

# BIOACUMULAÇÃO E ELIMINAÇÃO DE MERCÚRIO POR PEIXE-REI (*Xenomelanires brasiliensis*) -TÉCNICA DOS RADIODTRAÇADORES

Waldir Malagrino\*, Carlos Henrique de Mesquita\* e Eduinetty Ceci P. M. de Sousa\*\*

\* Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN/CNEN-São Paulo  
(CTR ) Centro de Tecnologia das Radiações  
Av. Lineu Prestes, 2.242 - 05508-900 - Cidade Universitária – São Paulo/SP

\*\*Instituto Oceanográfico  
Laboratório de Ecotoxicologia  
Cidade Universitária – Butantã – 05508-900, São Paulo/SP

## RESUMO

A bioacumulação de mercúrio em peixe “Rei”, *Xenomelanires brasiliensis* foi estudada com o radiotraçador  $^{203}\text{Hg}$ . O período de exposição dos organismos foi de 168 horas (bioacumulação e eliminação). O fator de bioacumulação FC, calculado no equilíbrio foi igual  $0,54 \pm 0,03$ . O equilíbrio é alcançado em aproximadamente 50 horas após o animal entrar em contacto com a água contaminada. A taxa fracional de remoção foi igual a  $0,0021 \pm 0,00007$  (i.e.,  $0,21\% \pm 0,007\%$ ) por hora. Cessada a contaminação, o animal elimina o mercúrio com meia vida de 330 horas (ou aproximadamente duas semanas). Assumindo o tempo de 10 meias vidas para eliminar o contaminante à um nível seguro o animal só se livraria do mercúrio incorporado após aproximadamente 140 dias ou cinco meses. Esta espécie ocupa posição relevante na cadeia alimentar e os resultados obtidos podem servir como subsídios no estudo do risco potencial da bioacumulação do mercúrio na fauna piscícola em níveis tróficos superiores e em última instância no homem, que é o elo final da cadeia alimentar.

Keywords: mercury, fish, bioconcentration , elimination , radiotracers

## I. INTRODUÇÃO

A crescente poluição que vem atingindo os corpos d’água em diferentes localidades, principalmente nas regiões estuarinas, junto as grandes concentrações urbanas ou em áreas de intensa prática agrícola e industrial, tem motivado a pesquisa de indicadores físico-químicos e biológicos no intuito de monitorar e mensurar as cargas poluentes e seus efeitos sobre a biota. Esse processo de investigação visa subsidiar a obtenção de parâmetros para o estabelecimento de padrões experimentais alicerçados em metodologias de fácil aplicação, tecnicamente confiáveis e de preferência de baixo custo [1] Muitos rios e regiões estuarinas na França, Inglaterra, Itália, Bélgica, Estados Unidos, Alemanha, bem como, em países em desenvolvimento como o Brasil, tornaram-se inadequados para a pesca devido à poluição por efluentes industriais e domésticos contendo concentrações consideráveis de metais pesados [2,3]. Sob o nome de metais pesados reúne-se uma série de elementos que ocupam as colunas centrais da classificação periódica. Todos eles têm propriedades tóxicas, seja no estado elementar ou na forma de compostos. Esses elementos são encontrados em baixas concentrações no meio ambiente, e alguns são indispensáveis aos seres vivos, pois entram na formação de diversas enzimas. Entretanto, esses mesmos elementos em

concentrações elevadas são prejudiciais à vida [4]. Por outro lado certas quantidades de metais traços são constituintes essenciais de organismos marinhos e alguns deles, tais como o zinco, cobre e cobalto, são altamente necessários para o crescimento e desenvolvimento normais desses seres vivos [5]. Os efeitos tóxicos causados sobre a flora e fauna aquática (especialmente peixes) pela maioria dos metais pesados são bem conhecidos. Estudos comparativos de toxicidade de metais em peixes têm sido conduzidos por vários pesquisadores. Resultados apresentados por KOBLITZ e MAURO [6,7] em testes de toxicidade para aqueles organismos indicam a seguinte ordem decrescente de toxicidade de metais: mercúrio, cobre, zinco, cádmio, estanho, alumínio, níquel, ferro trivalente e bivalente, bário, manganês, potássio, cálcio, magnésio e sódio [8].

Um dos principais problemas que os metais apresentam com relação aos seus efeitos nos organismos aquáticos advém do fato de terem a capacidade de formar complexos com as substâncias orgânicas tendendo a ser fixados nos tecidos e serem excretados muito lentamente, ou seja, possuem uma meia-vida biológica longa [9]. Resíduos industriais contendo tais elementos fatalmente gerarão problemas em curto e ou em longo prazo. Episódios de efeitos retardados com poluentes industriais são notórios. Um desses é o caso de Minamata, no Japão,

onde durante muitos anos lançou-se na baía de mesmo nome águas residuárias contendo mercúrio inorgânico, na época considerado inofensivo. Na década de 50 surgiram casos de doenças neurológicas, que levavam à paralisia e à morte. Cientificamente comprovou-se que microrganismos aquáticos transformaram o mercúrio inorgânico na forma orgânica, o metilmercúrio, extremamente tóxico que se acumulou na cadeia trófica atingindo a população local [10, 11, 12].

O mercúrio é um elemento de efeito cumulativo e tóxico mesmo em baixas concentrações pois forma compostos orgânicos altamente assimiláveis e passíveis de conduzir a efeitos mutagênicos [13]. Não há uma distinção clara entre elementos essenciais e tóxicos, pois todos são, provavelmente, tóxicos se ingeridos em quantidades elevadas. Contudo, há uma diferença entre os que são essencialmente importantes à vida animal e aqueles que provocam graves efeitos toxicológicos, mesmo em níveis extremamente baixos e que não tenham função conhecida nos organismos vivos [14, 15]. Até o momento, são conhecidos 14 elementos essenciais à vida animal, a saber: ferro, iodo, cobre, zinco, manganês, cobalto, molibdênio, selênio, cromo, níquel, estanho, silício, flúor e vanádio. Deve-se ressaltar que a função metabólica de alguns desses elementos não é totalmente compreendida.

O motivo fundamental pelo qual os átomos radioativos podem ser usados como traçadores, está no fato deles emitirem radiações energéticas facilmente detectadas. O poder de penetração das radiações é uma das razões essenciais que tornam tão úteis como traçadores os elementos radioativos. Embora se encontre no interior de um corpo sólido, um elemento radioativo revela a sua presença porque as radiações penetrantes que ele emite podem ser detectadas fora daquele corpo. Um pequeno número de átomos radioativos, quando misturados com átomos comuns do mesmo elemento revelam, por suas radiações, a localização e o comportamento físico-químico do elemento. Pode-se de fato detectar até mesmo a radiação de um único núcleo radioativo, graças à energia da radiação e à extraordinária sensibilidade dos detectores de radiações [16].

O objetivo deste trabalho foi avaliar a bioacumulação e a eliminação do mercúrio em espécies marinhas de interesse comercial por meio de ensaios biológicos utilizando-se o  $^{203}\text{Hg}$  como radiotraçador.

## II. MATERIAL E MÉTODOS

### Material de investigação

O material de investigação do presente trabalho consiste na determinação do fator de bioacumulação e da taxa de remoção do radiotraçador  $^{203}\text{Hg}$  em peixe-rei (*Xenomelanires brasiliensis*).

### Métodos e materiais utilizados

Na determinação da qualidade da água do pier (Saco da Ribeira), coletou-se a água a cerca de 1,5 milha de

distância do pier, onde existem correntes que promovem a circulação bem como a renovação da massa d'água.

A espécie de peixe rei foi selecionada levando-se em conta os requisitos, recomendados pelas agências de proteção ambiental (ISO e EPA):

- espécie tropical regional de águas marinhas superficiais, de fácil aquisição e de pequeno porte.
- espécies de hábitos alimentares omnívoros fácil de se manter em laboratórios e prontamente disponível

Na determinação do fator de bioacumulação utilizou-se o teste estático, ou seja, uma vez introduzida na água a substância a ser testada, a mesma não é renovada até o fim do teste de bioacumulação.

Os ensaios biológicos foram divididos em dois períodos, primeiramente o ensaio de bioacumulação e posteriormente o ensaio de eliminação.

Esses testes foram realizados em recipientes de vidro (béquer e aquários). O número de indivíduos por recipiente foi de cinco organismos [16].

Nos testes foram utilizados os organismos vivos, aclimatizados no próprio laboratório, sem sacrificá-los. Após receberem três lavagens consecutivas para a retirada do excesso da água com traçador, os indivíduos foram colocados em frascos de contagem com água sem traçador e a radioatividade foi medida num contador monocanal com detector de CsI. A radioatividade de uma alíquota (25 ml) da água de teste (contendo traçador) foi medida em frasco idêntico ao utilizado na medida do peixe.

Ao término das contagens promoveu-se a pesagem dos indivíduos, conhecendo-se a massa do líquido e do tubo de plástico com antecedência. Esses indivíduos foram reinsertos na água teste.

Nos experimentos de eliminação do mercúrio, transferiu-se os indivíduos para um novo sistema de água sem traçador radioativo.

Nas duas fases experimentais os indivíduos foram alimentados com dieta compatível com seus hábitos alimentares, i.e., componentes do zooplâncton.

O fator de bioacumulação foi calculado pela expressão n° (1):

$$FC = \frac{\text{Concentração do Metal no Organismo (cpm/g)}}{\text{Concentração Média do Metal na Água (cpm/mL)}} \quad (1)$$

Como FC variou no tempo, o fator de bioacumulação versus o tempo foi ajustado pelo método dos mínimos quadrados ao modelo da equação (2):

$$y_{FC} = P \times [1 - \exp(-a \times t)] \quad (2)$$

sendo  $\alpha$  ( $\text{h}^{-1}$ ) a taxa de crescimento do FC e P o valor de equilíbrio (ou patamar) do FC.

A biocinética de depuração do mercúrio foi ajustada ao modelo monoexponencial utilizando-se o método dos mínimos quadrados.

A taxa fracional de eliminação TFR ( $\text{h}^{-1}$ ) foi identificada como o parâmetro  $\tau$  da equação (3):

$$y = 100 \times \exp(-t \times \tau) \quad (3)$$

Na análise dos resultados dos experimentos de eliminação comparou-se a radioatividade presente no organismo no decorrer do tempo com a radioatividade corpórea no final do experimento da bioacumulação, i.e., na 168<sup>a</sup> de exposição do animal à água contaminada.

O traçador radioativo foi obtido por ativação neutrônica de (<sup>202</sup>Hg Cl<sub>2</sub>) sob um fluxo de nêutrons de  $1,5 \times 10^{13} \text{ n cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , por um período de 120 horas utilizando-se o reator de pesquisa IEA - R1 do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

A meia vida física do <sup>203</sup>Hg é de 46,6 dias. Após a irradiação aguardou-se um período de decaimento de 30 dias.

A solução contendo <sup>203</sup>Hg foi diluída para de modo a fornecer atividade de 111 MBq (3,0 mCi/ml) resultando numa concentração de mercúrio de 20 ppb.

### III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A bioacumulação e eliminação do <sup>203</sup>Hg foi estudada por um período de 168 horas. A Tabela 1 apresenta os valores do fator de bioacumulação, enquanto a Figura 1 ilustra a cinética do fator de acumulação. O fator de bioacumulação, tradicionalmente calculado pela equação n° (1) variou em função do tempo, apresentando taxa de crescimento de  $0,054 \pm 0,0123$  por hora. No presente estudo encontrou-se uma tendência de equilíbrio ao redor de 50 horas (ou aproximadamente dois dias). O fator de bioacumulação do mercúrio foi calculado pelo parâmetro P da equação (2) sendo igual a  $0,54 \pm 0,03$ .

Um fator de igual importância é a taxa de eliminação do mercúrio na espécie estudada. A Tabela II e Figura 2 apresentam a biocinética de eliminação do <sup>203</sup>Hg. Os testes de eliminação indicaram que a TFR do mercúrio foi de igual a  $0,0021 \pm 0,00007$  (i.e.,  $0,21\% \pm 0,007\%$ ) por hora. Este parâmetro indica que a meia vida do mercúrio na espécie Peixe-Rei (*Xenomelanires brasiliensis*) é de 330 horas (ou aproximadamente 2 semanas). Desses dados infere-se que após o mercúrio decorrente de uma contaminação voltar aos níveis normais a espécie Peixe-Rei (*Xenomelanires brasiliensis*) só se livraria do mercúrio incorporado após 10 meias-vidas, i.e., aproximadamente 140 dias ou cinco meses!

Os ensaios biológicos foram realizados em sala aclimatizada e vários controles foram monitorados constantemente desde o início ao final dos testes. Os parâmetros obtidos nos recipientes que continham os organismos foram os seguintes:

- Temperatura (variou de 25°C a 27°C)
- Salinidade (variou de 33S‰ a 35S‰)
- Oxigênio (variou de 7,5 mg/L a 8,5 mg/L)
- PH (variou de 7,7 a 8,5)
- Amônia (não excedeu a 0,2 mg/L)

Os resultados obtidos são relevantes se considerarmos que os dados encontrados na literatura sobre a bioacumulação do mercúrio pela fauna íctica brasileira são escassos. Além do mais, como esta espécie

ocupa posição relevante na cadeia alimentar, os resultados obtidos da bioacumulação e eliminação podem servir como subsídios no estudo do risco potencial da bioacumulação deste elemento na fauna piscícola em níveis tróficos superiores e em última instância no homem, que é o elo final da cadeia alimentar.

Tabela I. Valor do fator de bioacumulação FC.

Tempo (h)	FC ± DP (CV%)
0	0,000 ± 0,000 (0,0)
1	0,043 ± 0,003 (6,1)
3	0,103 ± 0,007 (6,6)
4	0,156 ± 0,007 (4,5)
12	0,226 ± 0,001 (0,5)
24	0,348 ± 0,002 (0,5)
48	0,518 ± 0,003 (0,5)
72	0,657 ± 0,003 (0,5)
96	0,451 ± 0,002 (0,5)
120	0,570 ± 0,003 (0,5)
144	0,464 ± 0,002 (0,5)
168	0,549 ± 0,003 (0,5)

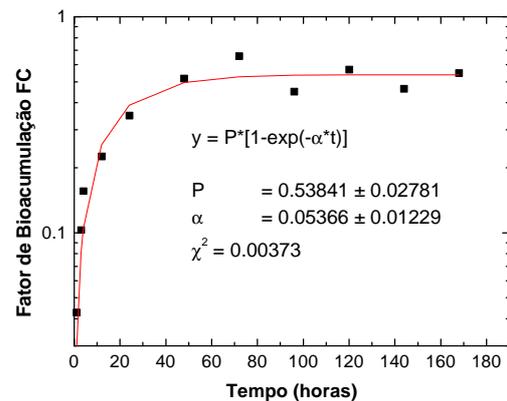


Figura 1. Cinética do fator de acumulação FC.

Tabela II. Biocinética de eliminação do <sup>203</sup>Hg

Tempo (h)	% do Incorporado ± DP (CV%)
0	100 ± 0,0 (0,0)
1	101,8 ± 0,5 (6,1)
3	100,2 ± 1,3 (6,6)
4	98,3 ± 0,5 (4,5)
12	96,9 ± 1,0 (0,5)
24	94,3 ± 0,6 (0,5)
48	91,1 ± 1,0 (0,5)
72	85,6 ± 0,7 (0,5)
96	82,7 ± 0,7 (0,5)
120	80,5 ± 1,0 (0,5)
144	73,8 ± 1,6 (0,5)
168	67,8 ± 1,5 (0,5)

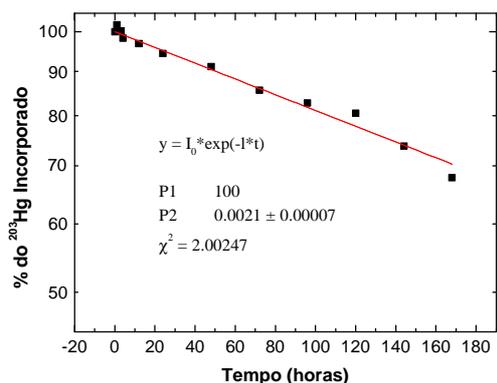


Figura 2. Biocinética de eliminação

#### IV. CONCLUSÃO

O fator de bioacumulação do Peixe-Rei (*Xenomelanires brasiliensis*) exposto em água contaminada com mercúrio é de  $FC = 0.54 \pm 0.03$ , isto é, o animal contém a metade da concentração do metal na água por grama de massa corpórea.

No cálculo do fator de bioacumulação FC foi necessário garantir o estado de equilíbrio dinâmico do mercúrio no animal pois o parâmetro variou acumulativamente em função do tempo. No caso da espécie Peixe-Rei o fator FC só se estabiliza a partir de aproximadamente 50 horas.

Cessada a contaminação no meio aquoso, o animal elimina o mercúrio com meia vida de 330 horas (ou aproximadamente 2 semanas). Assumindo o fator de 10 meias vidas para como o suficiente para eliminar o contaminante, o animal só se livraria do mercúrio incorporado após aproximadamente 140 dias ou cinco meses.

A taxa fracional de eliminação de mercúrio foi igual a  $0.0021 \pm 0.00007$  (i.e.,  $0,21\% \pm 0,007\%$ ) por hora.

#### REFERÊNCIAS

- [1] CURREY, N.A.; BENKO, W.I.; YARU, B.T.; KABI, R. **Determination of heavy metals, arsenic and selenium in barramundi (*Lates calcarifer*) from Lake Murray, Papua New Guinea.** Trace Metals in the aquatic Environment. 1992, vol 125 pp. 305-320.
- [2] BOISCHIO, A.A.P.; HENSHEL, D.S. **Risk assessment by the Riverside People in the Madeira Bassin, Amazon, 1991.** Neurotoxicology 1996 vol., 17, no. 1, pp., 169 - 176.
- [3] NANDA, S. **The environmental impact of a chloro-alkali factory in a river basin in eastern India.** Environmentalist 1993 vol. 13, no. 2, pp. 121 - 124.

[4] MASON, R.P. ; REINFELDER, J.R.; MOREL, F.M.M. **Bioaccumulation of mercury and methylmercury.** Third International Conference on Mercury as a Global Pollutant. 1995 vol. 80, no. 1-4 pp. 915 - 921.

[5] KEHRIG, H. A.; MALM, O - **Mercúrio: uma avaliação na costa brasileira.** Ver. Ciência Hoje, Vol 22/Nº 132, 1997.

[6] KOBLITZ, J.L. **Análise dos Metais Pesados, Granulometria e Matéria orgânica dos sedimentos Recentes da Lagoa Rodrigo de Freitas,** Rio de Janeiro. Trab. Apresentado no VII COLACMAR. Congresso Latino-Americano sobre Ciências do Mar. 1997.

[7] MAURO, J.B. - **Metilação e incorporação de mercúrio pela Biota da Baía de Guanabara (RJ) - Brasil.** Trab. Apresentado no VII COLACMAR. Congresso Latino-Americano sobre Ciências do Mar, 1997.

[8] PROTASOWICKI,; MORSY, G. **Preliminary studies on heavy metal contents in aquatic organisms from the Hornsund area, with a particular reference to the Arctic chan [*Salvelinus alpinus* (L.)].** Acta Ichthyol. Pis. 1993 vol. 23, no. Suppl., pp. 115 - 131.

[9] ROMEO, M. ; GNASSIA BARELLI, M., LAFAURIE, M. **Heavy metals pollution in marine food chains. Devitalisation des reseaux de distribution et elimination des matieres organiques de l'eau.** Paris France Association Scientifique Europeenne pour l'eau et la Sante 1995 vol. 26, no. 2 pp. 227 - 238.

[10] FURLEY, T.H. & OLIVEIRA, A C. **Monitoramento do Efluente da Aracruz Celulose S/A Através do uso de Mexilhões como Indicadores de Metais Pesados e Organoclorados.** 5º ECOTOX 1998. Encontro Brasileiro de Ecotoxicologia 05 a 08 10/98 Itajaí - SC - Brasil.

[11] KUROSHIMA, K.N; RESGALLA JR.,C. TOMAZELLI, F.F.; MANZONI, G. REIS FO. R.W. & LAITANO, K. CTTMar /UNIVALI. **Monitoramento Ambiental através dos Mexilhões Cultivados e suas Relações com os Processos fisiológicos em Sítios de Cultivo de Santa Catarina.** 5º ECOTOX 1998. Encontro Brasileiro de Ecotoxicologia 05 a 08 10 1998 Itajaí - SC - Brasil.

[12] RIISGAARD, H.U.; HANSEN, S. , **Biomagnification of mercury in a marine grazing food chain algal cells *Phaeodactylum tricornutum*, mussels *Mytilus edulis* and flounders *Platichthys flesus* studied by means of a stepwise reduction CVAA method.** Mar. Ecol. Prog. Ser. 1990. Vol. 62, no. 3, pp. 259 - 270.

[13] MEDEIROS, I.D.; ALMEIDA, E.A; VENTURA, E.C.; MÜLLER, I.C.; MEZZARI, M.P. & BAINY, A.C.D. **Biomonitoramento da Contaminação Aquática na Baía**

**Norte da Ilha de Santa Catarina Utilizando Mexilhões *Perna perna* como Organismos Sentinela.** 5º ECOTOX 1998. Encontro Brasileiro de Ecotoxicologia 05 a 08 10/98 Itajaí - SC – Brasil.

[14] REBELO, M.F.; AMADO-FILHO, G.M., CORREA JR., J.D.; BASTOS, W.R. & PFEIFER, W.C. **Bioindicators of Heavy Metal Contamination in the Sepetiba Bay,** Rio de Janeiro. 5º ECOTOX 1998. Encontro Brasileiro de Ecotoxicologia 05 a 08 10/98 Itajaí - SC – Brasil.

[15] DAVENPORT, S. **Mercury in blue sharks and deepwater dogfish from around Tasmania.** Aust. Fish., 1995 vol. 54, no. 3, pp. 20-22.

[16] ASTM, Designation: **E - 1022 Standard Practice for conducting Bioconcentration Tests With Fishes and Salt Water Bivalve Molluscs.** Annual Bull of ASTM Standards. Vol. 11.01 - 1988.

[17] MALAGRINO, W. - Utilização do zinco 65 como elemento traçador no estudo da bioacumulação do zinco por organismos aquáticos. São Paulo, 1992. Dissertação de mestrado apresentada no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (USP)

[18] MALAGRINO, W., B. MAZZILLI. **Use of <sup>65</sup>Zn as a Radioactive Tracer in the Bioaccumulation Study of Zinc by *Poecilia reticulata*.** Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles, Vol. 183, No. 2 (1994) 389- 393.

[19] MALAGRINO W & ROCHA A.A. **Estudos Comparativos sobre a Etologia de Moluscos de Praias de Ubatuba S.P. sob a Ação de Detergentes Aniônicos.** Trabalho Apresentado no III- Simpósio sobre Oceanografia - IOUSP - 2 a 6 de dezembro de 1996.

[20] MALAGRINO W., MESQUITA C.H; SOUSA E.C.P.M. **Uso do Alimento Marcado com Zinco - 65 no Estudo da Bioacumulação do Zinco pela Espécie *Poecilia reticulata*.** Trabalho Apresentado no 5 Simpósio de Biologia da UNISANTA/24 a 29 de julho de 2000<sup>a</sup>.

[21] MALAGRINO W; MESQUITA C.H, SOUSA E.C.P.M. **Bioacumulação de Metais Pesados por Organismos Aquáticos pela Técnica dos Radiotraçadores.** Trabalho Apresentado no VI - Encontro de Ecotoxicologia e III - Reunião da SETAC Latino-Americana de 3 a 6 de setembro de 2000b, São Carlos, São Paulo.

[22] MALAGRINO W, MESQUITA C.H, SOUSA E.C.P.M. **Técnica dos Radiotraçadores na Bioacumulação e Eliminação do Mercúrio em Organismos Aquáticos.** Trabalho Apresentado no V - ENAN ( Encontro Nacional de Aplicações Nucleares ). Rio de Janeiro 13 a 20 de 2000c. RESUMOS pág. 405.

## ABSTRACT

The present work has as main objective to emphasize the importance of using radioactive tracers as well as to establish a methodology for the utilization of <sup>203</sup>Hg in the bioaccumulation study of mercury by *Xenomelanires brasiliensis*. The exposure time was 168 hours. The bioaccumulation of mercury from the water as well as the elimination of the metal previously absorbed were determined by measuring the activity of <sup>203</sup>Hg, which was added to the water in the beginning of the experiments. The technique chosen is suitable to study the behavior of the stable mercury since the radioisotope used is an isotope of the same element and therefore presents the same chemical properties. The results obtained show that the absorption and elimination of mercury by *Xenomelanires brasiliensis* is slow, 168 hours being necessary for the elimination of 38 % of the previously absorbed mercury. The results are of main concern if it is considered that the literature about bioaccumulation of mercury by the Brazilian ichthyofauna is scarce. Furthermore the species *Xenomelanires brasiliensis* is part of the food chain and the results can be used in the evaluation of the potential risk of the mercury bioaccumulation by fishes of higher trophic levels and by men who are the final link of the food chain.