observada uma correlação significativa entre as concentrações hepáticas de Ag e o comprimento total dos indivíduos de *P. blainvillei* de ambas as áreas de coleta deste estudo, Kunito et al. (2004) observaram um aumento significativo ($p < 0,05$) entre as concentrações de Ag no fígado e a idade das franciscanas coletadas em uma área próxima mas distinta à do presente estudo.

De acordo com Kunito et al. (2004), a meia-vida biológica é maior para alguns elementos-traço, tais como o Hg, Cd e a Ag, que possuem alta afinidade com os radicais sulfidrílicos existentes nas proteínas (SH), ocasionando assim um aumento na concentração destes elementos com a idade e/ou comprimento total, e conseqüentemente com a maturação sexual dos mamíferos marinhos.

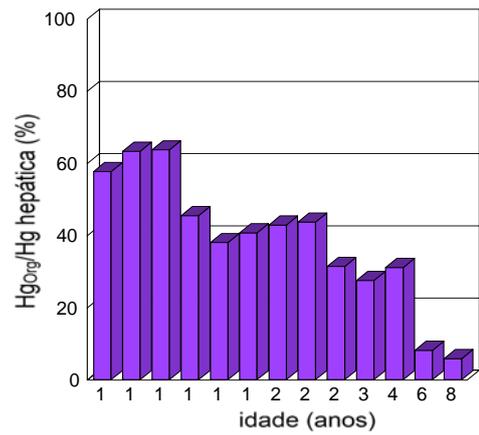
5.2.2.3. Elementos x idade

A influência da idade dos cetáceos sobre a acumulação dos elementos-traço e Hg_{Org} nos tecidos destes organismos foi verificada somente na espécie *Pontoporia blainvillei* oriunda do Rio Grande do Sul (S). Isto se deve ao fato de que somente as idades destes indivíduos são conhecidas.

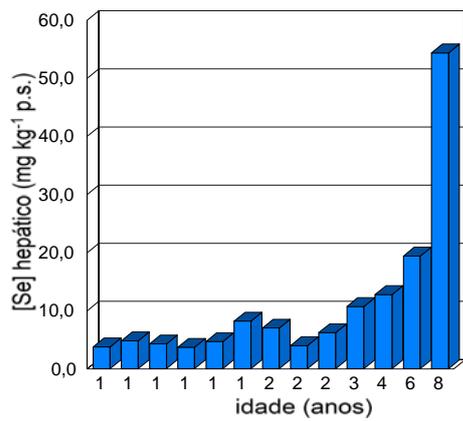
Como a concentração de alguns elementos nos tecidos dos indivíduos de *P. blainvillei* capturado no Rio Grande do Sul (S) apresentou uma correlação significativa com o comprimento total dos indivíduos e também, o comprimento total destes indivíduos apresentou uma correlação significativa com a idade dos mesmos (Figura 19), pode-se então verificar como a idade influi na concentração dos elementos nos tecidos dos indivíduos estudados (Figuras 23 e 24).



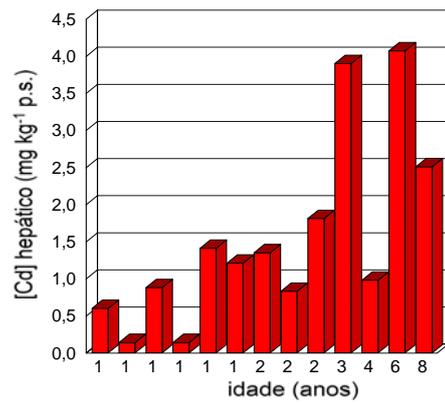
a



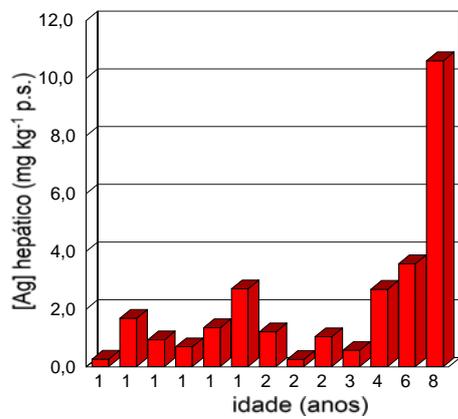
b



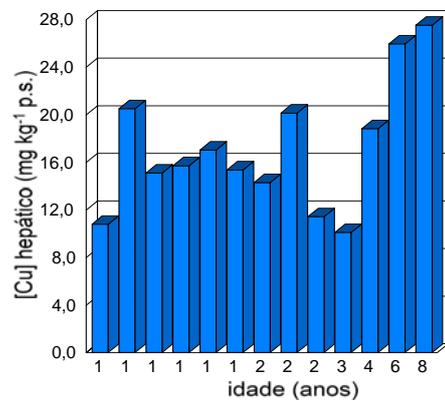
c



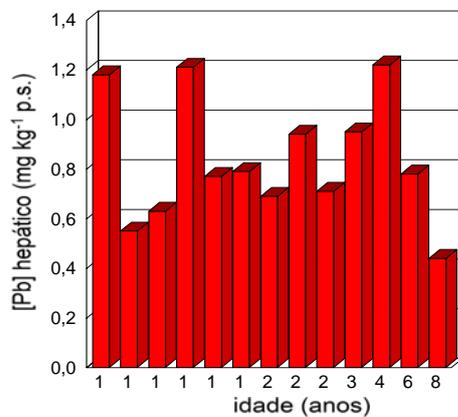
d



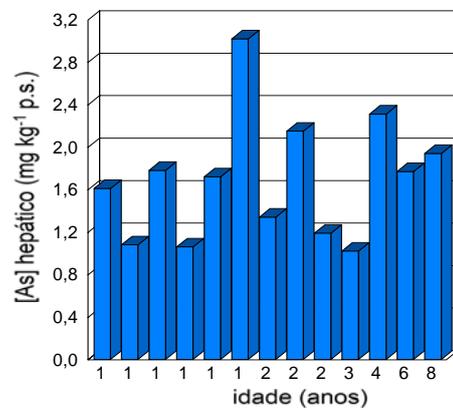
e



f



g



h

Figura 23. Variação das concentrações hepáticas dos elementos com a idade da *P. blainvillei* (S).

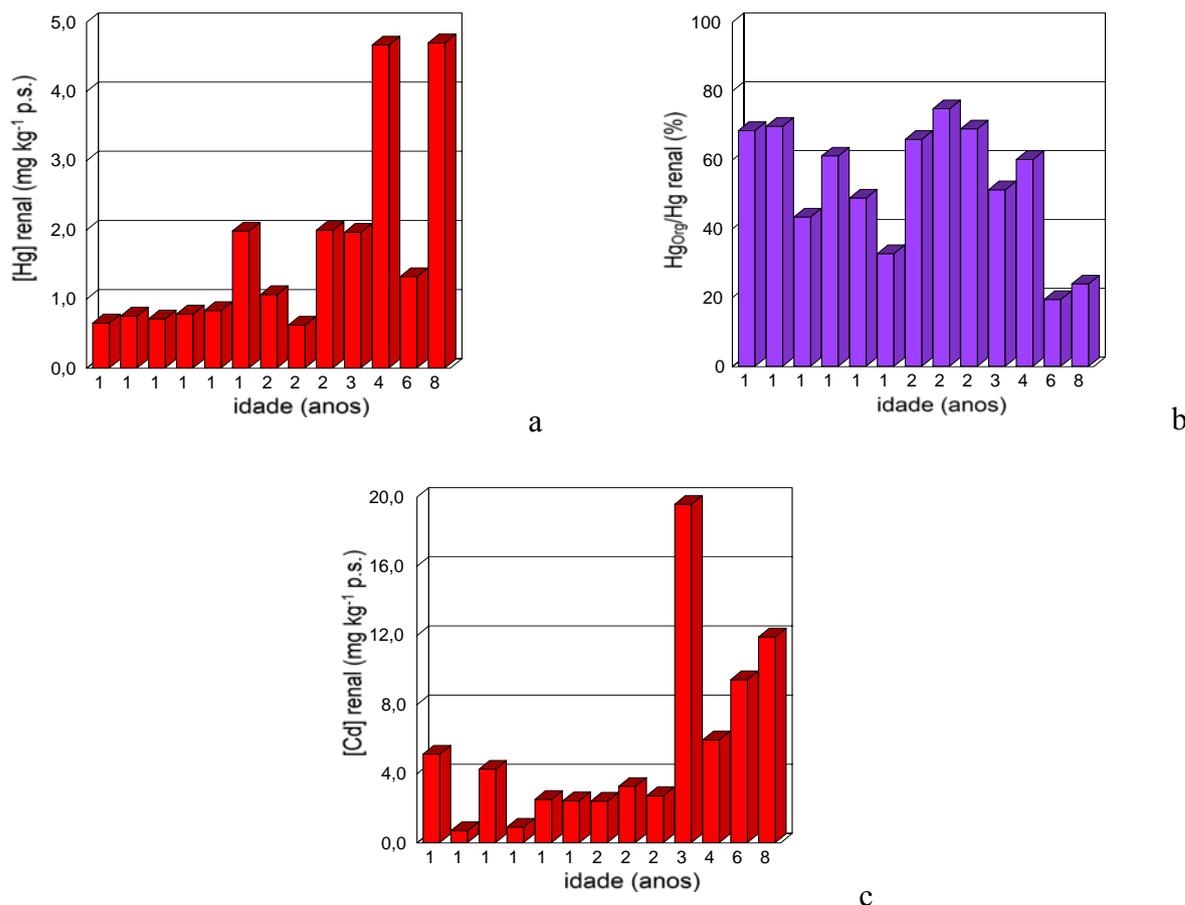


Figura 24. Variação das concentrações renais de Hg e Cd e a % Hg_{Org} com a idade da *Pontoporia blainvillei* (S).

A partir da observação da Figura 23 pode-se sugerir que a idade dos indivíduos de *P. blainvillei*, provenientes da costa do Rio Grande do Sul (S), influencia fortemente na acumulação hepática de Hg, Se, Ag e Cd. Pode-se observar também, que a idade influencia na acumulação renal de Hg e Cd. Porém, deve-se levar em conta que indivíduos de numa determinada faixa etária, nem sempre possuem comprimentos totais semelhantes ou são do mesmo sexo; além de haver as diferenças metabólicas individuais entre os indivíduos.

Observando-se as Figuras 23a e 23b, nota-se que o processo de desmetilação das espécies de mercúrio orgânico no fígado da franciscana pode estar ocorrendo, uma vez que os indivíduos mais velhos e que possuem as maiores concentrações hepáticas de Hg e Hg_{Org} apresentaram as menores relações percentuais entre o Hg_{Org} e Hg ($\%Hg_{Org}$). As Figuras 24a e 24b mostram que este

processo também pode estar ocorrendo, de forma menos pronunciada, nos rins desta espécie de cetáceo.

5.2.3. Comparação com outras regiões costeiras da América do Sul

Neste estudo, as concentrações dos elementos-traço encontradas no fígado dos indivíduos de *P. blainvillei* acidentalmente capturados ao longo da costa norte do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S), foram da mesma ordem de magnitude daquelas encontradas em estudos anteriores realizados com esta espécie de cetáceo proveniente da costa brasileira e argentina (Tabela 9). As concentrações hepáticas de alguns elementos (tais como, Se e Hg) foram geralmente menores do que aquelas encontradas no fígado de outras espécies de cetáceos (*Sotalia guianensis*; *Stenella frontalis*; *Stenella coeruleoalba*) de diferentes regiões costeiras da América do Sul (Tabela 9).

Entretanto, é muito difícil se comparar dados entre espécies de cetáceos que apresentam diferentes hábitos alimentares, tempo de vida e que habitam diferentes regiões. Neste caso, é melhor realizar a comparação entre indivíduos que pertençam à mesma espécie e que apresentem também, tempo de vida semelhantes. Pois, como exposto anteriormente, o tempo de vida parece ser um importante fator influenciador na acumulação dos elementos-traço nos órgãos internos da *P. blainvillei*.

A comparação dos dados obtidos neste estudo com aqueles reportados na literatura é de grande importância e necessidade, pois, o número de estudos sobre a acumulação de uma série de elementos em tecidos de cetáceos marinhos oriundos da costa da América do Sul, ainda é escasso (como mostra a Tabela 9) e geralmente, nestes estudos foram empregados um número pequeno de indivíduos. Além do mais, nos estudos com os mamíferos marinhos, vários fatores têm que ser levados em consideração quando se comparam indivíduos da mesma espécie, tais como: sexo, preferência alimentar, tempo de vida, local de coleta e método de análise (Capelli et al., 2008).

Tabela 9. Comparação das concentrações dos elementos essenciais e não-essenciais ($\mu\text{g g}^{-1}$) no fígado de cetáceos da costa da América do Sul.

Espécies de cetáceos (N) ^a	Elementos Essenciais			Elementos não-essenciais					Localização	Referência
	Se Média ± DP (min. – máx.)	As Média ± DP (min. – máx.)	Cu Média ± DP (min. – máx.)	Hg Média ± DP (min. – máx.)	Hg _{Org} Média ± DP (min. – máx.)	Cd Média ± DP (min. – máx.)	Pb Média ± DP (min. – máx.)	Ag Média ± DP (min. – máx.)		
A (21)	20,70 ± 32,22 (1,38 – 115,32)	1,11 ± 0,58 (0,28 – 2,40)	26,48 ± 19,89 (13,44 – 83,77)	27,64 ± 24,98 (3,60 – 66,62)	3,25 ± 1,95 (0,86 – 8,50)	0,39 ± 0,37 (0,001 – 1,48)	1,55 ± 0,75 (0,74 – 2,73)	1,00 ± 1,34 (0,11 – 4,61)	Sudeste do Brasil	Este estudo
A (11)	-	-	-	4,62 ± 8,73 (0,10 – 29,51)	-	0,22 ± 0,38 (0,01 – 1,32)	0,11 ± 0,02 (0,10 – 0,12)	-	Nordeste do Brasil	1
A (15)	34,0 (1,98 – 247,19)	-	-	25,4 (7,26 – 90,7)	-	-	-	-	Sul do Brasil	2
A (20)	38,00 ± 49,00 (3,00 – 170,0)	0,83 ± 0,32 (0,27 – 1,60)	157,0 ± 436,0 (14,5 – 1970,0)	77,0 ± 107,0 (1,5 – 380,0)	3,8 ± 3,9 (0,44 – 15,0)	0,65 ± 0,75 (0,009 – 2,19)	0,07 ± 0,05 (0,02 – 0,20)	1,90 ± 1,30 (0,28 – 4,90)	Sul do Brasil	3
B (18)	3,24 ± 2,00 (0,84 – 9,05)	1,10 ± 0,79 (0,21 – 2,75)	25,64 ± 41,28 (3,13 – 188,75)	2,64 ± 2,33 (0,66 – 4,38)	0,86 ± 0,69 (0,12 – 2,36)	0,55 ± 0,97 (0,001 – 3,03)	0,67 ± 0,45 (0,15 – 1,60)	0,60 ± 0,63 (0,04 – 2,06)	Sudeste do Brasil	Este estudo
B (13)	11,06 ± 13,77 (3,69 – 54,33)	1,69 ± 0,58 (1,02 – 3,02)	17,13 ± 5,39 (10,1 – 25,95)	10,60 ± 14,85 (0,66 – 9,65)	1,62 ± 1,14 (0,12 – 2,36)	1,53 ± 1,26 (0,14 – 4,07)	0,84 ± 0,25 (0,44 – 1,77)	2,12 ± 2,74 (0,25 – 10,60)	Sul do Brasil	Este estudo
B (7)	-	-	52,80 ± 10,89	(12,67 – 5,33)	-	10,89 ± 4,62	-	-	Costa Argentina	4
B (18)	-	-	62,71	-	-	7,49	-	-	Costa Argentina	5
B (17)	-	-	(13,20 – 69,31)	(3,0 – 24,4)	-	(≈0,0 – 2,08)	-	-	Sudeste do Brasil	6
B (23)	9,10 ± 5,50 (3,50 – 30,00)	1,20 ± 0,40 (0,14 – 2,40)	44,50 ± 89,00 (14,7 – 446,0)	-	-	0,40 ± 0,78 (0,004 – 3,87)	0,03 ± 0,02 (0,007 – 0,070)	2,40 ± 4,10 (0,28 – 20,0)	Sul do Brasil	3
C (2)	5,57 ± 1,40 (4,58 – 6,56)	0,92 ± 0,47 (0,87 – 0,96)	19,14 ± 1,84 (17,84 – 20,44)	8,61 ± 4,16 (5,67 – 11,55)	-	4,59 ± 0,47 (4,25 – 4,92)	0,55 ± 0,28 (0,35 – 0,74)	0,09 ± 0,03 (0,07 – 0,11)	Sudeste do Brasil	Este estudo
C (2)	53,25 ± 44,01 (22,13 – 84,37)	1,02 ± 0,34 (0,78 – 1,26)	32,34 ± 5,2 (28,30 – 36,39)	50,00 ± 3,11 (47,80 – 52,19)	-	34,51 ± 41,37 (5,26 – 63,76)	21,96 ± 1,84 (20,65 – 23,26)	1,51 ± 0,51 (1,15 – 1,88)	Sul do Brasil	Este estudo
C (2)	79,0 (27,0 – 130,0)	0,70 (0,68 – 0,71)	40,6 (33,3 – 47,9)	140,0 (39 – 230)	10,0 (5,9 – 15,0)	30,9 (5,89 – 56,0)	2,58 (0,037 – 5,12)	1,5 (0,73 – 2,20)	Sul do Brasil	3
D (3)	91,83 ± 54,61 (30,41 – 134,88)	1,45 ± 0,34 (1,10 – 1,77)	18,09 ± 2,11 (15,68 – 19,58)	110,54 ± 36,93 (72,50 – 146,26)	-	70,83 ± 85,80 (6,04 – 168,13)	29,93 ± 5,36 (26,81 – 36,12)	2,04 ± 1,46 (0,36 – 2,93)	Sul do Brasil	Este estudo
D (1)	190,0	1,2	33,4	290	3,6	7,83	0,74	3,2	Sul do Brasil	3

(A= *Sotalia guianensis*; B= *Pontoporia blainvillei*; C= *Stenella frontalis*; D= *Stenella coeruleoalba*).

As concentrações em peso úmido foram convertidas em peso seco assumindo-se uma porcentagem de umidade de 69,7 (Yang e Miyazaki, 2003).

^a N – número de indivíduos. Referências: 1- Monteriro-Neto *et al.* (2003); 2- Kehrig *et al.* (2004); 3- Kunito *et al.* (2004); 4- Marcovecchio *et al.* (1994); 5- Gerpe *et al.* (2002); 6- Lailson-Brito *et al.* (2002).

5.3. *Sotalia guianensis* (van Bénéden, 1862)

5.3.1. O efeito de parâmetros biológicos (comprimento total, sexo e maturidade sexual) sobre a acumulação hepática dos elementos-traço

A outra espécie de golfinho de hábito costeiro investigada neste estudo foi a *Sotalia guianensis*. Neste sub-item desta tese só serão apresentados dados das concentrações hepáticas desta espécie, pois somente o fígado foi analisado. Não foi realizada uma comparação entre as regiões, como foi feito com a *P. blainvillei*, pois a *S. guianensis* não é encontrada na costa do Rio Grande do Sul.

Neste estudo, assim como o observado para os indivíduos das duas populações de *P. blainvillei*, não foi observada diferença significativa (Kruskal-Wallis - ANOVA, $p > 0,05$) na acumulação hepática dos elementos-traço (essenciais e não-essenciais) entre os sexos dos indivíduos de *S. guianensis* provenientes da costa do Rio de Janeiro. Normalmente, os mamíferos marinhos não apresentam diferenças entre os sexos na acumulação de elementos-traço (O'Shea, 1999), como reportado em estudos anteriores com *S. guianensis* coletadas em diferentes áreas costeiras do Brasil (Monteiro-Neto et al., 2003; Kunito et al., 2004).

A análise dos dados dos indivíduos de *S. guianensis*, provenientes da costa norte do Rio de Janeiro (SE), mostrou que dentre os elementos essenciais estudados, somente a concentração hepática de Se apresentou correlação significativa e positiva com os comprimentos totais (L) dos indivíduos analisados (Figura 25). Enquanto, a concentração de Cu no fígado destes mesmos indivíduos apresentou uma correlação significativa e negativa com o seu comprimento total (Figura 25). A diminuição da concentração de Cu hepático com o comprimento dos indivíduos vem sendo reportada na literatura para algumas espécies de cetáceos tais como Belugas (Woshner et al., 2001) e golfinho-comum-de-bico-curto (Lavery et al., 2008). Kunito et al. (2004) observaram este mesmo padrão em indivíduos de *S. guianensis* coletados ao longo das costas dos estados de São Paulo e Paraná.

Com relação às concentrações hepáticas dos elementos não-essenciais estudados, foram observadas correlações significativas entre as concentrações hepáticas de Hg e Hg_{Org} e o comprimento total dos indivíduos de *S. guianensis*

(Figura 26). As linhas de tendências só foram traçadas nas figuras onde foram obtidas correlações significativas.

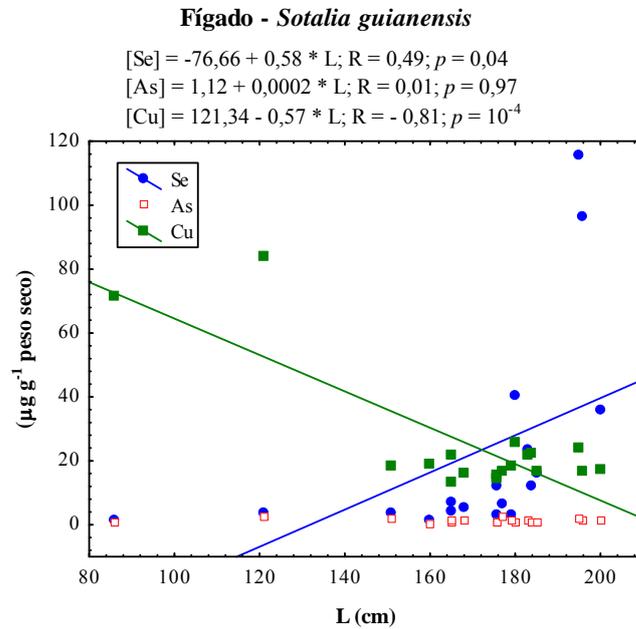


Figura 25. Relação entre as concentrações dos elementos essenciais no fígado e o comprimento total – L (cm) da *Sotalia guianensis*.

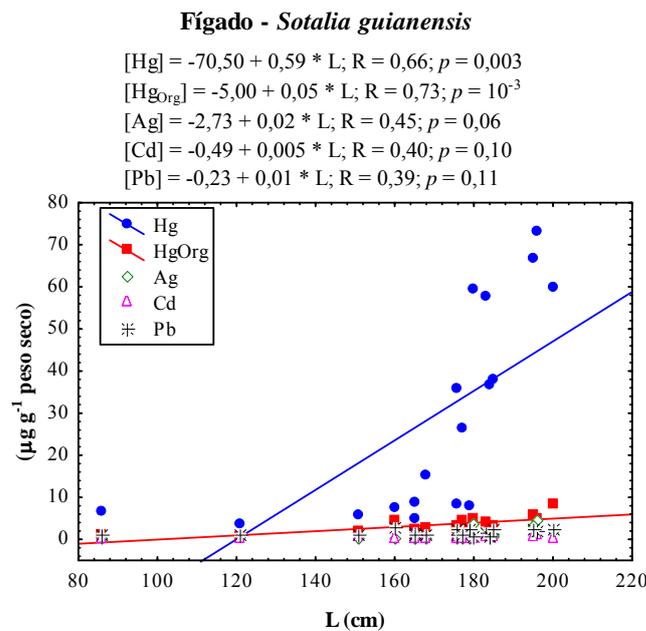


Figura 26. Relação entre as concentrações dos elementos não-essenciais no fígado e o comprimento total – L (cm) da *Sotalia guianensis*.

A concentração de Hg_{Org} encontrada neste estudo variou de 0,49 a 9,67 $\mu g g^{-1}$, correspondendo, em média, a 39% da fração de mercúrio total (variando de 6,6 a 56,7 % Hg_{Org}). Observou-se uma diminuição altamente significativa ($p < 0,01$) da % Hg_{Org} em relação à concentração de mercúrio total no fígado dos indivíduos de *S. guianensis*, como mostra a Figura 27. É importante salientar que a concentração de Hg_{Org} encontrada inclui o MeHg e outras formas orgânicas de mercúrio (Kehrig et al., 2008).

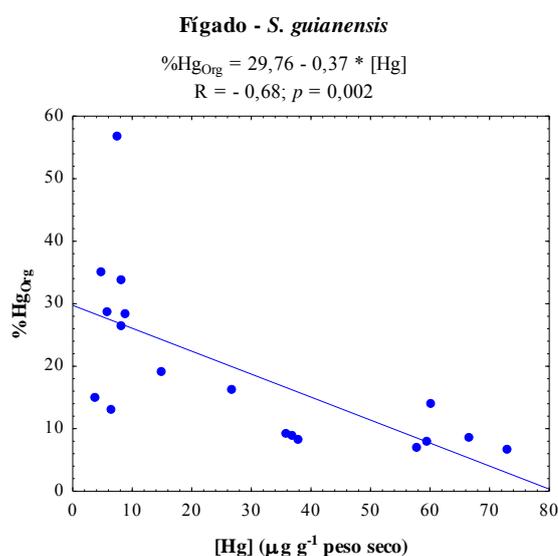


Figura 27. Relação da % Hg_{Org} com a concentração de mercúrio total no fígado da *Sotalia guianensis*.

A maturação sexual parece influenciar na acumulação de Se, Hg e Ag no fígado da *S. guianensis*. Os indivíduos maduros apresentaram concentrações hepáticas mais elevadas destes elementos, quando comparadas com os indivíduos sexualmente imaturos. A maturidade sexual parece não influenciar sobre a acumulação de Pb, Cd e As no fígado destes indivíduos de *S. guianensis* coletados no Rio de Janeiro, onde o teste de Mann-Whitney mostrou não haver diferença significativa ($p > 0,05$) entre os indivíduos maduros e imaturos.

No presente estudo observou-se que a percentagem de mercúrio orgânico em relação ao mercúrio total (% Hg_{Org}) no fígado apresentou uma diminuição com relação ao comprimento total dos indivíduos de *S. guianensis* estudados (Figura

28). As menores % Hg_{Org} foram encontradas nos indivíduos com os maiores comprimentos totais, o que pode estar sugerindo que o fígado destes indivíduos apresenta processos mais eficientes de desmetilação/eliminação das formas mais tóxicas de mercúrio neste órgão.

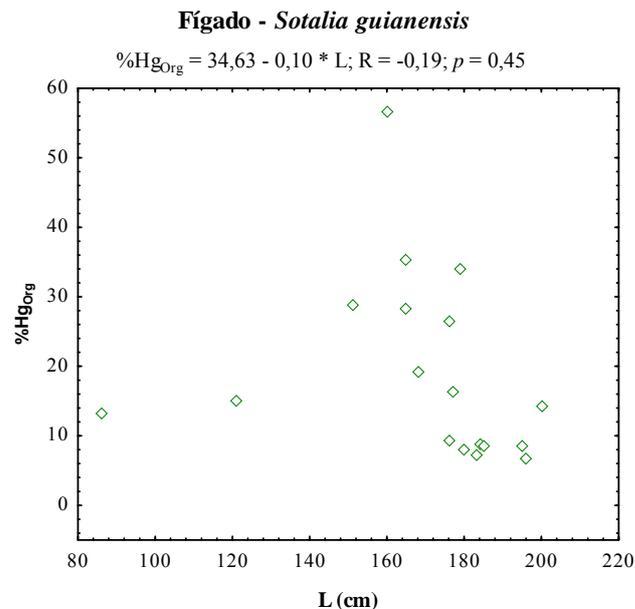


Figura 28. Relação entre as proporções de mercúrio orgânico em relação ao mercúrio total (% Hg_{Org}) no fígado com o comprimento total – L (cm) da *Sotalia guianensis*.

Não será possível se fazer o estudo sobre a influência da idade na acumulação dos elementos-traço no fígado da *S. guianensis*, como o realizado na *P. blainvillei* proveniente do Rio Grande do Sul (S), uma vez que não se sabe a idade de nenhum dos indivíduos de *S. guianensis* empregados.

As concentrações dos elementos-traço encontradas fígado da *S. guianensis* estão apresentadas na Tabela 8.

Neste estudo, as concentrações hepáticas dos elementos essenciais e não-essenciais encontradas nos indivíduos de *S. guianensis* são da mesma ordem de grandeza daquelas reportadas em estudos anteriores realizados com esta espécie de cetáceo proveniente da costa da América do Sul (Tabela 9). Entretanto, a concentração hepática de Cu na *S. guianensis* mostrou-se mais baixa do que aquela encontrada em amostras de cetáceos da costa sul brasileira (Kunito et al.,

2004; Tabela 9) e também da costa Argentina (Gerpe et al., 2002; Marcovecchio et al., 2004; Tabela 9).

A concentração hepática de Pb encontrada neste estudo foi consideravelmente maior do que a encontrada em estudos anteriores realizados com indivíduos de *S. guianensis* provenientes da costa do estado do Paraná, no sul do Brasil (Kunito et al., 2004; Tabela 9) e também, da costa do estado do Ceará, no nordeste brasileiro (Monteiro-Neto et al., 2003; Tabela 9). Entretanto, vários fatores têm que ser levados em consideração quando se comparam indivíduos da mesma espécie, tais como: sexo, preferência alimentar, tempo de vida e método de análise (Capelli et al., 2008).

5.4. gênero *Stenella*

O número amostral de indivíduos do gênero *Stenella* coletados em ambas as áreas de estudo foi muito pequeno (dois indivíduos de *S. frontalis* em cada área de coleta e, três indivíduos de *S. coeruleoalba* provenientes do Rio Grande do Sul). Os parâmetros idade, comprimento total e sexo não são conhecidos para todos os indivíduos do gênero *Stenella*, assim sendo, não será apresentada uma discussão relacionada às diferenças na acumulação dos elementos-traço como foi feita para as espécies de cetáceos *P. blainvillei* e *S. guianensis*.

O interesse em se estudar os indivíduos do gênero *Stenella* deve-se ao fato destes apresentarem hábitos de vida completamente diferentes das espécies *P. blainvillei* e *S. guianensis*. A *Stenella* possui hábito oceânico, isto é, habita um ecossistema completamente diferente além, de possuir uma preferência alimentar completamente distinta das outras duas espécies de golfinho que, são de hábito costeiro.

Neste estudo, levando-se em consideração todos os indivíduos do gênero *Stenella* coletados (N=7) na área tropical e subtropical, as concentrações hepáticas encontradas para os elementos essenciais foram: Se ($56,16 \pm 53,00 \mu\text{g g}^{-1}\text{p.s.}$), As ($1,17 \pm 0,35 \mu\text{g g}^{-1} \text{p.s.}$) e Cu ($22,46 \pm 7,30 \mu\text{g g}^{-1} \text{p.s.}$). Enquanto, para os elementos não-essenciais, os indivíduos do gênero *Stenella* de ambas as áreas de coleta apresentaram as seguintes concentrações hepáticas: Hg ($64,12 \pm 51,29 \mu\text{g}$

$\text{g}^{-1}\text{p.s.}$), Ag ($1,33 \pm 1,24 \mu\text{g g}^{-1} \text{p.s.}$), Cd ($41,53 \pm 60,33 \mu\text{g g}^{-1} \text{p.s.}$) e Pb ($19,26 \pm 13,65 \mu\text{g g}^{-1} \text{p.s.}$).

As concentrações encontradas tanto para os elementos essenciais quanto para os não-essenciais no fígado dos indivíduos do gênero *Stenella* apresentaram um valor semelhante ao observado no estudo anterior realizado na costa brasileira (Kunito *et al.*, 2004; Tabela 9). Os indivíduos de hábito oceânico tendem a acumular maiores concentrações de elementos-traço em seus tecidos quando comparados aos indivíduos de hábito costeiro. Este fato pode indicar também, que a disponibilidade do alimento (escolha das presas) ao longo da localização geográfica em que vivem esses indivíduos seja um fator importante para a acumulação dos elementos-traço em seus tecidos. Essa tendência fica mais clara na discussão do próximo sub-item (5.5), quando são comparadas as diferentes espécies de cetáceos empregadas neste estudo.

5.5. Relação entre as espécies de cetáceos investigadas

A fim de se compreender as variações entre as espécies, a princípio estas foram divididas em quatro grupos: *Sotalia guianensis*, *Pontoporia blainvillei* (SE), *Pontoporia blainvillei* (S) e o gênero *Stenella*.

A partir daí, aplicou-se a análise de discriminantes a fim de se comparar as concentrações dos elementos entre as espécies de cetáceos estudadas.

Verificou-se não haver uma separação significativa entre os grupos *Pontoporia blainvillei* (SE), *Pontoporia blainvillei* (S), que pertencem a distintas populações. A distância de Mahalanobis (D^2) encontrada entre estes dois grupos mencionados foi muito pequena ($D^2 = 2,20$; $F = 2,08$; $p = 0,06$). A partir daí considerou-se que estes dois grupos fossem um único grupo; aplicando-se então, uma nova análise de discriminante, a fim de se comparar as concentrações dos elementos entre os três grupos de cetáceos formados: *Sotalia guianensis* (S), *Pontoporia blainvillei* (P) e o gênero *Stenella* (St).

A variável de maior contribuição para a função discriminante, entre os três grupos de cetáceos, foi o Hg hepático ($p \leq 10^{-6}$). A Ag e o Pb hepáticos ($p \leq 10^{-4}$ e $p \leq 10^{-3}$, respectivamente) foram as variáveis que também contribuíram para a função discriminante. As distâncias de Mahalanobis (D^2) foram altas (Tabela 10)

entre todos os grupos (S x P; S x St; P x St) indicando haver grandes diferenças significativas entre eles e o percentual correto de classificação foi de 80,7 %.

Tabela 10. Valor de F e a distância de Mahalanobis (D^2) entre as diferentes espécies de cetáceos analisadas, dados a partir da análise de discriminante.

Espécie x espécie	F	p	Distância de Mahalanobis (D^2)
S x P	7,4	10^{-6}	5,0
S x St	11,5	10^{-8}	17,7
P x St	13,3	10^{-8}	18,4

Percentual correto de classificação = 80,7 %

Foram utilizadas as duas primeiras variáveis canônicas determinadas na análise de discriminantes para representar graficamente a separação entre os três grupos (Figura 29). Observa-se nessa figura a separação clara entre as três espécies de cetáceos, onde os indivíduos que possuem hábito oceânico (gênero *Stenella*) se destacaram nitidamente dos indivíduos dos dois outros grupos, que possuem hábito costeiro (*Sotalia guianensis* e *Pontoporia blainvillei*).

Pode-se observar (Tabela 10 e Figura 29) que o grupo formado pelo gênero *Stenella* é o que apresentou as maiores distâncias de Mahalanobis (D^2), indicando haver grandes diferenças significativas ($p < 10^{-8}$) entre ele e os outros dois grupos formados pela *Sotalia guianensis* e *Pontoporia blainvillei*. Observando-se a Tabela 9, verifica-se que de maneira geral, os indivíduos do gênero *Stenella* apresentaram as maiores concentrações hepáticas quando comparadas com as encontradas no mesmo órgão das espécies costeiras. Este fato também foi observado em estudo anterior realizado com cetáceos de diferentes hábitos coletados nos estados de São Paulo e Paraná (Kunito et al., 2004).

No presente estudo, pôde-se observar que o habitat e principalmente a preferência alimentar influenciaram fortemente na acumulação hepática dos elementos-traço nas espécies de cetáceos investigadas.

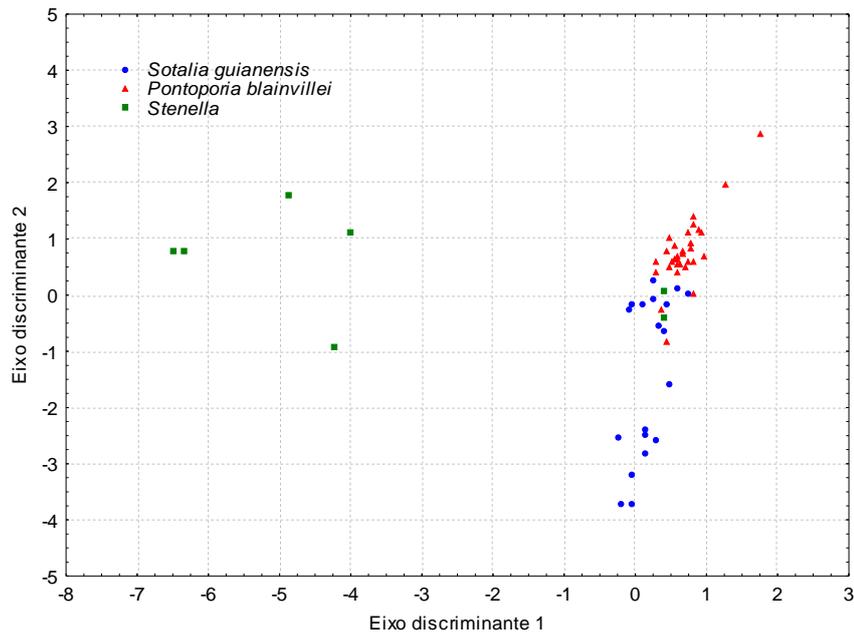


Figura 29. Representação gráfica das variáveis canônicas para a *Pontoporia blainvillei*, *Sotalia guianensis* e gênero *Stenella*.

O hábito alimentar aparece como agente primário na separação dos três grupos, pois o Hg, a Ag e o Pb são assimilados principalmente através da dieta alimentar dos mamíferos marinhos.

A *Sotalia guianensis* e a *Pontoporia blainvillei* co-habitam no mesmo ambiente, mas apresentam preferências alimentares distintas. *S. guianensis* alimenta-se preferencialmente de peixes piscívoros e altamente predadores (Di Benedetto & Ramos, 2004); enquanto a *P. blainvillei* alimenta-se de peixes e cefalópodes (Di Benedetto & Ramos, 2001). Na Figura 30 está representada a guilda trófica da *Sotalia guianensis* e da *Pontoporia blainvillei* capturadas na costa do Rio de Janeiro (SE).

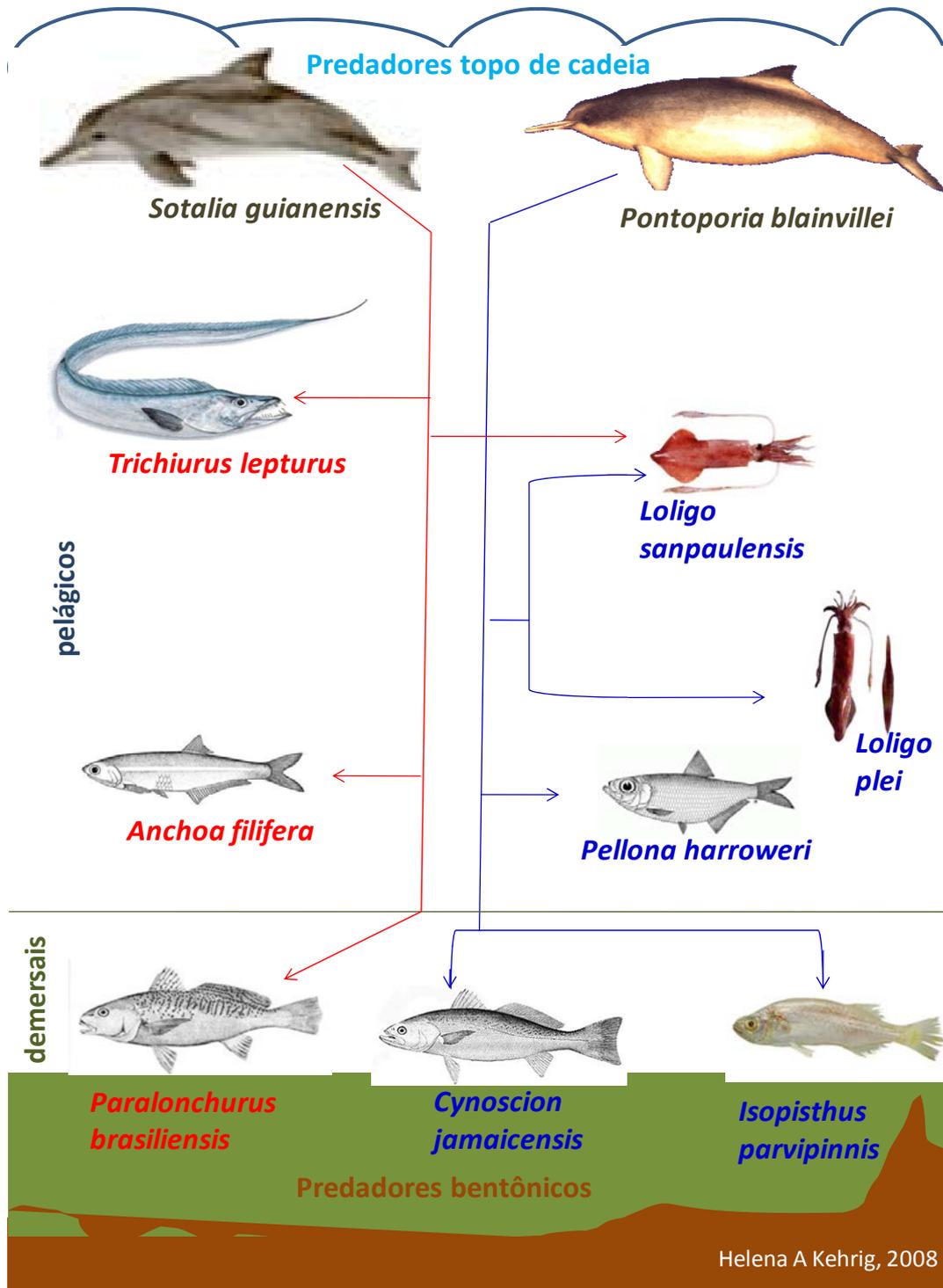


Figura 30. Representação gráfica da guilda trófica da *Sotalia guianensis* (em vermelho) e da *Pontoporia blainvillei* (em azul) acidentalmente capturadas na costa do Rio de Janeiro (SE).

Segundo Di Benedetto et al. (2001), a *S. frontalis* pode ser considerada, principalmente, uma espécie teutófaga, isto é, que se alimenta preferencialmente de cefalópodes. A presença de lulas na dieta alimentar do gênero *Stenella* foi reportada anteriormente em estudos realizados no Sul (Emerim et al., 1996) e sudeste (Di Benedetto et al., 2001) do Brasil, em que a partir da análise do conteúdo estomacal de indivíduos de *S. frontalis* foram identificadas a presença de lulas (da família Loliginidae), em maior quantidade, e de peixes, em menor quantidade.

5.6. Diferenças regionais

Neste sub-item só serão apresentados e discutidos dados a respeito das concentrações dos elementos-traço encontrados nas espécies *P. blainvillei* e *S. frontalis*, pois somente indivíduos destas espécies foram coletados em ambas as áreas de coleta (tropical e subtropical).

5.6.1. *Pontoporia blainvillei* (Gervais & D'Orbigny, 1844)

Diferenças regionais significativas ($p < 0,05$) foram observadas somente nas concentrações hepáticas de alguns elementos essenciais (tais como, Se e As) e não-essenciais (Hg, Hg_{Org}, Ag, e Cd) dos indivíduos de franciscana investigados.

Dentre os elementos estudados, os que têm como a principal via de exposição dos organismos marinhos através da dieta alimentar (Cd, Hg, Se), foram os que apresentaram diferença regional significativa nas suas concentrações hepáticas. Este comportamento pode estar relacionado ao fato do fígado sofrer influência direta do hábito alimentar na acumulação dos elementos-traço nestes organismos.

Os indivíduos acidentalmente capturados na costa sul do Brasil (S, região subtropical), geralmente, apresentaram as maiores concentrações de todos os elementos-traço em seus tecidos (Tabela 8). Embora uma série de fatores ambientais e fisiológicos possa ter alguma influência nas diferenças encontradas, a preferência alimentar e a complexidade da cadeia alimentar marinha podem ser

consideradas os principais fatores responsáveis pelo processo de bioacumulação dos elementos-traço em animais de vida longa como os mamíferos marinhos (Shibata et al., 1992; Bustamante et al., 1998; Monaci et al., 1998; Kubota et al., 2001).

As concentrações dos elementos-traço observadas nos tecidos das franciscanas da região tropical (SE) foram inferiores as encontradas nos indivíduos da região subtropical (S). Este pode estar relacionado com a preferência alimentar dos indivíduos da primeira região (SE), formada principalmente de peixes, tais como, *Stellifer sp.*, *Anchoa filifera*, *Pellona harroweri* e *Isopisthus parvipinnis* (Di Benedetto & Ramos, 2001); enquanto os indivíduos da segunda região (S) se alimentam preferencialmente de peixes (*Cynoscion guatucupa*, *Micropogonias furnieri*, *Urophycis brasiliensis*) e cefalópodes (*Loligo sanpaulensis*) (Rodriguez et al., 2002).

5.6.2. *Stenella frontalis* (Cuvier, 1829)

A espécie de golfinho de hábito oceânico que foi capturada nas duas áreas de estudo foi a *Stenella frontalis*. Neste sub-item só serão apresentados os dados das concentrações hepáticas desta espécie, uma vez que somente o fígado destes indivíduos foi analisado.

Assim como o observado para os indivíduos das duas populações de *P. blainvillei* (hábito costeiro), os indivíduos de *S. frontalis* (hábito oceânico) acidentalmente capturados na região subtropical (S), geralmente, apresentaram as maiores concentrações de todos os elementos-traço em seus tecidos, quando comparadas aquelas encontradas nos indivíduos oriundos da região tropical (SE) (Tabela 8).

Quando são consideradas as concentrações de todos os elementos-traço estudados e Hg_{Org} , o teste de Wilks (teste multivariado de significância) mostrou não haver diferença significativa ($F = 44,2$; $p = 0,11$) entre as concentrações hepáticas dos indivíduos de *S. frontalis* coletados na costa sul (S) e na costa sudeste (SE) brasileira. Porém, o teste univariado dos resultados para cada elemento-traço mostrou haver diferenças regionais altamente significativas ($p <$

0,001) somente para as concentrações hepáticas de Hg ($F = 127,2$; $p = 0,008$) e Pb ($F = 264,9$; $p = 0,004$) encontradas nos indivíduos de *S. frontalis* estudados. A prata apresentou um resultado próximo ao limite de significância deste teste ($F = 15,25$; $p = 0,059$).

5.7. Relações entre os elementos

No presente estudo, só serão apresentadas e discutidas as relações entre alguns metais de transição (mercúrio, cádmio e prata) e o selênio. O interesse em se verificar estas relações nos organismos, refere-se ao fato destes metais interagirem com o selênio, fazendo com que a toxicidade dos metais de transição seja reduzida através desta interação (Sasakura & Suzuki, 1998). Segundo Arai et al. (2004), esta interação pode ocorrer através da formação de compostos insolúveis de seleneto ou através da ligação simultânea do metal tóxico a proteínas de alto peso molecular, como vem sendo observado em várias espécies de mamíferos marinhos. De acordo com Sasakura & Suzuki (1998) as razões molares entre os metais de transição e o selênio são de 1:1 para Hg:Se e Cd:Se, mas podendo ser de 1:1 ou 2:1 para Ag:Se.

5.7.1. Relação entre mercúrio e selênio

Neste estudo, uma relação positiva e altamente significativa ($p < 0,001$) foi encontrada entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado dos indivíduos de *P. blainvillei* coletados nas regiões tropical (Figura 31a) e subtropical (Figura 31b) da costa brasileira. Entretanto, somente os indivíduos provenientes da costa sul apresentaram uma correlação significativa entre a concentração molar de mercúrio e selênio nos rins (Figura 31b).

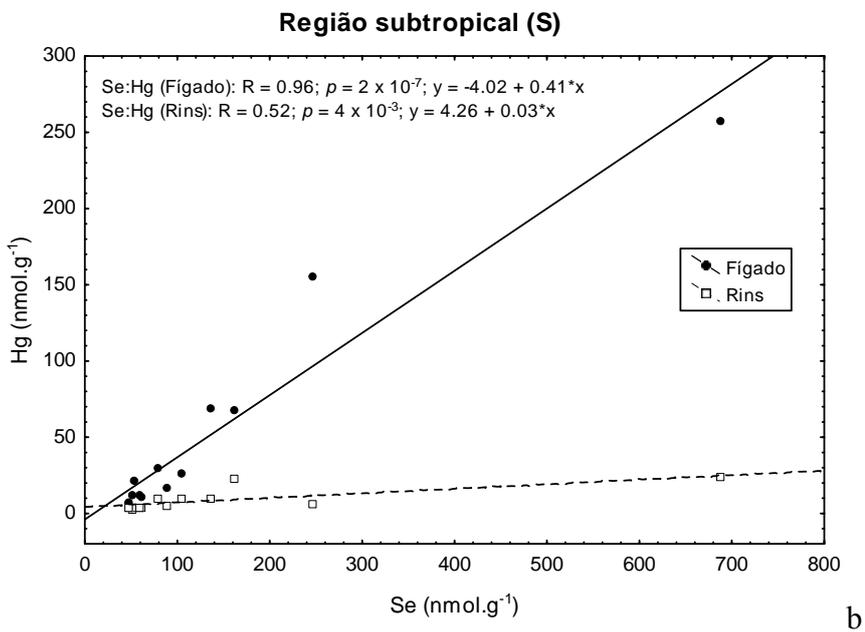
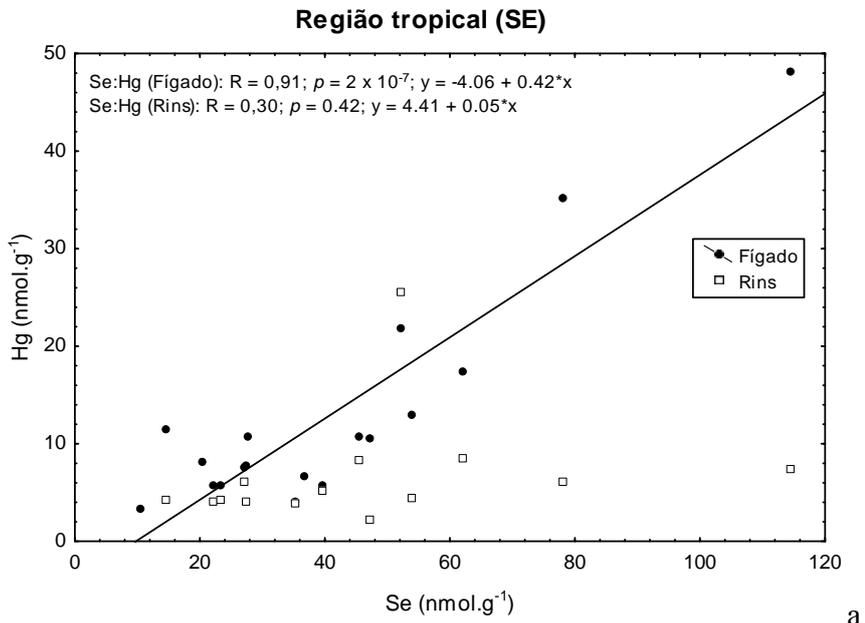


Figura 31. Relação entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado e rins dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S).

Assim como observado para os indivíduos de *P. blainvillei* empregados neste estudo, os indivíduos de *S. guianensis* provenientes da costa norte do estado do Rio de Janeiro também apresentaram uma correlação positiva e altamente significativa ($p < 0,001$) entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado, como mostra a Figura 32. O mesmo comportamento foi observado quando são levados em consideração todos os indivíduos do gênero *Stenella* capturados em ambas as áreas de coleta (Figura 33).

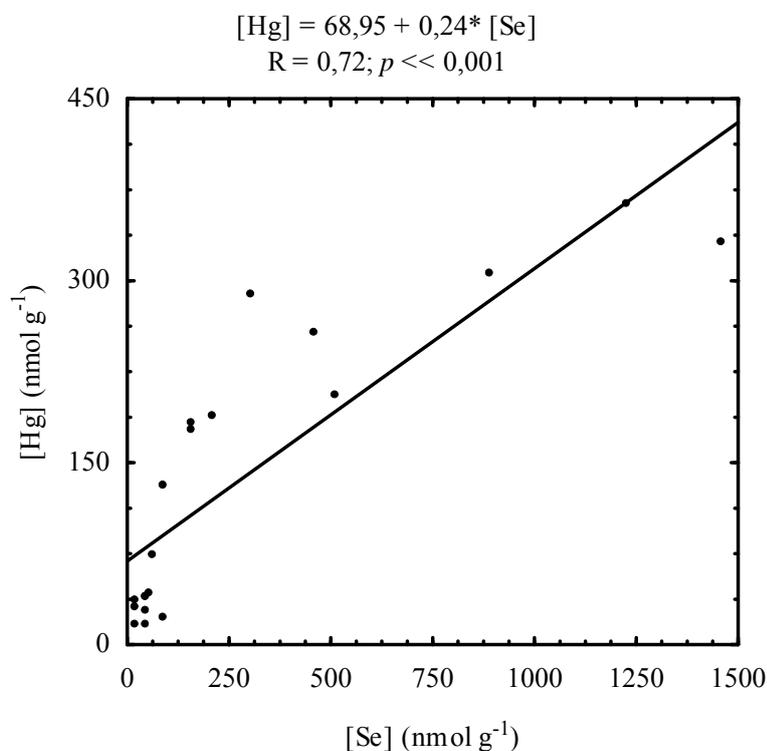


Figura 32. Relação entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado dos indivíduos de *Sotalia guianensis* coletados na costa norte do Rio de Janeiro (SE).

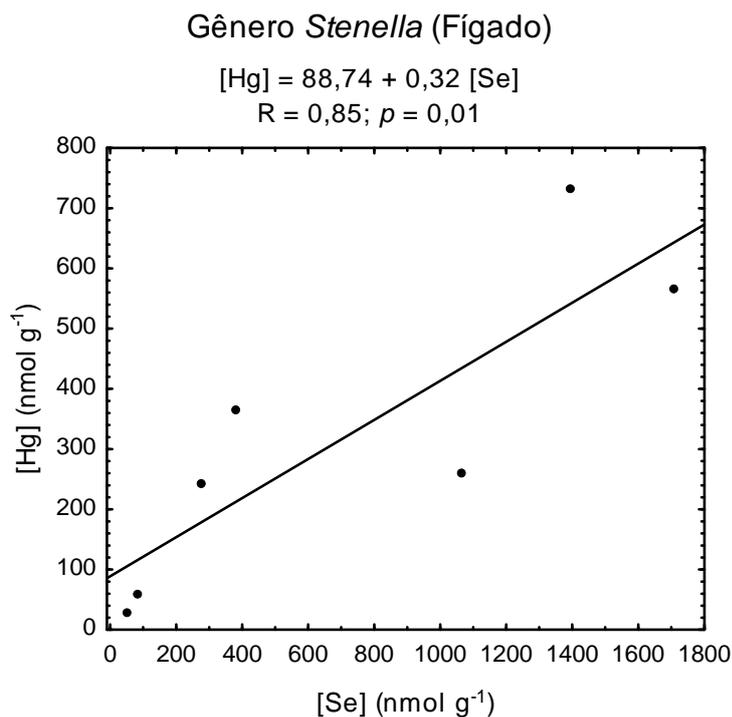


Figura 33. Relação entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado dos indivíduos do gênero *Stenella* coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e do Rio Grande do Sul (S).

A relação altamente significativa e positiva encontrada entre a concentração molar de mercúrio e selênio no fígado e rins dos mamíferos marinhos já está bem documentada na literatura (Caurant et al., 1994; Palmisano et al., 1995; Wagemann et al., 1998; Meador et al., 1999; Capelli et al., 2000; Das et al., 2000; Dietz et al., 2000; Endo et al., 2002; Brunborg et al., 2006; Capelli et al., 2008; Lavery et al., 2008). Esta relação pode estar refletindo uma associação direta entre estes dois elementos nos órgãos internos dos mamíferos marinhos, explicando assim o importante papel desempenhado pelo selênio na destoxificação do mercúrio no fígado destes animais (Arai et al., 2004).

Os indivíduos de *P. blainvillei* empregados neste estudo apresentaram uma concentração molar de selênio hepático maior do que a de mercúrio. Foi observada uma razão molar Se:Hg de 4:1. Enquanto nos rins desses indivíduos, a concentração molar de selênio hepático foi muito maior do que a de mercúrio,

apresentando uma razão molar Se:Hg de 16:1. Este comportamento foi observado também em estudos anteriores realizados com franciscana da costa brasileira, em que as concentrações molares de selênio hepático foram maiores do que as de mercúrio nestes indivíduos (Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a).

Com relação aos indivíduos de *S. guianensis*, estes apresentaram uma concentração molar de selênio hepático muito próximo a de mercúrio, observando-se uma razão molar Se:Hg de 1:0,92, ou seja, bem próxima a 1:1, assim como reportado em alguns estudos realizados com diferentes espécies de mamíferos marinhos (Leonzio et al., 1992; Palmisano et al., 1995; Meador et al., 1999; Cappeli et al., 2000; Dietz et al., 2000; Wagemann et al., 2000; Cardellicchio et al., 2002; Endo et al., 2002; Bustamante et al., 2003; Law et al., 2003; Ikemoto et al., 2004) e também, com esta mesma espécie coletada em diferentes regiões da costa brasileira (Kehrig et al., 2004; Kunito et al., 2004).

Os indivíduos do gênero *Stenella* investigados neste estudo apresentaram uma concentração molar de selênio hepático maior do que a de mercúrio. Foi observada uma razão molar Se:Hg de 2:1. Estudos anteriores com a *Stenella coeruleoalba* proveniente do Hemisfério Norte (Capelli et al., 2000; Cardellicchio et al., 2002) observaram uma razão molar Se:Hg de 1:1.

É importante salientar que a espécie de cetáceo *S. guianensis* alimenta-se preferencial de peixes maiores e que ocupam níveis tróficos elevados (Di Benedetto & Ramos, 2004), enquanto a *P. blainvillei* alimenta-se preferencialmente de peixes menores e cefalópodes (Di Benedetto & Ramos, 2001) (ver Figura 30). De acordo com a literatura, os mamíferos marinhos que se alimentam preferencialmente de peixes tendem a acumular maiores concentrações de mercúrio no fígado (Watanabe et al., 2002), uma vez que a maior parte do mercúrio presente nos peixes e cefalópodes está na sua forma metilada (Caurant et al., 1996; Das et al., 2000).

Segundo o estudo de Kehrig et al. (2008) realizado com indivíduos de *S. guianensis* provenientes da costa norte do Rio de Janeiro, a maior fração do mercúrio total (Hg_{Tot}) apresentada no fígado dos indivíduos investigados, apresentou-se na forma de seleneto de mercúrio (HgSe), correspondendo a uma média de 53% do mercúrio total. Porém, as mais altas percentagens de metilmercúrio (MeHg) (cerca de 28 %) e as mais baixas percentagens de HgSe (aproximadamente 0 %) foram encontradas no fígado dos indivíduos que

apresentavam concentrações de mercúrio total abaixo de $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso seco (Figura 34a). Além do mais, as mais altas percentagens de HgSe (aproximadamente 83 %) foram encontradas nos indivíduos que apresentavam as mais elevadas concentrações hepáticas de mercúrio total ($87,92 \mu\text{g g}^{-1}$ p.s.), como mostra a Figura 34b.

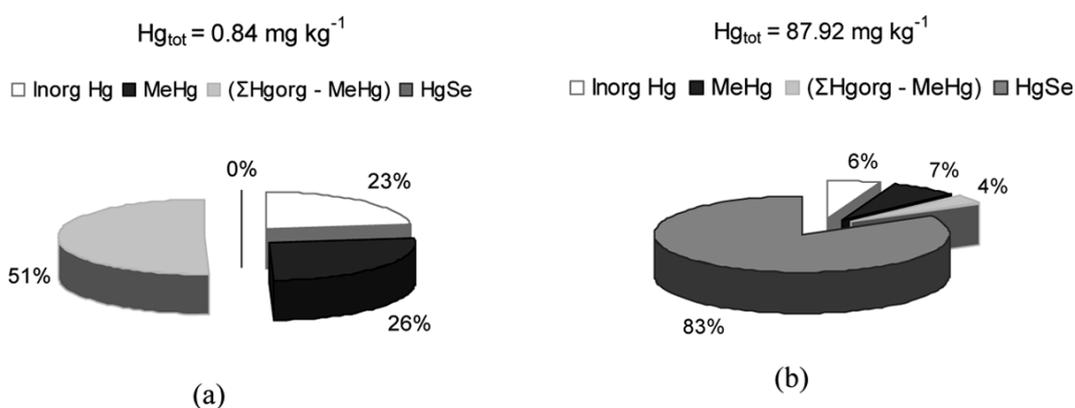


Figura 34. Distribuição das espécies de mercúrio apresentadas no fígado de dois indivíduos de *Sotalia guianensis*: (a) exemplo de uma amostra com as mais baixas concentrações hepáticas de Hg_{Tot} e (b) exemplo de uma amostra com as mais elevadas concentrações hepáticas de Hg_{Tot} (adaptado de Kehrig et al., 2008).

Neste mesmo estudo, Kehrig et al. (2008) observaram que todos os indivíduos de *S. guianensis* que apresentavam concentrações hepáticas de mercúrio total acima de $5,5 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco, mostravam altas percentagens de HgSe (variando de 44% a 89%) e baixas percentagens de MeHg (variando de 2% a 7%). Confirmando assim, a ocorrência do processo de desmetilação do MeHg através da formação de grânulos inertes de HgSe no fígado da espécie de golfinho investigada. Porém, este processo só foi desencadeado a partir de determinadas concentrações hepáticas de mercúrio total.

5.7.2. Relação entre cádmio e selênio

Neste estudo, uma relação positiva e altamente significativa ($p < 0,001$) foi encontrada entre a concentração molar de cádmio e selênio no fígado dos indivíduos de *P. blainvillei* coletados somente na região tropical (S) (Figura 35a) da costa brasileira. Esta relação foi também observada no fígado de outras espécies de mamíferos marinhos, tais como: baleia piloto (*Globicephala melas*) (Caurant *et al.*, 1994), golfinho riscado (*Stenella coeruleoalba*) (Monaci *et al.*, 1998) e golfinho comum (*Tursiops truncatus*) (Meador *et al.*, 1999).

Os indivíduos de *P. blainvillei* neste estudo apresentaram uma concentração molar de selênio hepático muito maior do que a de Cádmio. Foi observada uma razão molar Se:Cd de 107:1. Este comportamento foi observado também em estudos anteriores realizados com outras espécies de golfinho do hemisfério norte (Monaci *et al.*, 1998; Meador *et al.*, 1999).

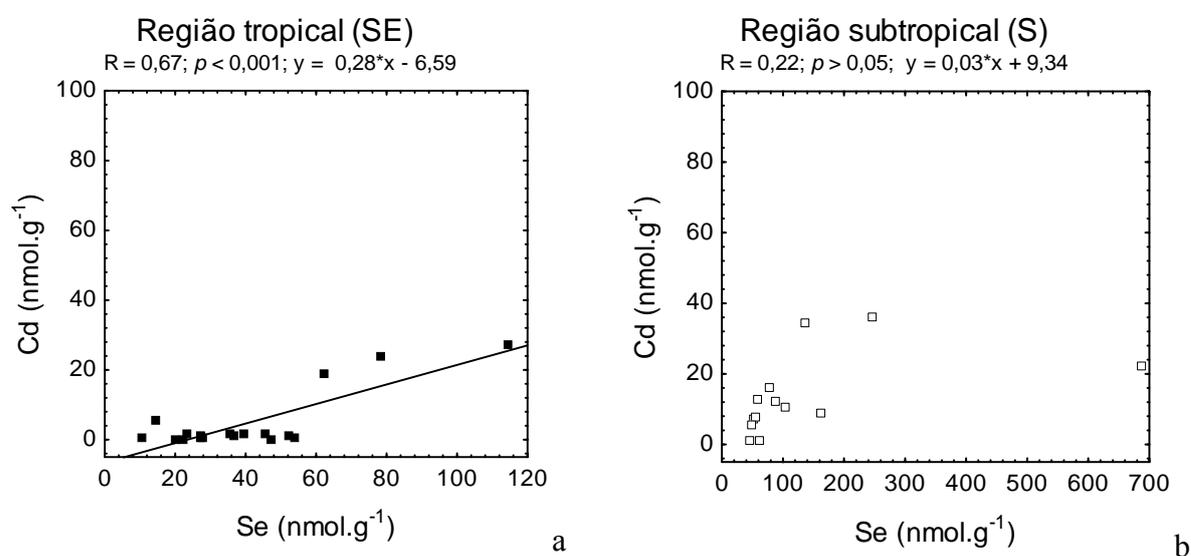


Figura 35. Relação entre a concentração molar de cádmio e selênio no fígado dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S).

Com relação aos rins dos indivíduos de *P. blainvillei* de ambas as regiões, não foram observadas relações significativas entre a concentração molar de cádmio e selênio, como mostra a Figura 36a, b. A razão molar apresentada por estes elementos (Se: Cd) foi de 13:1. Observações similares foram feitas por Monaci et al. (1998) e Meador et al. (1999) em espécies de golfinho do hemisfério norte.

Na literatura científica, informações sobre a relação Cd e Se nos tecidos de mamíferos marinhos são escassas, onde nenhum estudo reportou esta relação, nem no fígado nem nos rins, de indivíduos de franciscana.

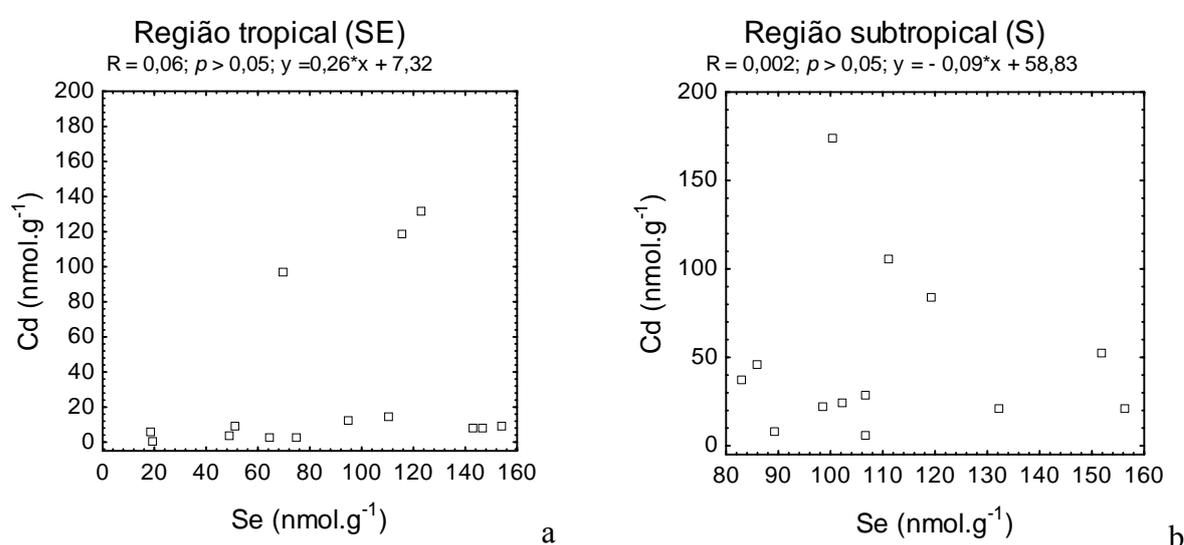


Figura 36. Relação entre a concentração molar de cádmio e selênio nos rins dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S).

Assim como observado para os indivíduos de *P. blainvillei* oriundos da costa norte do estado do Rio de Janeiro (SE), os indivíduos de *S. guianensis* coletados nesta mesma área também apresentaram uma correlação positiva e significativa ($p < 0,05$) entre a concentração molar de cádmio e selênio no fígado, como mostra a Figura 37. Entretanto, quando se considerou todos os indivíduos do gênero *Stenella* capturados em ambas as áreas de coleta, não se observou uma correlação significativa entre a concentração molar de Cd e Se (Figura 38).

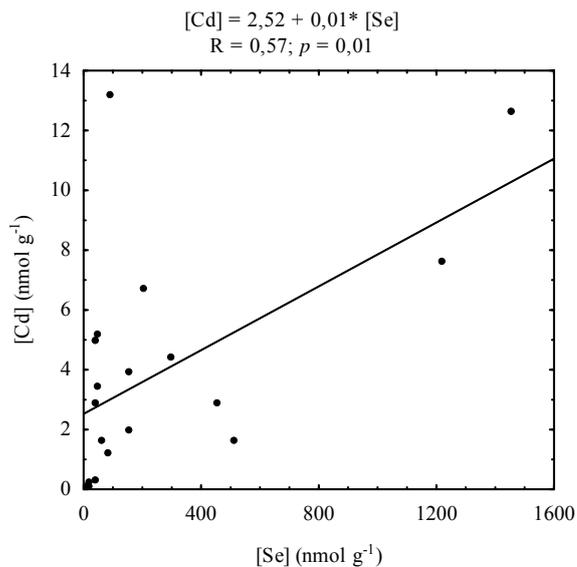


Figura 37. Relação entre a concentração molar de cádmio e selênio no fígado dos indivíduos de *Sotalia guianensis* coletados na costa norte do Rio de Janeiro (SE).

Os indivíduos de *S. guianensis* neste estudo apresentaram uma concentração molar de selênio hepático muito maior do que a de cádmio. Foi observada uma razão molar Se: Cd 104:1. Enquanto os indivíduos do gênero *Stenella* apresentaram uma concentração molar de selênio hepático apenas um pouco maior do que a de cádmio, sendo a razão molar Se: Cd de 7:1.

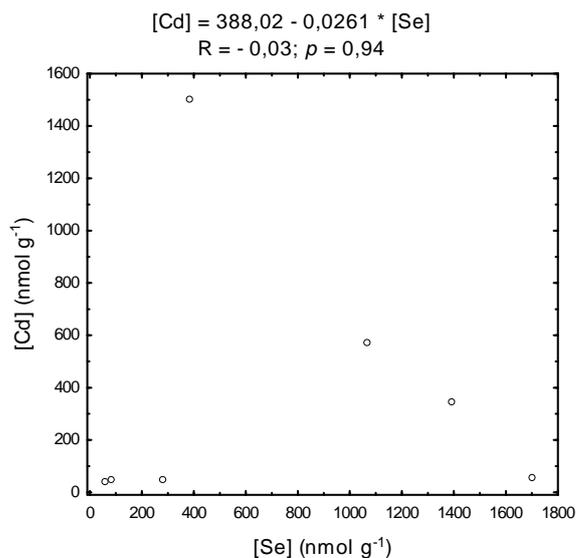


Figura 38. Relação entre a concentração molar de cádmio e selênio no fígado dos indivíduos do gênero *Stenella* coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e do Rio Grande do Sul (S).

Segundo Caurant et al. (1994), o selênio pode proteger os mamíferos dos efeitos tóxicos do cádmio, através da formação de um complexo equimolar formado entre o Se e o Cd no fígado destes organismos. Entretanto, sabe-se que as metalotioneínas (MTs) desempenham o papel principal no processo de destoxificação do Cd em mamíferos marinhos (Das et al., 2000; Woshner et al., 2001).

5.7.3. Relação entre prata e selênio

Neste sub-item só serão apresentados e discutidos dados a respeito das relações entre prata e selênio no fígado dos indivíduos de *P. blainvillei*, *S. guianensis* e do gênero *Stenella*, pois as concentrações de prata foram determinadas somente no fígado destes indivíduos.

No presente estudo, uma relação positiva e altamente significativa ($p < 0,001$) foi encontrada entre a concentração molar de prata e selênio no fígado dos indivíduos de *P. blainvillei* coletados nas regiões tropical (SE) (Figura 39a) e subtropical (S) (Figura 39b) da costa brasileira. Este comportamento também foi observado para os indivíduos de *S. guianensis* (Figura 40) e para os indivíduos do gênero *Stenella* (Figura 41) investigados neste estudo.

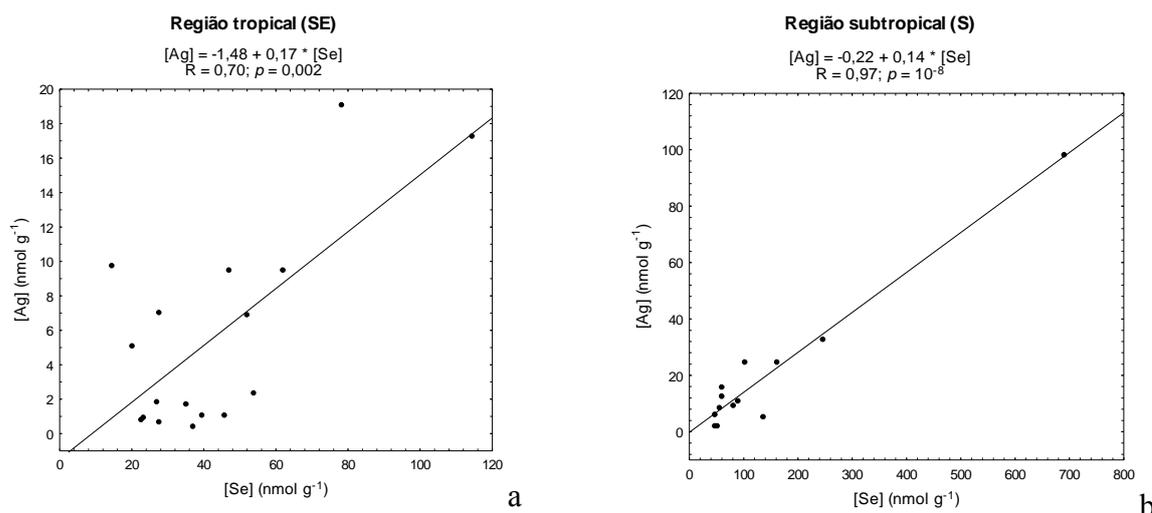


Figura 39. Relação entre a concentração molar de prata e selênio no fígado e rins dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S).

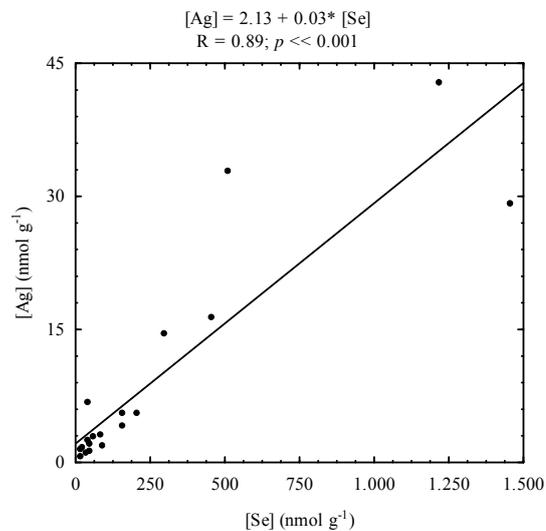


Figura 40. Relação entre a concentração molar de prata e selênio no fígado dos indivíduos de *Sotalia guianensis* coletados na costa norte do Rio de Janeiro (SE).

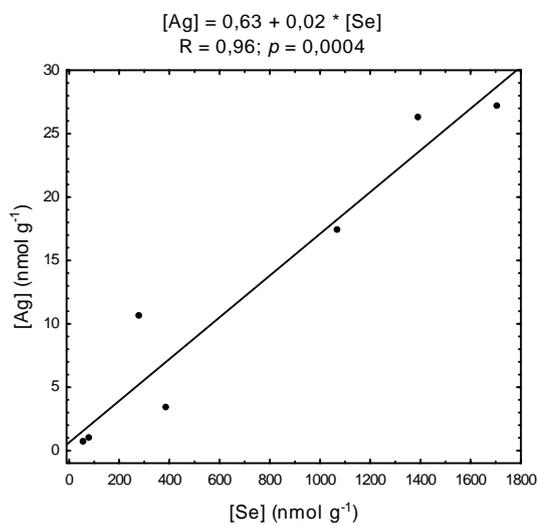


Figura 41. Relação entre a concentração molar de prata e selênio no fígado dos indivíduos do gênero *Stenella* coletados na costa do Rio de Janeiro (SE) e Rio Grande do Sul (S).

Estudos anteriores reportaram uma relação altamente significativa e positiva entre a concentração molar de prata e selênio no de mamíferos marinhos (Becker et al., 1995; Saeki et al., 2001; Woshner et al., 2001; Lavery et al., 2008). Segundo Becker et al. (1995), a prata pode acumular-se no fígado dos mamíferos marinhos assim como outros contaminantes tais como o mercúrio e o cádmio, em virtude, principalmente, do não reconhecimento deste elemento como essencial para qualquer organismo. Entretanto, a interação entre a prata e o selênio se diferencia daquela observada entre o selênio e outros metais. Na verdade, a prata pode induzir sintomas de deficiência de selênio em animais com deficiência de vitamina E, uma vez que esta forma um complexo com o selênio, fazendo com que se reduza a disponibilidade deste elemento essencial necessário para a realização de processos celulares (Hammond & Beliles, 1980).

Os indivíduos de *P. blainvillei* empregados neste estudo apresentaram uma concentração molar de selênio hepático maior do que a de prata. Foi observada uma razão molar Se:Ag de 17:1. Enquanto para os indivíduos de *S. guianensis* e do gênero *Stenella* foram observadas uma razão molar Se:Ag de 28:1 e 70:1, respectivamente.

6 Conclusões

- Com base nos resultados encontrados, pode-se concluir que o presente trabalho alcançou seu principal objetivo de compreender melhor os parâmetros biológicos e ecológicos que influenciam no processo de acumulação dos elementos-traço em órgãos internos de diferentes espécies de cetáceos que habitam regiões distintas, ainda pouco estudadas e com poucas informações como a costa brasileira;
- As metodologias analíticas empregadas neste trabalho mostraram-se precisas, uma vez que os resultados experimentais encontrados para todos os elementos-traço e mercúrio orgânico nos materiais de referência certificados utilizados não foram significativamente diferentes dos valores certificados. Demonstrando assim a eficiência dos procedimentos analíticos aplicados para a determinação de elementos-traço e também, de mercúrio orgânico nas matrizes estudadas;
- Parâmetros ecológicos, tais como as condições ambientais predominantes (região tropical e região subtropical) das diferentes áreas de captura assim como os parâmetros biológicos, tais como, por exemplo, população, tamanho, maturidade sexual, afetaram significativamente na acumulação dos elementos-traço e Hg_{Org} nos órgãos internos da espécie *P. blainvillei*. Porém, as preferências alimentares (presas dominantes) foram os principais fatores que influenciaram nas diferenças observadas na acumulação destes elementos nos tecidos da *P. blainvillei*.
- As condições ambientais das áreas de captura e principalmente, a disponibilidade de alimento ao longo destas áreas foram os fatores que mais influenciaram nas diferenças observadas na acumulação hepática dos elementos-traço no gênero *Stenella*. Estes golfinhos, que possuem hábito oceânico, habitam regiões do Oceano Atlântico Sul muito distante da costa brasileira. Assim sendo, não sofrem diretamente a influência dos impactos antropogênicos costeiros.

- Existe uma diferença significativa na acumulação hepática dos elementos-traço entre as espécies de hábito oceânico e costeiro. As espécies de hábito oceânico apresentaram maiores concentrações hepáticas destes elementos estudados. Sugerindo-se mais uma vez que a preferência alimentar assim como a disponibilidade de alimento ao longo das distintas regiões de coleta, são os fatores mais importantes para a acumulação dos elementos-traço nos órgãos internos das espécies investigadas. As variáveis, isto é, os elementos-traço, que mais influenciaram significativamente no estabelecimento desse padrão de comportamento, foram as concentrações hepáticas de Hg, Pb e Ag.
- As concentrações molares de Hg, Cd e Ag se correlacionaram positivamente com as concentrações molares de Se no fígado das espécies estudadas, indicando que o Se tem uma forte ligação com estes elementos nesses tecidos. Uma possível explicação para estas correlações é o provável seqüestro destes elementos pelo Se na formação de complexos, como vêm sendo observado, em ensaios laboratoriais com animais.
- A *Sotalia guianensis*, espécie de hábito costeiro assim como a *Pontoporia blainvillei* e que, preferencialmente se alimenta de peixes predadores, apresentou uma razão molar hepática próxima a 1:1 entre o Se e o Hg, além da percentagem de mercúrio na forma de Hg_{Org} diminuir com o aumento de Hg total. Estes dados sugerem que um provável mecanismo de destoxificação esteja ocorrendo no fígado da *S. guianensis*. Já *P. blainvillei*, que co-habita o mesmo ambiente com *S. guianensis*, porém se alimenta preferencialmente de outras espécies de peixes e cefalópodes, apresenta uma razão molar hepática próxima a 4:1 entre o Se e o Hg, além da percentagem de mercúrio na forma de Hg_{Org} diminuir com o aumento de Hg. Este fato também pode estar sendo influenciado diretamente pela preferência alimentar, além das diferenças metabólicas inter-espécies.
- Os resultados encontrados neste estudo, não se diferenciaram daqueles poucos padrões reportados na literatura para a costa brasileira para as espécies investigadas; além de incrementarem e contribuírem com novos dados.

7

Referências bibliográficas

AMORIM, F.A.C. et al. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1784-1790, 2008.

ANAN, Y. et al. Elevated concentrations of trace elements in Caspian Seals (*Phoca caspica*) found stranded during the mass mortality events in 2000. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 42, p. 354-362, 2002.

ANDRÉ, J.M.; RIBEYRE, F. & BOUDOU, A. Mercury contamination levels and distribution in tissues and organs of delphinids (*Stenella attenuata*) from the eastern tropical Pacific, in relation to biological and ecological factors. **Marine Environmental Research**, v. 30, p. 43-72, 1990.

ALTINDAG, A. & YIGIT, S. Assessment of heavy metal concentrations in the food web of lake Beysehir - Turkey. **Chemosphere**, v. 60, p. 552 – 556, 2005.

ARAI, T. et al. Chemical forms of mercury and cadmium accumulated in marine mammals and seabirds as determined by XAFS analysis. **Environmental Science Technology**, v. 38, p. 6468-6474, 2004.

ARCHER, F.I. & PERRIN, W.F. *Stenella coeruleoalba*. **Mamm. Species**, v. 603, p. 1-9, 1999.

AUGIER, H.; PARK, W.K. & RONNEAU, C. Mercury contamination of the striped dolphin *Stenella coeruleoalba* Meyen from the French Mediterranean coasts. **Marine Pollution Bulletin**, v. 26, n. 6, p. 306-311, 1993.

BARRETO, A.S. & ROSAS, F.C.W. Comparative growth analysis of two populations of *Pontoporia blainvillei* on the Brazilian coast. **Marine Mammal Science**, v. 22, p. 644-653, 2006.

BASSOI, M. **Feeding ecology of franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei* (Cetacea: Pontoporiidae), and oceanographic processes on the Southern Brazilian coast**. Tese de Doutorado apresentada ao Graduate School of the National Oceanography Centre, Southampton, p 207, 2005.

BATISTA, B.L. et al. Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: comparison with ETAAS. **Talanta**, v. 76, p. 575-579, 2008.

BECKER, P.R. et al. Relationship of silver with selenium and mercury in the liver of two species of toothed whales. **Marine Pollution Bulletin**, v. 30, n. 4, p. 262-271, 1995.

BERNARDES, A.T.; MACHADO, A.B.M. & RYLANDS, A.B. **Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Fundação Biodiversitas para a Conservação da Diversidade Biológica, Belo Horizonte, pp 62, 1989.

BOCCA, B. et al. Simple, fast, and low-contamination microwave-assisted digestion procedures for the determination of chemical elements in biological and environmental matrices by sector field ICP-MS. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, v. 87, n. 15, p. 1111-1123, 2007.

BORDINO, P. et al. Report of the working group on distribution and behavior. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 1, n. 1, p. 21-23, Special Issue 1, 2002.

BORBORIA, M. et al. Distribution of the South American dolphin *Sotalia fluviatilis*. **Canadian Journal of Zoology**, v. 69, p. 1025-1039, 1991.

BUSTAMANTE, P. et al. Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. **Science of the Total Environment**, v. 220, p. 71-80, 1998.

BUSTAMANTE, P. et al. Trace elements in two odontocete species (*Kogia breviceps* and *Globicephala macrorhynchus*) stranded in New Caledonia (South Pacific). **Environmental Pollution**, v. 124, p. 263-271, 2003.

BRUNBORG, L.A. et al. Levels of non-essential elements in muscle from harp seal (*Phagophilus groenlandicus*) and hooded seal (*Cystophora cristata*) caught in the Greenland Sea area. **Science of the Total Environment**, v. 366, p. 784-798, 2006.

CAPELLI, R. et al. Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) found dead along the Ligurian coasts (Italy). **Advances in Environmental Research**, v. 4, p. 31-43, 2000.

CAPELLI, R. et al. Distribution of trace elements in organs of six species of cetaceans from the Ligurian Sea (Mediterranean), and the relationship with stable carbon and nitrogen ratios. **Science of the Total Environment**, v. 390, p. 569, 2008.

CARDELLICCHIO, N. et al. Tissue distribution of metals in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Apulian coasts, Southern Italy. **Marine Environmental Research**, v. 49, p. 55-66, 2000.

CARDELLICCHIO, N. et al. Accumulation and tissue distribution of mercury and selenium in striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean Sea (southern Italy). **Environmental Pollution**, v. 116, p. 265-271, 2002.

CAURANT, F. et al. Ecological and biological factors controlling the concentrations of trace elements (As, Cd, Cu, Hg, Se, Zn) in delphinids *Globicephalas melas* from the North Atlantic Ocean. **Marine Ecology Progress Series**, v. 103, p. 207-219, 1994.

CAURANT, F.; NAVARRO, M. & AMIARD J-C. Mercury in pilot whales: possible limits to the detoxification process. **Science of the Total Environment**, v. 186, p. 95-104, 1996.

CHEN, M.H. et al. Mercury, Organic Mercury and Selenium in Small Cetaceans in Taiwanese waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, p. 237-245, 2002.

CMS, <http://www.cms.int>, visualizado em 23/11/2007.

CRESPO, E.A.; HARRIS, G. & GONZÁLES, R. Group size and distribution range of the franciscana, *Pontoporia blainvillei*. **Marine Mammal Science**, v. 14, n. 4, p. 845-849, 1998.

CRESPO, E.A. **Franciscana – *Pontoporia blainvillei***. In: Perrin, W.F.; Würsig, B. & Thewissen, J.G.M. (Eds.). Encyclopedia of Marine mammals. Academic Press, San Diego, pp. 482-487, 2002.

DALLING, R. et al. Metallothionein in snail Cd and Cu metabolism. **Nature**, v. 388, n. 6639, p. 237-238, 1997.

DANILEWICZ, D. **Biologia reprodutiva e padrões de uso de habitat da toninha, *Pontoporia blainvillei* (Mammalia, Cetacea), no litoral do Rio Grande do Sul**. Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Zoologia da PUC do Rio Grande do Sul, 2000.

DANILEWICZ, D. et al. Report of the Working Group on Biology and Ecology. Special Issue on the Biology and Conservation of Franciscana. In: Secchi, E.R., editor. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 1, p. 25-42, 2002.

DAS, K.; DEBACKER, V. & BOUQUEGNEAU, J.M. Metallothionein in marine mammals. **Cellular and Molecular Biology**, v. 46, p. 283-294, 2000.

DAS, K.; JACOB, V. & BOUQUEGNEAU, J.M. White-sided dolphin metallothioneins: purification, characterization and potential role. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, v. 131, p. 245-251, 2002.

DAS, K. et al. Zn, Cu, Cd and Hg binding to metallothioneins in harbour porpoises *Phocoena phocoena* from the southern North Sea. **BMC Ecology**, v. 6, p. 2. Available in: <http://www.biomedcentral.com/1472-6785/6/2>, accessed in December, 2006.

DE MORENO, J.E.A. et al. Heavy metals in Antarctic organisms. **Polar Biology**, v. 17, p.131-140, 1997.

DEHN, L. et al. Trophic relationships in an Arctic food web and implications for trace metal transfer. **Science of the Total Environment**, v. 362, p. 103-123, 2006.

DIETZ, R.; RIGET, F. & JOHANSEN, P. Lead, cadmium, mercury and selenium in Greenland marine animals. **Science of the Total Environment**, v. 186, p. 67-93, 1996.

DIETZ, R.; RIGET, F. & BORN, E.W. An assessment of selenium to mercury in Greenland marine animals. **Science of the Total Environment**, v. 245, p. 15-24, 2000.

DI BENEDITTO, A.P.M. & RAMOS, R.M.A. Biology and conservation of the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) in the north of Rio de Janeiro State, Brazil. **Journal of Cetacean Research and Management**, v. 3(2), p.185-192, 2001.

DI BENEDITTO, A.P.M. et al. Stomach contents of delphinids from Rio de Janeiro, southeastern Brazil. **Aquatic mammals**, v. 27, n. 1, p. 24-28, 2001.

DI BENEDITTO, A.P.M. Interactions between gillnet fisheries and small cetaceans in northern Rio de Janeiro, Brazil: 2001-2002. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 2, n. 2, p. 79-86, 2003.

DI BENEDITTO, A.P.M. & RAMOS, R.M.A. Biology of the marine tucuxi dolphin (*Sotalia fluviatilis*) in south-eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**; v. 84, p. 1245-1250, 2004.

DI BENEDITTO, A.P.M. & SICILIANO, S. Stomach contents of the marine tucuxi dolphin (*Sotalia guianensis*) from Rio de Janeiro, south-eastern Brazil. **Journal of Marine Biology**, v. 87, p. 253-254, 2007.

DORNELES, P. R. et al. Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off Central South Brazil Bight. **Environmental Pollution**, v. 148, p. 352, 2007.

DUGUY, R.; CASINOS, A. & FILELLA, S. Note sur la biologie de *Stenella coeruleoalba* dans le bassin occidental de la Méditerranée. **Rapp Comm Int Mer Médit**, v. 25-26, n. 10, p. 137-139, 1979.

EISLER, R. (1988). Lead hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. **Contaminant Hazard Reviews**. Biological Report 85, v. 1.14, Patuxent Wildlife Research Center, Laurel, MD, USA.

EISLER R. (2000). Selenium hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. **Contaminant Hazard Reviews**. Biological Report 85, v. 1.5, Patuxent Wildlife Research Center, Laurel, MD, USA.

EMERIM, E.G. et al. **Notas sobre o golfinho pintado do Atlântico, *Stenella frontalis* (Cetacea, Delphinidae) no sul do Brasil**. Anais da VI Reun. Trab. Esp. Mam. Aq. América do Sul, Florianópolis, Brasil, pp. 9-11, 1996.

ENDO, T.; HARAGUCHI, K. & SAKATA, M. Mercury and selenium concentrations in the internal organs of toothed whales and dolphins marketed for human consumption in Japan. **Science of the Total Environment**, v. 300, p. 15-22, 2002.

ENDO, T. et al. Distribution of total mercury, methyl mercury and selenium in pod of killer whales (*Orcinus orca*) stranded in the northern area of Japan: Comparison of mature females with calves. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 145-150, 2006.

ENDO, T. et al. Age-dependent accumulation of heavy metals in a pod of killer whales (*Orcinus orca*) stranded in the northern area of Japan. **Chemosphere**, v. 67, p. 51-59, 2007.

EPA. Report on the peer consultation workshop on selenium aquatic toxicity and bioaccumulation. Office of water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C, 1998.

FERTL, D. et al. Distribution of the Clymene dolphin *Stenella clymene*. **Mamm Rev**, v.33, n. 3, p. 253-271, 2003.

FONSECA, G.A.B. et al. **Livro Vermelho dos Mamíferos Brasileiros Ameaçados de Extinção**. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte, 1994.

FOWLER, S.W. **Biological transfer and transport process**. Boca Raton, Florida, CRC Press, vol. 2, p. 246, 1982.

FRANCESCONI, K.A. et al. Uptake of Arsenic-Betaines by the Mussel *Mytilus edulis*. **Comparative Biochemistry and Physiology C**, v. 122, n. 1, p. 131-137, 1999.

FRODELLO, J.P.; ROMEO, M. & VIALE D. Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. **Environmental Pollution**, v. 108, p. 447-452, 2000.

GERPE, M.S. et al. Accumulation of heavy metals in the Franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from Buenos Aires Province, Argentina. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 1, n. 1, p. 95-106, 2002.

GUILHERME, L.R.G. et al. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. **Tópicos de Ciência do Solo**, v. 4, p. 345-390, 2005.

HAMILTON, S.J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. **Science of the Total Environment**, v. 326, p.1-31, 2004.

IKEMOTO, T. et al. Comparison of trace element accumulation in Baikal seals (*Pusa sibirica*), Caspian seals (*Pusa caspica*) and northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). **Environmental Pollution**, v. 127, p. 83-97, 2004.

IUCN. **Dolphins, Porpoises and Whales of the World**. The IUCN Red Data Book. Compilado por M. Klinowska. International Union for Conservation of Nature and Natural Resource, Gland, Switzerland, pp. 429, 1991.

KÄGI, J.H.R. Overview of metallothionein. **Methods in Enzymology**, v. 205, p. 613-626, 1991.

KANNAN, K. et al. Comparison of trace element concentrations in livers of diseased, emaciated and non-diseased southern sea otters from the California coast. **Chemosphere**, v. 65, p. 2160-2167, 2006.

KASUYA, T. & BROWNELL, R.L. Age determination, reproduction, and growth of the franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei*. **The Scientific Reports of the Whales Research Institute**, v. 31, p. 45-67, 1979.

KEHRIG, H.A. et al. Total mercury, methylmercury and selenium in the livers and muscle of different fishes and a marine mammal from a tropical estuary - Brazil. **RMZ-M&G**, v. 51, n. 1, p. 1111-1114, 2004.

KEHRIG, H.A. et al. Total and methyl mercury in different species of mollusks from two estuaries in Rio de Janeiro State. **Journal of Brazilian Chemical Society**, n. 17, v. 7, p. 1409-1418, 2006.

KEHRIG, H. A. et al. Different Species of Mercury in the Livers of Tropical Dolphins. **Analytical Letters**, v. 41, p. 1690-1698, 2008.

KEMPER, C. A review of heavy metal and organochlorine levels in marine mammals in Australia. **Science of the Total Environment**, v. 142, p. 129-139, 1994.

KENNISH, M. J. **Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution**. CRC Press, New York, USA, pp. 524, 1997.

KUBOTA, R.; KUNITO, T. & TANABE, S. Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. **Environmental Pollution**, v. 115, p. 303-312, 2001.

KUČERA, J. Methodological developments and applications of neutrons activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 273, n. 2, p. 273-280, 2007.

KUNITO, T. et al. Concentration and subcellular distribution of trace elements in liver of small cetaceans incidentally caught along the Brazilian coast. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, p. 574-587, 2004.

LAILSON-BRITO, JR. J. et al. Trace metals in liver and kidney of the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from the northern coast of Rio de Janeiro State, Brazil. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 1, n. 1, p. 107-114, 2002.

LAVERY, T.J. et al. Metals and selenium in the liver and bone of three dolphin species from South Australia, 1888-2004. **Science of the Total Environment**, v. 390, p. 77-85, 2008.

LAW, R.J. Metals in marine mammals. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW (Eds.). *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. CRC Press, Boca Raton, pp. 357-376, 1996.

LAW, R.J. et al. Metals and organochlorines in small cetaceans stranded on the east coast of Australia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, p. 1200-1211, 2003.

LÁZARO, M.; LESSA, E.P. & HAMILTON, H. Geographic structure in the franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*). **Marine Mammal Science**, v. 20, n. 2, p. 201-214, 2004.

LEONZIO, C.; FOCARDI, S. & FOSSI, C. Heavy metals and selenium in stranded dolphins of the Northern Tyrrhenian. **Science of the Total Environment**, v. 119, p. 77-84, 1992.

MAIA, C.B; ALMEIDA, A.C.M. & MOREIRA, F.R. Avaliação do Teor de Chumbo em Mexilhões da espécie *Perna perna* na Região Metropolitana da Cidade do Rio de Janeiro. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 2, p. 195-198, 2006.

MARCOVECCHIO, J.E. et al. Environmental contamination and marine mammals in coastal waters from Argentina: an overview. **Science of the Total Environment**, v. 154, p. 141-151, 1994.

MEADOR, J.P. et al. Comparison of elements in bottlenose dolphins stranded on the beaches of Texas and Florida in the Gulf of Mexico over one-year period. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 36, p. 87-98, 1999.

MEUHE, D. & VALLENTINI, E. **O litoral do Estado do Rio de Janeiro: uma caracterização físico-ambiental**, FEMAR: Rio de Janeiro, p. 99, 1998.

MONACI, F. et al. Trace elements in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. **Environmental Pollution**, v. 99, p. 61-68, 1998.

MONTEIRO-NETO, C.; ITAVO, R.V. & MORAES, L.E.S. Concentrations of heavy metals in *Sotalia fluviatilis* (Cetacea: Delphinidae) of the coast of Ceará, Northeast Brazil. **Environmental Pollution**, v. 123, p. 319-324, 2003.

MORENO, I.B. et al. Distribution and habitat characteristics of dolphins of the genus *Stenella* (Cetacea: Delphinidae) in the southwest Atlantic Ocean. **Marine Ecology Progress Series**, v. 300, p. 229-240, 2005.

NARDI, E.P. et al. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. **Food Chemistry**, v. 112, p. 727-732, 2009.

NIGRO, M. & LEONZIO, C. Intracellular storage of mercury and selenium in different marine vertebrates. **Marine Ecology Progress Series**, v. 135, p. 137-143, 1996.

NORDBERG, G.F. et al. **Handbook on the toxicology of metals**. 3rd. Elsevier, USA, pp. 975, 2007.

OMS. Selenium. In: **Environmental Health Criteria 58**. World Health Organization, Geneve, 1987.

O'SHEA, T.J. **Environmental contaminants and marine mammals**. In: Reynolds III, J.E., Rommel, S.A. (Eds.), *Biology of Marine Mammals*. Smithsonian Institution Press, Washington, pp. 485-563, 1999.

OTT, P.H. **Diversidade genética e estrutura populacional de duas espécies de cetáceos do Atlântico Sul Ocidental: *Pontoporia blainvillei* e *Eubalaena australis***. Tese de Doutorado apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pp 142, 2002.

PALACIO, F.J. Revisión zoogeográfica marina del sur del Brasil. **Bolm Inst. Oceanogr. São Paulo**, v. 31, n. 1, p. 69-92, 1982.

PALMISANO, F.; CARDELLICCHIO, N. & ZAMBONIN, P.G. Speciation of mercury in dolphin liver: a two-stage mechanism for the demethylation accumulation process and role of selenium. **Marine Environmental Research**, v. 40, n. 2, p. 109-121, 1995.

PERRIN, W.F. & BROWNELL, R.L. **Report of the workshop**. In: Perrin, W.F., Brownell, R.L., Zhou Kaya, Liu Jiankang (Eds.). *Biology and Conservation of River Dolphins*, p. 1-22, 1989.

PERRIN, W.F.; CALDWELL, D.K. & CALDWELL, M.C. **Atlantic spotted dolphin – *Stenella frontalis* (Gray, 1828)**. In: RIDGWAY, S.H. & HARRISON, S.R. (Eds.). *Handbook of Marine mammals*, v. 5, Academic press, London, pp. 173-190, 1994.

PINEDO, M.C.; PRADERI, R. & BROWNELL, R.L. **Review of the biology and status of the franciscana, *Pontoporia blainvillei***. In: *Biology and conservation of river dolphins*, IUCN, Hong Kong, pp.46-51, 1989.

PINEDO, M.C. **Development and variation of the franciscana, *Pontoporia blainvillei***. Tese de doutorado apresentada à Universidade da Califórnia, pp 406, 1991.

PINEDO, M.C. Impact of incidental fishery mortality on the age structure of *Pontoporia blainvillei* in southern Brazil and Uruguay. **International Whaling Commission Report** (special issue), v. 15, p. 261-264, 1994.

PINEDO, M.C. & HOHN, A. Growth layer patterns in teeth from the franciscana, *Pontoporia blainvillei*: developing a model for precision in age estimation. **Marine Mammal Science**, v. 16, n. 1, p. 1-27, 2000.

POZEBON, D. et al. Biomonitoring of essential and toxic elements in small biological tissues by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 23, p. 1281-1284, 2008.

ROBERTSON, K.M. & CHIVERS, S. J. Prey occurrence in pantropical spotted dolphins, *Stenella attenuata*, from the eastern tropical Pacific. **Fishery Bulletin**, v. 95, p. 334-348, 1997.

RODRIGUEZ, D., RIVERO, L., BASTIDA, R. Feeding ecology of the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) in marine and estuarine waters of Argentina. **Latin American Journal of Aquatic Mammals** (special issue), v. 1, p. 77-94, 2002.

RODITI-ELASAR, M. et al. Heavy metal levels in bottlenose and striped dolphins off the Mediterranean coast of Israel. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, p. 503-512, 2003.

ROSAS, F.C.W. et al. The striped dolphin, *Stenella coeruleoalba* (Cetace: Delphinidae), on the coast of São Paulo State, southeastern Brazil. **Aquatic Mammals**, v. 28, n. 1, p. 60-66, 2002.

SASAKURA, S. & SUZUKI, K.T. Biological interaction between transition metals (Ag, Cd and Hg), selenide/ sulphide and selenoprotein P. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 71, p. 159-162, 1998.

SCHULTZ, A. et al. **Mercury**. In: Herber, R.F.M.; Stoeppler, M. (Eds.), Trace element analysis in biological specimens. Elsevier, London, Amsterdam, New York and Tokyo, pp. 403-446, 1994.

SCHWARTZ, J. et al. The development of methods for immunophenotypic and lymphocyte function analyzes for assessment of Southern sea otter (*Enhydra lutris nereis*) health. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 104, p. 1, 2005.

SECCHI, E.R. et al. Population differentiation in the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from two geographic locations in Brazil as determined from mitochondrial DNA control region sequences. **Canadian Journal of Zoology**, v. 76, n. 9, p. 1622-1627, 1998.

SECCHI, E.R.; DANILEWICZ, D. & OTT, P.H. Applying the phylogeographic concept to identify franciscana dolphin stocks: implications to meet management objectives. **Journal of Cetacean Research and Management**, v. 5, n. 1, p. 61-68, 2003.

SEIXAS, T.G. Selênio Total em Tecidos de Quatro Diferentes Organismos Marinhos da Baía de Guanabara, RJ, Brasil. Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Química da PUC- RJ, pp 121, 2004.

SEIXAS, T.G. et al. Ecological and biological determinants of trace elements accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvillei*. **Science of the Total Environment**, v. 385, p. 208-220, 2007a.

SEIXAS, T.G. et al. Distribuição de Selênio em organismos marinhos da Baía de Guanabara/ R.J. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 554-559, 2007b.

SEIXAS, T. G. et al. Total mercury, organic mercury and selenium in liver and kidney of a South American coastal dolphin. **Environmental Pollution**, v. 154, p. 98-106, 2008.

SEIXAS, T. G. et al. Trace Elements in Different Species of Cetacean from Rio de Janeiro Coast. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, *in press*, 2009.

SHIBATA, Y., MORITA, M., FUWA, K. Selenium and arsenic in biology: their chemical forms and biological functions. **Advances in Biophysics**, v. 28, p. 31-80, 1992.

SICILIANO, S. Review of small cetaceans and fishery interactions in coastal waters of Brazil. **Report of International Whaling Commission**, v. 15 (Special Issue), p. 241-250, 1994.

SKOOG, D.A. et al. **Princípios de análise instrumental**. 5ª. Bookman, Porto Alegre, 2002.

SROGI, K. Developments in the Determination of Trace Elements by Atomic Spectroscopic Techniques. **Analytical Letters**, v. 41, p. 677-724, 2008.

SULEIMAN, J.S. et al. Determination of Cd, Co, Ni and Pb in biological samples by microcolumn packed with black stone (Pierre noire) online coupled with ICP-OES. **Journal of Hazardous Materials**, v. 157, p. 410-417, 2008.

SURES, B.; TARASCHEWSKI, H. & HAUG, C. Determination of trace metals (Cd, Pb) in fish by electrothermal atomic absorption spectrometry after microwave digestion. **Analytica Chimica Acta**, v. 311, p. 135-139, 1995.

STOCKIN, K.A. et al. Trace elements, PCBs and organochlorine pesticides in New Zealand common dolphins (*Delphinus sp.*). **Science of the Total Environment**, v. 387, p. 333-345, 2007.

SZEFER, P. et al. Intercomparison studies on distribution and coassociations of heavy metals in liver, kidney, and muscle of Harbor Porpoise, *Phocoena phocoena*, from southern Baltic Sea and coastal waters of Denmark and Greenland. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 42, p. 508-522, 2002.

THOMPSON, D.R. **Metal levels in marine vertebrates**, In: Furness, R.W., Rainbow, P.S. (Eds.), Heavy Metals in the Marine Environment. CRC Press, Boca Raton, pp. 143-182, 1990.

THOMPSON, B. et al. Biological effects of anthropogenic contaminants in the san francisco estuary. **Environmental Research**, v. 105, p. 156-174, 2007.

UNEP. In: MARQUES, M.; KNOPPERS, B.; LANNA, A.E.; ABDALLAH, P.R. & POLETTE, M. (Eds.), **Brazil Current, GIWA Regional assessment 39**. University of Kalmar, Kalmar, Sweden, 2004.

YANG, J. & MIYAZAKI, N. Moisture content in Dall's porpoise (*Phocoenoides dalli*) tissues: a reference base for conversion factors between dry and wet weight trace element concentrations in cetaceans. **Environmental Pollution**, v. 121, p. 345-347, 2003.

WAGEMANN, R.; INNES, S. & RICHARD, P.R. Overview and regional and temporal differences of heavy metals in Arctic whales and ringed seals in the Canadian Arctic. **Science of the Total Environment**; v. 186, p. 41-66, 1996.

WAGEMANN, R. et al. Methylmercury and total mercury in tissues of arctic marine mammals. **Science of the Total Environment**, v. 218, p. 19-31, 1998.

WAGEMANN, R. et al. Mercury species in the liver of ringed seals. **Science of the Total Environment**, v. 261, p. 21-32, 2000.

WATANABE, I. et al. Accumulation of heavy metals in Caspian Seals (*Phoca caspica*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 43, p. 109-120, 2002.

WELZ, B. & SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectroscopy**, 3rd ed., Wiley-VCH, Weinheim, pp. 547, 1999.

WOSHNER, V. et al. Concentrations and interactions of selected essential and non-essential elements in bowhead and beluga whales of Arctic Alaska. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 37, n. 4, p. 693-710, 2001.

Anexos

Anexo 1. Artigos Completos Publicados Durante o Desenvolvimento da Tese

Author's personal copy



Available online at www.sciencedirect.com



Environmental Pollution 154 (2008) 98–106

ENVIRONMENTAL
POLLUTION

www.elsevier.com/locate/envpol

Total mercury, organic mercury and selenium in liver and kidney of a South American coastal dolphin

Tércia G. Seixas^{a,b,*}, Helena do A. Kehrig^b, Monica Costa^c, Gilberto Fillmann^d,
Ana Paula M. Di Benedetto^e, Eduardo R. Secchi^{d,f}, Cristina M.M. Souza^e,
Olaf Malm^b, Isabel Moreira^a

^a Departamento de Química, PUC-Rio, 22453-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, IBCCF-UFRRJ, 21949-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^c Departamento de Oceanografia, CTG-UFPE, 50740-550 Recife, PE, Brazil

^d Departamento de Oceanografia, FURG, C.P. 474, 96201-900 Rio Grande, RS, Brazil

^e Laboratório de Ciências Ambientais, CBB-UENF, 28013-602 Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil

^f Laboratório de Tartarugas e Mamíferos Marinhos, Departamento de Oceanografia e Museu Oceanográfico "Prof. E.C. Rios", FURG, 96201-900 Rio Grande, RS, Brazil

Received 1 December 2007; accepted 24 January 2008

This study presents some useful data on the bioaccumulation of Hg, organic Hg and Se, and their inter-element relationships in a Brazilian small cetacean.

Abstract

Selenium and total and organic mercury were determined in the liver and kidney of franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*) incidentally caught in fishing nets along two Brazilian coastal areas (southeast and south). Regional differences in the concentrations of these contaminants were observed in *P. blainvillei*. Liver showed the highest organic and total mercury. In general, samples of individuals collected at the southern of Brazil had the highest concentrations of selenium and total and organic mercury. No significant gender differences were observed. Growth stage influenced the accumulation of these contaminants in both organs, and hepatic concentrations increased with the body length, according to the sampling area. Molar mercury and selenium concentrations in liver were significantly correlated, with a Se:Hg ratio close to 4. The among-site differences we found may be related to differences in preferred prey, bioavailability in the marine environment, environmental conditions, or these individuals may belong to distinct populations.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Brazilian coast; Franciscana dolphin; Trace elements; Organic mercury; Ecological and biological factors

1. Introduction

Mercury is an exogenous and harmful metal, which accumulates in the tissues of higher food web organisms (such as marine mammals) as they grow (Caurant et al., 1994; Haraguchi et al., 2000; Kunito et al., 2004; Feroci et al., 2005).

Conversely, selenium is recognized as an essential element (WHO, 1987) for metabolic activity of aquatic mammals, acting as a protective agent against the toxicity of exogenous metals such as mercury (USA/EPA, 1998; Feroci et al., 2005). Studies have shown that selenium may reduce the availability of mercury, as methylmercury, blocking it in insoluble compounds (Feroci et al., 1997; Sasakura and Suzuki, 1998).

In the southwestern Atlantic some studies have documented trace element concentrations in the tissues of franciscana, *Pontoporia blainvillei* (Marcovecchio et al., 1994; Gerpe et al., 2002; Lailson-Brito et al., 2002; Kunito et al., 2004; Seixas

* Corresponding author. Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, IBCCF-UFRRJ, 21949-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Tel./fax: +55 21 2561 5339.

E-mail address: tercia@rdc.puc-rio.br (T.G. Seixas).

Analytical Letters, 41: 1691–1699, 2008
Copyright © Taylor & Francis Group, LLC
ISSN: 0003-2719 print/1532-236X online
DOI: 10.1080/00032710802122677



CHEMICAL SPECIATION

Different Species of Mercury in the Livers of Tropical Dolphins

H.A. Kehrig,¹ T.G. Seixas,² E.A. Palermo,¹ A.P.M. Di Benedetto,³
C.M.M. Souza,³ and O. Malm,¹

¹Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, IBCCF, Universidade
Federal do Rio de Janeiro Brazil

²Departamento de Química, PUC-Rio, Brazil

³Laboratório de Ciências Ambientais, CBB, Universidade Estadual
Norte Fluminense, Brazil

Abstract: Four kinds of mercury species (inorganic mercury (Hg_{inorg}), methylmercury (MeHg), total organic mercury (ΣHg_{org}), and insoluble mercury, deemed to be mercuric selenide (HgSe), were determined in the livers of dolphins from the Brazilian coast. The MeHg was identified and quantified in the toluene layer on a Gas Chromatograph with an Electron Capture Detector (GC-ECD). The ΣHg_{org} was isolated by acid leaching (H_2SO_4 -KBr- $CuSO_4$) and then extracted into CH_2Cl_2 . The ΣHg_{org} and Hg_{inorg} were determined by Cold-Vapor Atomic Absorption Spectroscopy (CV-AAS). The MeHg was the smallest fraction of Hg_{tot} , with a median of 9%, whereas the highest fraction of the Hg_{tot} was as HgSe, corresponding to 53%. The fractions of Hg_{inorg} and ΣHg_{org} corresponded to 30% and 39%, respectively. The lowest fraction of MeHg and the highest fraction of HgSe in the liver of all animals are related to different capacities or strategies of detoxification of methylmercury in this organ.

Keywords: Inorganic mercury, insoluble mercury, liver, methylmercury, total organic mercury, tropical dolphin

Received 11 October 2007; accepted 28 February 2008.

Address correspondence to H.A. Kehrig, Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, IBCCF, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-902, Brazil. E-mail: kehrig@biof.ufrj.br

Author's personal copy



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

Science of the Total Environment 385 (2007) 208–220

Science of the
Total EnvironmentAn International Journal for Scientific Research
into the Environment and its Relationship with Humankindwww.elsevier.com/locate/scitotenv

Ecological and biological determinants of trace elements accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvillei*

Tércia G. Seixas^{a,b,*}, Helena do A. Kehrig^b, Gilberto Fillmann^c,
Ana Paula M. Di Benedetto^d, Cristina M.M. Souza^d, Eduardo R. Secchi^{c,e},
Isabel Moreira^a, Olaf Malm^b

^a Departamento de Química, PUC-Rio, 22453-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, IBCCF-UFRJ, 21941-902 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^c Departamento de Oceanografia, FURG, 96201-900 Rio Grande, RS, Brazil

^d Laboratório de Ciências Ambientais, CBB-UENF, 28013-602 Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil

^e Laboratório de Tartarugas e Mamíferos Marinhos, Departamento de Oceanografia e Museu Oceanográfico "Prof. E.C. Rios", FURG, 96201-900, Rio Grande, RS, Brazil

Received 28 November 2006; received in revised form 23 June 2007; accepted 26 June 2007

Available online 31 July 2007

Abstract

The present work tested whether ecological and biological variables have an influence on the assimilation of trace elements by the tissues of a cetacean from the Western South Atlantic Ocean. No significant differences were observed in the concentrations for both sexes. As individuals from the two sampling areas belong to distinct genetic and morphological populations, animals of similar body length were older on the southeastern than on the southern coast. The liver showed the highest concentrations of mercury, whereas the highest levels of cadmium were found in the kidney. Hepatic mercury, cadmium and selenium in individuals from the south coast were about four times as high as those from the southeast coast. However, arsenic in the liver and kidney were similar in both coastal areas. Hepatic mercury, cadmium and selenium concentrations increased with body length in individuals from the southeastern coast, although no significant correlations ($P > 0.05$) were observed between body length from either area and the renal and hepatic As concentrations. A significant positive linear relationship was observed between molar concentrations of Hg and Se in the liver of all individuals from both areas ($r^2 = 0.93$; $P < 0.001$), presenting Se:Hg ratios close to 4. Differences found among the concentrations of Hg, Cd and Se in dolphins from both areas were probably due to the preferred prey, bioavailability of elements in each marine environment, and environment variables (water temperature, net primary production). As a consequence, concentrations of trace elements in the tissues of this species can be considered to be a result of the surrounding environment. © 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Mercury; Cadmium; Arsenic; Selenium; Franciscana; Latitudinal gradient; South Atlantic

1. Introduction

Marine mammals are very sensitive to environmental changes and have been considered good bioindicators of environmental contamination (Capelli et al.,

* Corresponding author. Departamento de Química, PUC-Rio, 22453-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Tel./fax: +55 21 2561 5339.

E-mail address: tercia@rdc.puc-rio.br (T.G. Seixas).

DISTRIBUIÇÃO DE SELÊNIO EM ORGANISMOS MARINHOS DA BAÍA DE GUANABARA/ RJ

Tércia Guedes Seixas* e Isabel Moreira

Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica – Rio, Rua Marquês de São Vicente, 225, 22453-900 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Helena do Amaral Kehrig e Olaf Malm

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21949-900 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Recebido em 1/2/06; aceito em 3/7/06; publicado na web em 19/1/07

DISTRIBUTION OF SELENIUM IN MARINE ORGANISMS FROM GUANABARA BAY/ RJ. The study assessed selenium concentrations in the muscle tissues and liver samples of three fish species and in the soft tissues of a mussel species. The samples were analyzed by GF-AAS using Zeeman background correction. Selenium in the muscle samples was higher in carnivorous fish. The liver of all studied fish species presented higher selenium concentrations than the muscle. The fish species presented a high positive correlation between their total length and selenium concentration. A significant correlation was observed between the selenium concentration in the mussel soft tissues and the condition index.

Keywords: total selenium; fish and mussel; Guanabara Bay.

INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é conhecido como um micronutriente essencial para a maioria dos animais, porém em concentrações elevadas é considerado tóxico^{1,2}. Estudos vêm mostrando que a morte de algumas espécies de organismos mais susceptíveis ao selênio é observada em ambientes aquáticos cuja água apresentou concentração de Se na faixa de 0,06 a 0,6 $\mu\text{g g}^{-1}$. Para o ser humano, o Se é considerado como essencial em concentrações que variam de 0,04 a 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$. Entretanto, para os organismos marinhos, como os peixes, o selênio se torna tóxico a partir de 3,0 $\mu\text{g g}^{-1}$. Há um grande interesse em se entender o comportamento do Se nos organismos marinhos, devido a sua importância fisiológica e toxicológica. Existem poucos trabalhos dedicados ao metabolismo e à acumulação do Se no meio ambiente aquático e seu ciclo biogeoquímico é parcialmente conhecido³. Alguns estudos relacionados ao metabolismo do Se nos produtores primários^{5,6} e acumulação do Se pelos consumidores⁷ forneceram algumas informações básicas a respeito da importância e do papel deste elemento para a biota marinha. Os bivalves e os peixes são reconhecidamente empregados como biomonitoradores de Se em ambientes aquáticos¹. Peters e colaboradores⁸ concluíram que a cadeia alimentar bentônica é uma importante fonte de Se para os peixes e que a principal rota para a bioacumulação é via cadeia alimentar. Porém, uma variedade de parâmetros abióticos e bióticos pode influir na eficiência com que os organismos aquáticos acumulam os metais pesados e o selênio em seus tecidos e órgãos⁹. A concentração de Se nos detritos orgânicos dos sedimentos é mais importante para a contaminação da cadeia alimentar aquática que a concentração de Se dissolvido na coluna d'água⁸. Estudos vêm mostrando que a contaminação dos sistemas aquáticos por Se pode causar sérios danos à biota, inclusive a mortalidade de peixes¹⁰.

Neste trabalho foram determinadas as concentrações de selênio total em tecido muscular e fígado de três espécies de peixes bentônicos com diferentes hábitos alimentares (*Mugil liza* – tainha, peixe

plânctívoro; *Bagre* spp. – bagre, peixe onívoro e *Micropogonias furnieri* – corvina, peixe carnívoro) e nos tecidos moles de uma espécie de mexilhão (*Perna perna*), coletados na Baía de Guanabara.

A Baía de Guanabara (22°S, 43°W) é um estuário de aproximadamente 400 km², localizada no estado do Rio de Janeiro, na região sudeste brasileira (Figura 1). É uma importante área com relação à produção pesqueira, porém recebe impactos na forma de esgotos domésticos e efluentes industriais não tratados, que são provenientes de uma área densamente povoada, com aproximadamente 10.000 indústrias, além de uma intensa atividade portuária e um complexo pólo petroquímico¹¹. Sua bacia de drenagem pode ser considerada como uma região bastante impactada por matéria orgânica, óleo e um grande número de outros compostos, incluindo



Figura 1. Locais de coleta na Baía de Guanabara, estado do Rio de Janeiro

*e-mail: terciar@rdc.puc-rio.br

O SELÊNIO NO MEIO AMBIENTE

Tércia G. Seixas^{1, 2*} & Helena do A. Kehrig²

¹ Departamento de Química, PUC-Rio, Rua Marquês de São Vicente, 225 – Gávea, CEP: 22453-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, IBCCF-UFRJ, Ilha do Fundão, CEP: 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*e-mail: tercia@rdc.puc-rio.br

RESUMO

O selênio é conhecido como um elemento de grande importância fisiológica e ecotoxicológica, uma vez que é um micronutriente essencial para a maioria dos organismos, mas também torna-se tóxico em concentrações elevadas. Por esta razão, há um grande interesse em se entender o comportamento deste elemento no meio ambiente. Nesta revisão, alguns aspectos importantes com relação a este elemento são apresentados.

Palavras-chave: Selênio; papel fisiológico; deficiência; efeito protetor; toxicidade.

ABSTRACT

SELENIUM IN THE ENVIRONMENT. Selenium is known as an element of great physiological and ecotoxicological importance due to it is an essential micronutrient for some organisms, but it is also toxic at elevated concentrations. For this reason, there is an increasing interest in understanding the behavior of selenium in the environment. In this review, some important aspects related this element is described.

Key-words: Selenium; physiological role; deficiency; protector effect; toxicity.

INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é conhecido como um micronutriente essencial para a maioria dos organismos (Chatterjee *et al.* 2001), porém, este elemento possui uma ambigüidade biológica em que: (1) em concentrações traço é necessário para o crescimento e desenvolvimento normal do organismo; (2) em concentrações moderadas pode ser armazenado e mantém as funções homeostáticas e (3) em concentrações elevadas pode resultar em efeitos tóxicos (Hamilton 2004). Dentre os elementos essenciais, o selênio é considerado o mais tóxico uma vez que a diferença existente entre a dose essencial e a tóxica é muito pequena (Chapman 1999). As crescentes atividades antropogênicas têm aumentado a liberação e o emprego do selênio de suas fontes naturais (rochas e solos), tornando-o disponível principalmente para o meio ambiente aquático e consequentemente para o homem; uma vez que a principal via de exposição tanto do homem quanto dos organismos aquáticos ao selênio é através da dieta alimentar. Há várias décadas o “quebra-cabeça” chamado selênio vem sendo aos poucos montado tanto no campo biológico, quanto no campo ecotoxicológico. A cada estudo são atribuídas mais funções biológicas importantes a este elemento traço. A função protetora

e antagonista que este elemento desempenha contra a ação tóxica de certos metais (Hg, Cd, Pb) e metalóides (As) é uma delas. Porém, seu mecanismo é complexo e ainda não foi totalmente elucidado. Somente para o mercúrio (Hg) esta interação parece já estar um pouco esclarecida. Estudos realizados com mamíferos marinhos (Wagemann *et al.* 1998, 2000) mostraram, através de um mecanismo hipotético, que o selênio através das selenoproteínas proporciona a demetilação do metilmercúrio (MeHg) por meio da formação de grânulos inertes de seleneto mercúrico (HgSe) no fígado desses organismos. A seguir serão apresentados alguns pontos relevantes a respeito deste elemento de grande importância fisiológica e ecotoxicológica.

O SELÊNIO E SEUS COMPOSTOS NO AMBIENTE

O selênio é um metalóide que foi isolado e identificado em 1817 pelo químico sueco Jöns Jacob Berzelius (1779-1848) quando este observou um depósito vermelho sobre as paredes de uma câmara de chumbo usada para produzir ácido sulfúrico (Foster & Sumar 1997, Barceloux 1999). Este elemento pertence ao grupo 16 da tabela periódica, e está localizado entre o enxofre e o telúrio. Ambos



Selênio em Tecidos de Organismos Marinhos da Baía de Guanabara, Brasil

T. G. SEIXAS,^{1*} H. A. KEHRIG,² I. MOREIRA¹ & O. MALM²

¹Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, CEP 22453-900, Rio de Janeiro

²Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CEP 21949-900, Rio de Janeiro

RESUMO

Neste estudo foram determinadas as concentrações de selênio total (TSe) no tecido muscular e no fígado de três espécies de peixes e, também, nos tecidos moles de uma espécie de bivalve. As amostras sofreram um tratamento ácido, e o TSe foi determinado por Absorção Atômica com forno de grafite (GF-AAS) equipado com corretor Zeeman. As concentrações de Se no tecido muscular foram mais elevadas no peixe carnívoro. O fígado foi o órgão que apresentou as maiores concentrações de Se para todas as espécies de peixe. Nos peixes, a concentração de Se no tecido muscular apresentou correlação significativa e positiva com o comprimento total. Os mexilhões apresentaram correlação significativa (Spearman) entre a concentração de Se nos tecidos moles e o índice de condição (IC). Todas as espécies estudadas apresentaram concentração de TSe no tecido muscular e nos tecidos moles dentro dos limites aceitáveis pela OMS (1,5 µg.g⁻¹ em peso úmido) para o consumo humano.

Palavras-chave: selênio total, peixes e mexilhão, Baía de Guanabara, hábito alimentar.

ABSTRACT

Selenium in tissues of marine organisms of Guanabara Bay, Brazil

This study assessed total selenium concentrations in the muscle tissues and liver samples of three fish species and also in the soft tissues of a bivalve. The samples were digested with concentrated acid and analyzed by GF-AAS using Zeeman background correction. Concentrations of selenium in the muscle tissue samples were higher in carnivorous fish. The liver samples of all studied fish species presented the highest total selenium concentration. The fish species presented a high positive correlation (Spearman) between their total lengths and total selenium concentration. A significant correlation was observed between the selenium concentration in the mussel soft tissues and the condition index (IC). All studied species presented the selenium concentrations in the muscle tissue and in the soft tissue below the safety limit established by WHO for human consumption (1.5 µg.g⁻¹ in wet weight).

Key words: total selenium, fish and mussel, Guanabara Bay, feeding habit.

INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é conhecido como um micronutriente essencial para a maioria dos animais, porém em concentrações elevadas é considerado tóxico (Chatterjee & Bhattacharya, 2001). Há grande interesse em entender o comportamento do Se nos organismos marinhos devido a sua importância fisiológica e toxicológica. São poucos os trabalhos dedicados ao metabolismo e à acumulação do Se no meio ambiente

aquático, e seu ciclo biogeoquímico é parcialmente conhecido (Pelletier, 1985). Alguns estudos relacionados ao metabolismo do Se nos produtores primários (Fries, 1982; Price *et al.*, 1987) e à acumulação do Se pelos consumidores (Fowler & Benayoun, 1976) forneceram algumas informações básicas a respeito da importância e do papel desse elemento para a biota marinha. Os bivalves e os peixes são reconhecidamente empregados como biomonitores de Se em ambientes aquáticos (Chatterjee & Bhattacharya, 2001). Peters *et al.* (1999) concluíram em

* Corresponding author: Tércia G. Seixas; e-mail: tercia@rdc.puc-rio.br.

SELÊNIO EM TECIDOS DE QUATRO ORGANISMOS MARINHOS DA BAÍA DE GUANABARA-RJ

Tércia Guedes SEIXAS¹
Helena do Amaral KEHRIG²
Isabel MOREIRA¹
Olaf MALM²

¹ Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 22453-900, Rio de Janeiro, Brasil. e-mail: terciag@rdc.puc-rio.br; isabel@rdc.puc-rio.br

² Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21949-900, Rio de Janeiro, Brasil. e-mail: kehrig@biof.ufrj.br; olaf@biof.ufrj.br.

Recebido: 13/05/2005
Aceito: 09/09/2005

RESUMO

As concentrações de selênio foram determinadas em tecidos de diferentes organismos marinhos coletados na Baía de Guanabara, entre 2000 e 2003. Foram analisados o tecido muscular e o fígado de 79 indivíduos de peixe com diferentes hábitos alimentares, *Micropogonias furnieri*, *Bagre* spp., *Mugil liza*, (carnívoro, onívoro e iliófago) e os tecidos moles de 40 indivíduos de mexilhão, *Perna perna*, (filtrador). As amostras sofreram uma digestão ácida e foram analisadas por Absorção Atômica com forno de grafite (GF-AAS) equipado com corretor Zeeman. O fígado foi o órgão que apresentou as maiores concentrações de selênio para todas as espécies de peixe. As concentrações de selênio no tecido muscular foram mais elevadas no peixe carnívoro (0,12-1,25 $\mu\text{g.g}^{-1}$ p.u.). As espécies de peixe onívoro e iliófago apresentaram concentrações de selênio no tecido muscular similares, na faixa de < 0,05-0,18 $\mu\text{g.g}^{-1}$ p.u., e estas foram similares às encontradas nos tecidos moles do mexilhão (0,16-0,21 $\mu\text{g.g}^{-1}$ p.u.). O tecido muscular mostrou ser o único tecido a sofrer influência direta do hábito alimentar. Os peixes carnívoro e iliófago apresentaram uma correlação significativa (Spearman) e positiva entre a concentração de selênio no tecido muscular e o comprimento total dos indivíduos. O peixe carnívoro foi a única espécie que apresentou uma correlação significativa entre as concentrações de selênio nos dois tecidos analisados (músculo e fígado). O mexilhão apresentou uma correlação significativa entre a concentração de selênio nos tecidos moles e o índice de condição (IC). Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as concentrações de selênio nos tecidos moles dos mexilhões entre os diferentes locais de coleta dentro da baía. As espécies estudadas apresentaram concentrações de selênio em seus tecidos semelhantes às encontradas em ecossistemas considerados não impactados.

Palavras-chave: selênio, peixes, mexilhão, Baía de Guanabara, hábito alimentar.

ABSTRACT

Selenium In Tissues Of Four Marine Organisms From Guanabara Bay/Rj

Selenium concentrations were measured in different marine organisms collected at Guanabara Bay in different periods between 2000 and 2003. The muscle tissues and the liver of a

Anexo 2. Artigos Submetidos e Aceitos para Publicação

PROOF

J. Braz. Chem. Soc., Vol. 00, No. 00, 1-10, 2009.
 Printed in Brazil - ©2008 Sociedade Brasileira de Química
 0103 - 5053 \$6.00+0.00

Trace Elements in Different Species of Cetacean from Rio de Janeiro Coast

Tércia G. Seixas,^{*a} Helena A. Kehrig,^b Ana Paula M. Di Benedetto,^c
 Cristina M. M. Souza,^c Olaf Malm^b and Isabel Moreira^a

^aDepartamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro,
 22453-900 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

^bInstituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro,
 21941-902 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

^cCentro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense,
 28013-602 Campos dos Goytacazes-RJ, Brazil

Neste estudo avaliou-se a influência de alguns parâmetros ecológicos e biológicos sobre a acumulação dos elementos-traço (As, Cd, Cu, Pb, Se e Ag) no fígado de três espécies de cetáceos, sendo duas de hábito costeiro (*Pontoporia blainvillei* e *Sotalia guianensis*) e uma de hábito oceânico (*Stenella frontalis*), que foram acidentalmente capturados na costa norte do estado do Rio de Janeiro. Diferenças inter-espécies foram observadas no padrão de acumulação dos elementos-traço, Cd e Pb ($5,12 \pm 0,74 \mu\text{g g}^{-1}$ e $21,25 \pm 1,35 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente). Entretanto, as três espécies de cetáceo, *S. guianensis*, *P. blainvillei* e *S. frontalis* apresentaram concentrações hepáticas de As, Cu e Ag similares. O sexo dos indivíduos não influenciou na bioacumulação dos elementos. O comprimento total influenciou na acumulação dos elementos-traço no fígado de acordo com a espécie de cetáceo. *S. guianensis*, que co-habita o mesmo ambiente que a espécie *P. blainvillei*, apresentou uma diferença significativa na concentração hepática de selênio ($20,70 \pm 32,22 \mu\text{g g}^{-1}$ e $3,24 \pm 2,02 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente). A partir dessas observações pode-se concluir que condições ambientais e parâmetros biológicos, tais como comprimento total e principalmente a preferência alimentar, influenciaram significativamente a acumulação de elementos traço no fígado dessas espécies de cetáceos.

The present work tested whether ecological and biological parameters have an influence on the accumulation of trace elements (As, Cd, Cu, Pb, Se and Ag) by the liver of three cetaceans species: two species of coastal habit (*Pontoporia blainvillei* and *Sotalia guianensis*) and one of oceanic habit (*Stenella frontalis*), that were incidentally caught in fishing nets along the north of Rio de Janeiro coast. Inter-species difference was observed on the accumulation of Cd and Pb ($5.12 \pm 0.74 \mu\text{g g}^{-1}$ and $21.25 \pm 1.35 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively). However, the three cetacean species, *S. guianensis*, *P. blainvillei* and *S. frontalis* presented similar hepatic concentrations of As, Cu and Ag. No gender differences were found on the bioaccumulation of trace elements. Hepatic trace element accumulation was influenced by body length, according to the cetacean species. *S. guianensis*, which co-habits the same coastal marine environment that *P. blainvillei* species, presented a significant difference between hepatic selenium concentration ($20.70 \pm 32.22 \mu\text{g g}^{-1}$ and $3.24 \pm 2.02 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively). Based on these results, it is possible to conclude that, not only the different environmental conditions, but also total length and mainly the feeding habit influenced the accumulation of trace elements by the liver of these cetacean species.

Keywords: trace elements, liver of marine dolphin species, biological parameters, Rio de Janeiro coast, GF-AAS

Introduction

The industrial and urban development observed in the last decades greatly increased the fluxes of various chemical

contaminants and pollutants, such as, organic matter, oil and also a great number of others compounds, including trace elements, to the marine environment.^{1,2} Some elements such as selenium, arsenic and copper are of ecological and biological interest because they are required as essential nutrients in low concentrations for marine organisms and

*e-mail: terciagnedes@gmail.com

PROOF

Article

52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102

MPB 3981

30 December 2008 Disk Used

ARTICLE IN PRESS

No. of Pages 6, Model 5G

Marine Pollution Bulletin xxx (2008) xxx–xxx



Contents lists available at ScienceDirect

Marine Pollution Bulletin

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul



Baseline

Essential (Se, Cu) and non-essential (Ag, Hg, Cd) elements: What are their relationships in liver of *Sotalia guianensis* (Cetacea, Delphinidae)?Tércia G. Seixas^{a,b,*}, Helena A. Kehrig^b, Ana Paula M. Di Benedetto^c, Cristina M.M. Souza^c, Olaf Malm^b, Isabel Moreira^a^a Departamento de Química, PUC-Rio, 22453-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil^b Laboratório de Radionuclídeos Eduardo Penna Franca, IBCCF-UFRRJ, 21941-902 Rio de Janeiro, RJ, Brazil^c Laboratório de Ciências Ambientais, CBB-UFENF, 28013-602 Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil

Cetaceans are very sensitive to environmental changes and have been considered good bioindicators of environmental contamination (Capelli et al., 2000). The analysis of tissues from different species of whales and dolphins has been used as a tool for the assessment of marine pollution by trace elements (Caurant et al., 1994; Woshner et al., 2001; Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a). These organisms have high potential for accumulating some trace elements, such as selenium (Se), copper (Cu), silver (Ag), mercury (Hg) and cadmium (Cd), since they have relatively long life spans, and generally occupy a high trophic level in the marine food chain (Woshner et al., 2001; Kunito et al., 2004). They present high hepatic concentrations of these elements that are related to the role played by the liver in terms of pollutant bio-transformation, metabolizing nutrients and essential elements as well as removing some non-essential elements and toxins from the bloodstream (Frodello et al., 2000).

Selenium and copper are recognized as essential elements for the normal growth and metabolism of aquatic mammals (Eisler, 2000). Conversely, silver, cadmium and mercury are exogenous and harmful elements, which accumulate during growth (Feroci et al., 2005). Selenium is reported to have an antidotal action on the toxic effects of some heavy metals, e.g. mercury, cadmium, and copper. Although silver is not currently a major concern with regard to toxicity in mammals, it has been of some interest due to its interaction with selenium. The interaction of Ag with Se differs from other selenium–metal interactions in that silver can induce symptoms of selenium deficiency (Becker et al., 1995). Until now, most studies have focused on the contamination status of Se, Cu, Hg and Cd in liver of cetaceans (Caurant et al., 1994; Capelli et al., 2000; Gerpe et al., 2002; Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a). However, few data are reported concerning the concentrations of silver in cetaceans (Becker et al., 1995; Woshner et al., 2001; Kunito et al., 2004; Dehn et al., 2006). Furthermore, extensive studies of Se, Cu, Hg, Cd and Ag concentrations in cetaceans have been carried out in the Northern Hemisphere (Caurant

et al., 1994; Becker et al., 1995; Dietz et al., 1996; O'Shea, 1999; Woshner et al., 2001; Roditi-Elasar et al., 2003; Ikemoto et al., 2004; Dehn et al., 2006; Stockin et al., 2007) but relatively little is known about contaminant levels in Southern Hemisphere cetaceans (Gerpe et al., 2002; Bustamante et al., 2003; Kunito et al., 2004; Seixas et al., 2007a, 2008; Lavery et al., 2008).

The objectives of this study were to: (1) evaluate concentrations of essential (Se, Cu) and non-essential (Ag, Hg, Cd) elements in liver; (2) assess their hepatic inter-element relationships; and (3) determine whether these hepatic element concentrations differ with gender and body length in 19 individuals of *Sotalia guianensis* (estuarine dolphin) incidentally caught in fishing nets along the Northern Rio de Janeiro (Brazil) (~21°S to 22°S) between 1998 and 2005 (Fig. 1).

The biological characteristics of *S. guianensis* are presented in Table 1. The classification of *S. guianensis* individuals into three classes of age, calves, young and adults, was based on data concerning their body length (Table 1), as it was not possible to determine the age of all individuals in the basis of the growth layers of teeth. According to Di Benedetto and Ramos (2004), the average length at birth of these dolphin individuals occurs when they present a body length between 86.0 and 117.5 cm. However, estuarine dolphins from the northern Rio de Janeiro reach asymptotic length when they are approximately 6-years-old and 180 cm (males) or 6-years-old and 160 cm long (females) (Di Benedetto and Ramos, 2004). In this study, only three individuals were classified as calves as they presented body lengths up to 117.5 cm. Individuals of estuarine dolphins with a body length up to 160 cm (females) and 180 cm (males) were classified as young, while females longer than 160 cm and males longer than 180 cm were classified as adults.

Liver samples from 19 individuals of estuarine dolphins were supplied by the Biological Specimen Banking from the Bioscience and Biotechnology Center (UFENF). After dissection, samples were stored in identified individual polyethylene bags and kept frozen (–20 °C) until the freeze-drying process. They lost around 70% of their water content.

In homogenized dry samples Cu, Cd, Se, Ag and total mercury (Hg) were determined by atomic absorption spectrometry techniques. Aliquots of liver samples (~100 mg dry wt.) were acid

* Corresponding author. Address: Departamento de Química, PUC-Rio, 22453-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Tel./fax: +55 21 2561 5339.
E-mail address: terciaguedes@gmail.com (T.G. Seixas).

0025-326X/\$ - see front matter © 2008 Published by Elsevier Ltd.
doi:10.1016/j.marpolbul.2008.12.005

Please cite this article in press as: Seixas, T.G. et al., Essential (Se, Cu) and non-essential (Ag, Hg, Cd) elements: What are their ..., Mar. Pollut. Bull. (2008), doi:10.1016/j.marpolbul.2008.12.005

Anexo 3. Comunicações e Resumos Publicados em Anais de Congressos ou Periódicos (completo)

1. BARBOSA, S. C. T., COSTA, M., BARLETTA, M., DANTAS, D. V., KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, MALM, O. Mercúrio total em peixes *Centropomus undecimalis* (centropomidae), *Mugil curema* (mugilidae) e *Achirus lineatus* (achiridae) do estuário do rio Goiana (nordeste do Brasil). In: XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR, 2007, Florianópolis. **XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar**, 2007.

2. BARBOSA, S. C. T., COSTA, M., BARLETTA, M., DANTAS, D. V., KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, MALM, O. Total mercury in *Trichiurus lepturus* (pisces, trichiuridae) from a tropical semi-arid estuary coast. In: XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR, 2007, Florianópolis. **XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar**, 2007.

3. **SEIXAS, T. G.**, KEHRIG, H. A., BENEDITTO, A. P. M., FILLMANN, G., SOUZA, C. M., MALM, O., MOREIRA, I. Selênio no fígado e rim de golfinho costeiro de duas regiões brasileiras. In: 29^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia. **29^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2006.

4. **SEIXAS, T. G.**, KEHRIG, H. A., MOREIRA, I., MALM, O. Heavy metals and selenium in the muscle tissues of two coastal Brazilian fishes. In: XIII International Conference on Heavy Metals in the Environment – ICHMET, 2005, Rio de Janeiro. **XIII International Conference on Heavy Metals in the Environment – ICHMET**, 2005.

5. KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, BAETA, A. P., BRITO JR., J. L., MOREIRA, I., MALM, O. Selenium, methylmercury and total mercury in different tissues of fishes and dolphins from a polluted tropical estuary. In: XIII International Conference on Heavy Metals in the Environment – ICHMET, 2005, Rio de Janeiro. **XIII International Conference on Heavy Metals in the Environment – ICHMET**, 2005.

Anexo 4. Comunicações e Resumos Publicados em Anais de Congressos ou Periódicos (resumo)

1. KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, DI BENEDITTO, A.P.M., SOUZA, C. M., MALM, O. Mercury species and selenium in dolphin liver. In: SETAC Europe 17th Annual Meeting, 2007, Porto. **Abstract book of SETAC Europe 17th Annual Meeting**. Brussels: SETAC, p.201 – 201, 2007.

2. COSTA, M.B., AZEREDO, A., **SEIXAS, T. G.**, KEHRIG, H. A., BLOCH, D., GRANDJEAN, P., MALM, O. Selenium and mercury in organs of a marine mammal species (*Globicephala melas*). In: SETAC Europe 17th Annual Meeting, 2007, Porto. **Abstract Book of SETAC Europe 17th Annual Meeting**. Brussels: SETAC, p.169 – 169, 2007.

3. KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, FILLMANN, G., MALM, O. Trace elements and methylmercury in tissues of magellanic penguins (*Spheniscus Magellanicus* - FORSTER, 1781). In: SETAC Europe 17th Annual Meeting, 2007, Porto. **Abstract book of SETAC Europe 17th Annual Meeting**. Brussels: SETAC, p.206 – 206, 2007.

4. **SEIXAS, T. G.**, KEHRIG, H. A., FILLMANN, G., DI BENEDITTO, A.P.M., SOUZA, C. M., SECCHI, E. R., MOREIRA, I., MALM, O. Trace elements and organic mercury (Org-Hg) in tissues of franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*) from two Brazilian coast areas. In: SETAC Europe 17th Annual Meeting, 2007, Porto. **Abstract book of SETAC Europe 17th Annual Meeting**. Brussels: SETAC, p.201 – 201, 2007.

5. KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, MOREIRA, I., MALM, O. Bioacumulação de Metais Pesados e Metalóides por Bivalvos. In: III Encontro Nacional de Química Ambiental, 2006, Cabo Frio. **III Encontro Nacional de Química Ambiental**, 2006.

6. KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, DI BENEDITTO, A.P.M., SOUZA, C. M., MALM, O. Different Species of Mercury and Total Selenium in the Liver of Marine Dolphins. In: 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 2006, Madison. **8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant**. DEStech Publications, Inc., 2006.

7. **SEIXAS, T. G.**, KEHRIG, H. A., COSTA, M.B., DI BENEDITTO, A.P.M., FILLMANN, G., SOUZA, C. M., MOREIRA, I., MALM, O. Mercury

and Selenium in the Liver and Kidney of Dolphin from Two Different Brazilian Coast Areas. In: 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 2006, Madison. **8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant**. DEStech Publications, Inc, 2006.

8. COSTA, M.B., AZEREDO, A., **SEIXAS, T. G.**, KEHRIG, H. A., BLOCH, D., GRANDJEAN, P., MALM, O. Mercury and Selenium in the Liver and Kidney of Pilot Whale, *Globicephala melas*. In: 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 2006, Madison. **8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant**. DEStech Publications, Inc., 2006.

9. LAILSON-BRITO, J., DORNELES, P. R., SOUZA, C., AZEVEDO, A., FRAGOSO, A., CUNHA, H., **SEIXAS, T. G.**, COSTA, M.B., KEHRIG, H. A., MALM, O. Mercury Bioaccumulation and Selenium-Mediated Methylmercury Detoxification in Marine Tucuxi Dolphin, *Sotalia guianensis*, from Rio de Janeiro State Coast. In: 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 2006, Madison. **8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant**. DEStech Publications, Inc., 2006.

10. KEHRIG, H. A., PALERMO, E. F. A., **SEIXAS, T. G.**, MALM, O. Mercury in Seston (Zooplankton and Particulate) and Bivalves from a Brazilian Estuary. In: 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 2006, Madison. **8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant**. DEStech Publications, Inc., 2006.

11. **SEIXAS, T. G.**, KEHRIG, H. A., SOUZA, C. M., BENEDITTO, A. P. M., MOREIRA, I., MALM, O. Selênio, Arsênio, Mercúrio, Cádmio e Cobre no Fígado de Mamíferos Marinhos. In: III Encontro Nacional de Química Ambiental, 2006, Cabo Frio. **III Encontro Nacional de Química Ambiental**, 2006.

12. KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, FILLMANN, G., MALM, O. Total and Methylmercury, Selenium, Arsenic and Cadmium in Tissues of Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*-Forster, 1781). In: 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 2006, Madison. **8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant**. DEStech Publications, Inc., 2006.

13. KEHRIG, H. A., **SEIXAS, T. G.**, MOREIRA, I., MALM, O. Distribution of selenium in the tissues of coastal Brazilian fish and mussel. In: The 15th Annual Meeting of SETAC Europe, 2005, Lille. **Book of Abstracts**,

2005.

14. MOREIRA, I., **KEHRIG**, H. A., BRITO, A.P., AZEVEDO L.A., SEIXAS, T. G., BRÜNING I., MALM, O. Organic pollutants, selenium, methyl and total mercury in mussels from a tropical estuary. In: EGU General Assembly 2005, 2005, Vienna. **Geophysical Research Abstract**, v.7, 2005.

15. KEHRIG, H. A., **SEIXAS**, T. G., BAETA, A. P., BRITO JR., J. L., MOREIRA, I., MALM, O. Relation between selenium and mercury in the aquatic biota from a tropical estuary, Brazil. In: The 15th Annual Meeting of SETAC Europe, 2005, Lille. **Book of Abstracts**, 2005.

16. **SEIXAS**, T. G., KEHRIG, H. A., MALM, O., MOREIRA, I. Selênio na biota aquática de um estuário tropical. In: 28^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas. **Livro de Resumos**, 2005.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)