

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

***BIOMONITORAÇÃO DE Hg, Cd, Pb E OUTROS ELEMENTOS
EM ÁREAS COSTEIRAS DO ESTADO DE SÃO PAULO POR
MEIO DO MEXILHÃO TRANSPLANTADO *Perna perna*
(LINNAEUS, 1758)***

MARÍLIA GABRIELA MIRANDA CATHARINO SEMMLER

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do grau de Doutor em
Ciências na Área de Tecnologia Nuclear -
Aplicações.

Orientadora:

Dra. Marina Beatriz Agostini Vasconcellos

Co-orientadora:

Dra. Eduinetty Ceci Pereira Moreira de
Sousa

São Paulo
-2007-

Aos meus pais e irmãos

Ao Renato

AGRADECIMENTOS

À Dra. Marina Beatriz Agostini Vasconcellos, pelos ensinamentos, carinho, paciência e principalmente pela confiança em mim depositada ao longo dos doze anos que estamos juntas.

Ao Edson Moreira por me acompanhar em todas as viagens durante a coleta, participar de todo trabalho em Ubatuba, pela paciência, carinho e amizade.

À Dra. Eduinetty Ceci Pereira Moreira de Sousa do Instituto Oceanográfico da USP (IOUSP) pela co-orientação dada a este trabalho e por toda a ajuda durante as coletas.

Ao Camilo do Instituto Oceanográfico da USP (IOUSP) pela ajuda imprescindível na realização das coletas das amostras, pela paciência, apoio e amizade.

Aos amigos do IOUSP, Márcia, Letícia, Tullus, Luís e Marta pelo auxílio e apoio que contribuíram para a realização da coleta das amostras.

Ao Mauro pelo auxílio realizado na retirada das amostras em Ilhabela.

Ao Edmilson, do cultivo de mexilhões, pela colaboração para realização deste trabalho.

Ao amigo Mário pela amizade e incentivo.

Às Dras. Vera Maihara e Déborah Fávoro do IPEN, pelas sugestões e esclarecimentos para a realização deste trabalho.

À Dra. Mitiko Saiki, pelo auxílio e apoio que contribuíram para a realização deste trabalho, e aos demais integrantes do LAN do IPEN, Dras. Ana, Maria José (Tata), Casimiro, Rosemeire, pelo apoio e incentivo.

Aos amigos, Andreza, Cássio, Cláudio, Edson Alves, Fábio Toledo, Guilherme, Irene, Luciana, Osman, Regina, Ricardo e Selma pela amizade e convívio.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao IPEN/CNEN-SP, pela oportunidade de realizar este trabalho, nos laboratórios de Ativação Neutrônica.

Ao Instituto Oceanográfico da USP e aos funcionários da Base Norte de Ubatuba que permitiram a utilização dos laboratórios para a realização das coletas.

Ao Terminar Marítimo Almirante Barroso – TEBAR – Petrobrás – São Sebastião pela colaboração para a realização deste trabalho.

***BIOMONITORAÇÃO DE Hg, Cd, Pb E OUTROS ELEMENTOS
EM ÁREAS COSTEIRAS DO ESTADO DE SÃO PAULO POR
MEIO DO MEXILHÃO TRANSPLANTADO *Perna perna*
(LINNAEUS, 1758)***

MARÍLIA GABRIELA MIRANDA CATHARINO SEMMLER

RESUMO

No Brasil, devido à extensão da costa e aos inúmeros problemas ambientais encontrados em diversas de suas regiões, é necessária a monitoração contínua de diversos compartimentos ambientais, tais como águas, solos, sedimentos e de biomonitores com a finalidade de avaliar a possibilidade de riscos à saúde humana e à animais.

Elementos traço presentes na água do mar e sedimentos marinhos podem ser acumulados por invertebrados marinhos como: moluscos bivalves tais como, ostras e mexilhões. Esses moluscos são capazes de acumular poluentes, por serem sedentários, sem que ocorra a sua morte. Sua utilidade como organismos biomonitores proporciona uma avaliação da biodisponibilidade de elementos traço tóxicos em diferentes áreas.

O objetivo deste trabalho é dar uma contribuição à monitoração de elementos menores e traços tais como: As, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, Hg, Na, Pb, Se e Zn em algumas regiões da costa do Estado de São Paulo: Praia da Cocanha, São Sebastião, Ilhabela e Santos (Itaipu e Ilha das Palmas) por meio do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus,1758) realizando o transplante desses organismos de um local de cultivo (biomonitoração ativa) para os locais de estudo.

Os mexilhões foram transplantados para áreas possivelmente contaminadas, por um período de tempo de 3 meses, em cada uma das quatro estações do ano. Os elementos As, Ca, Co, Cr, Fe, Na, Se e Zn foram determinados pelo método de análise por ativação com

nêutrons instrumental, AANI e os elementos Cd, Hg e Pb por espectrometria de absorção atômica, AAS, sendo o Hg por CVAAS e o Cd e o Pb por ET AAS. O controle de qualidade analítica foi realizado por meio da análise de materiais de referência marinhos (Oyster Tissue 1566b – NIST e Mussel Tissue 2976 - NIST), tendo-se obtido erros relativos entre 0,3 e 8,3 % para a AANI e entre 0,8 e 3,9 % para o método de AAS. Foi realizado o cálculo das incertezas para os métodos analíticos empregados.

Foi verificado que após os transplantes dos organismos houve acumulação de todos os elementos estudados, em relação ao ponto de controle da Praia da Cocanha, em quase todos os pontos de estudo, indicando assim a boa aplicabilidade dos mexilhões *Perna perna* como biomonitores. No trabalho são discutidas também algumas variações sazonais encontradas.

***BIOMONITORING OF Hg, Cd, Pb AND OTHER ELEMENTS
IN COASTAL REGIONS OF SÃO PAULO STATE USING
TRANSPLANTED MUSSELS *Perna perna* (LINNAEUS, 1758).***

MARÍLIA GABRIELA MIRANDA CATHARINO SEMMLER

ABSTRACT

In Brazil, due to the extension of the coast and to innumerable pollution problems encountered in several regions, it is necessary the continuous monitoring of many environmental compartments, such as water, soils, sediments and biomonitors in order to evaluate the possibility of hazards to humans and animals.

Trace elements present in sea water and in marine sediments may accumulate in marine invertebrates as bivalve mollusks such as oysters and mussels. These mollusks are able to accumulate pollution, due to their sedentary life, remaining alive. Their utility as biomonitor organisms enables the assessment of trace element availability to biomass from different areas.

The aim of this study is to give a contribution to the biomonitoring of trace and minor elements such as As, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, Hg, Na, Pb, Se and Zn in some regions of the coast of the State of São Paulo: Cocanha Beach (control site), São Sebastião, Ilhabela and Santos (Itaipu and Ilha das Palmas) by using the *Perna perna* mussel (Linnaeus 1758), by means of transplanting these organisms from a clean cultivation site (active biomonitoring) to the sites of study.

Mussels were transplanted to the possibly contaminated areas for different periods of time, during the four seasons of the year. The elements As, Ca, Co, Cr, Fe, Na, Se and Zn were determined by Instrumental Neutron Activation Analysis, INAA and the elements Cd, Hg and Pb by Atomic Absorption Spectrometry, AAS. Hg was determined by CVAAS and Cd and Pb by ET AAS. Analytical quality control was performed by means of analysis

of marine reference materials (Oyster Tissue 1566b – NIST and Mussel Tissue 2976 - NIST) and relative errors obtained were between 0.3 and 8.3 % for AANI and between 0.8 and 3.9 % for AAS.

It was concluded that, after the transplant of the organisms to the study sites, accumulation of all the elements analyzed occurred, in almost all the study sites, indicating the possibility of using the *Perna perna* mussel as biomonitor. Some seasonal variations encountered are also discussed.

SUMÁRIO

| | Página |
|---|---------------|
| <i>CAPÍTULO 1</i> | 1 |
| <i>1. INTRODUÇÃO</i> | 1 |
| <i>CAPÍTULO 2</i> | 11 |
| <i>2. OBJETIVOS</i> | 11 |
| <i>2.1. Objetivo Geral</i> | 11 |
| <i>2.2. Objetivos Específicos</i> | 11 |
| <i>3. IMPORTÂNCIA DOS ELEMENTOS PARA O PRESENTE ESTUDO</i> | 12 |
| <i>3.1. Arsênio</i> | 13 |
| <i>3.2. Cádmio</i> | 14 |
| <i>3.3. Cálcio</i> | 15 |
| <i>3.4. Chumbo</i> | 17 |
| <i>3.5. Cobalto</i> | 18 |
| <i>3.6. Cromo</i> | 20 |
| <i>3.7. Ferro</i> | 21 |
| <i>3.8. Mercúrio</i> | 22 |
| <i>3.9. Selênio</i> | 24 |
| <i>3.10. Sódio</i> | 26 |
| <i>3.11. Zinco</i> | 27 |

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO 4 | 29 |
| 4. ORGANISMO DE ESTUDO - MEXILHÃO <i>Perna perna</i> (LINNAEUS, 1758) | 29 |
| 4.1. Cultivo de Mexilhões | 32 |
| CAPÍTULO 5 | 37 |
| 5. ÁREA DE ESTUDO | 37 |
| 5.1. Caraguatatuba – Praia da Cocanha | 39 |
| 5.2. São Sebastião e Ilhabela | 40 |
| 5.3. Baixada Santista | 42 |
| CAPÍTULO 6 | 46 |
| 6. PARTE EXPERIMENTAL | 46 |
| 6.1. Delineamento | 46 |
| 6.2. Coleta dos Organismos e Montagem do Experimento | 47 |
| 6.3. Pré-Tratamento das Amostras | 50 |
| 6.4. Preparação das Amostras | 53 |
| 6.4.1. Liofilização..... | 54 |
| 6.4.2. Moagem..... | 55 |
| 6.5. Técnicas Analíticas | 56 |
| 6.5.1. Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental –AANI..... | 56 |
| 6.5.2. Espectrometria de Absorção Atômica – AAS..... | 64 |
| 6.6. Análises | 68 |
| 6.6.1. Materiais de Referência Certificados..... | 68 |
| 6.6.2. Teor de Umidade Residual..... | 70 |
| 6.6.3. Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental – AANI..... | 71 |
| 6.6.3.1. Preparação dos Padrões..... | 72 |
| 6.6.3.2. Pesagem das Amostras e Materiais de Referência Certificados..... | 74 |
| 6.6.3.3. Irradiação..... | 74 |
| 6.6.3.4. Decaimento..... | 74 |
| 6.6.3.5. Medida das Atividades..... | 74 |

| | |
|---|-----------|
| 6.6.3.6. Resultados das Análises..... | 76 |
| 6.6.4. Espectrometria de Absorção Atômica – AAS..... | 76 |
| 6.6.4.1. Análise de Mercúrio Inorgânico – CV AAS..... | 77 |
| 6.6.4.1.1. Soluções Utilizadas no Equipamento..... | 78 |
| 6.6.4.1.2. Soluções para a Construção da Curva de Calibração..... | 78 |
| 6.6.4.1.3. Pesagem das Amostras e Materiais de Referência..... | 79 |
| 6.6.4.1.4. Digestão Ácida..... | 79 |
| 6.6.4.1.5. Detecção por CV AAS..... | 79 |
| 6.6.4.1.6. Resultados das Análises..... | 80 |
| 6.6.4.1.7. Descontaminação do Material..... | 81 |
| 6.6.4.2. Análise de Cádmio e Chumbo – ET AAS..... | 81 |
| 6.6.4.2.1. Soluções para as Construções das Curvas de Calibrações..... | 82 |
| 6.6.4.2.2. Pesagem das Amostras e Materiais de Referência..... | 83 |
| 6.6.4.2.3. Digestão Ácida..... | 84 |
| 6.6.4.2.4. Detecção por ET AAS..... | 84 |
| 6.6.4.2.4.1. Cádmio..... | 85 |
| 6.6.4.2.4.2. Chumbo..... | 86 |
| 6.6.4.2.5. Resultados das Análises..... | 88 |
| 6.6.4.2.6. Descontaminação do Material..... | 88 |
| | |
| CAPÍTULO 7 | 89 |
| | |
| 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 89 |
| 7.1. Resultados do pré-tratamento das amostras de mexilhões..... | 89 |
| 7.2. Umidade residual para os materiais de referência certificados..... | 92 |
| 7.3. Limite de detecção e quantificação..... | 92 |
| 7.4. Incertezas..... | 95 |
| 7.5. Cálculo do escore z..... | 96 |
| 7.6. Resultados das análises para os materiais de referência certificados..... | 97 |
| 7.7. Resultados das análises nas amostras de mexilhões da praia da Cocanha..... | 100 |
| 7.8. Resultados das análises nas amostras de mexilhões transplantados..... | 103 |

| | |
|--|-----|
| <i>CAPÍTULO 8</i> | 114 |
| 8. CONCLUSÕES | 114 |
| <i>CAPÍTULO 9</i> | 116 |
| 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 116 |
| 10. ANEXOS | 134 |

LISTA DE TABELAS

| Tabela | Página |
|---------------|---|
| 1 | Valores certificados para os elementos no material de referência certificado Oyster Tissue 1566b – NIST69 |
| 2 | Valores certificados para os elementos no material de referência certificado Mussel Tissue 2976 – NIST.....70 |
| 3 | Soluções padrão, volumes pipetados e massas nos padrões.....73 |
| 4 | Meia-vida e energia da radiação gama dos radioisótopos.....76 |
| 5 | Parâmetros otimizados do equipamento para análise de cádmio em materiais marinhos.....85 |
| 6 | Parâmetros otimizados para a construção da curva de calibração para análise de cádmio em materiais marinhos.....86 |
| 7 | Parâmetros otimizados do programa de aquecimento do forno de grafite para análise de cádmio em materiais marinhos.....86 |
| 8 | Parâmetros otimizados do equipamento para análise de chumbo em materiais marinhos.....87 |
| 9 | Parâmetros otimizados para a construção da curva de calibração para análise de chumbo em materiais marinhos.....87 |
| 10 | Parâmetros otimizados do programa de aquecimento do forno de grafite para análise de chumbo em materiais marinhos.....87 |
| 11 | Coleta dos mexilhões transplantados nos pontos de estudo, faixa de comprimento e largura das conchas e condições dos organismos.....90 |
| 12 | Perda de água, em porcentagem, das amostras de mexilhões após liofilização.....91 |
| 13 | Valores para os teores de umidade residual para os materiais de referência certificados Oyster Tissue 1566b – NIST e Mussel Tissue 2976 – NIST.....92 |
| 14 | Limites de detecção e quantificação (peso úmido), para os elementos determinados nas amostras de mexilhões transplantados, pela técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental AANI.....94 |
| 15 | Limites de detecção e quantificação (peso úmido), para os elementos determinados nas amostras de mexilhões transplantados, pela técnica de espectrometria de absorção atômica AAS.....94 |

| | | |
|----|---|-----|
| 16 | Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) no material de referência certificado - Oyster Tissue 1566b – NIST..... | 98 |
| 17 | Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) no material de referência certificado Mussel Tissue 2976 – NIST..... | 98 |
| 18 | Resultados das análises preliminares ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões do Cultivo da Cocanha, pelas técnicas AANI e AAS – 1/2005..... | 101 |
| 19 | Valores médios para alguns metais e semi-metais obtidos em cultivos de Santa Catarina e o Cultivo da praia da Cocanha – São Paulo (Valores em $\mu\text{g.g}^{-1}$ de peso seco)..... | 102 |
| 20 | Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS – Campanha de outono 2005..... | 104 |
| 21 | Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS – Campanha de Inverno 2005..... | 104 |
| 22 | Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS – Campanha de Primavera 2005..... | 105 |
| 23 | Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS – Campanha de verão 2006..... | 105 |
| 24 | Resultados individuais ($\mu\text{g.g}^{-1}$) para o material de referência Oyster Tissue 1566b – NIST (peso seco)..... | 134 |
| 25 | Resultados individuais ($\mu\text{g.g}^{-1}$) para o material de referência Mussel Tissue 2976 – NIST (peso seco)..... | 135 |
| 26 | Resultados individuais ($\mu\text{g.g}^{-1}$) para o cultivo da Praia da Cocanha (peso úmido) – Análise preliminar – 01/2005..... | 136 |
| 27 | Resultados individuais das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS - Campanha de Outono 2005..... | 137 |
| 28 | Resultados individuais das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS - Campanha de Inverno 2005..... | 138 |
| 29 | Resultados individuais das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS - Campanha de Primavera 2005..... | 139 |
| 30 | Resultados individuais das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS - Campanha de Verão 2006..... | 140 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | Página |
|---|---------------|
| 1 Foto da espécie <i>Perna perna</i> – Visão externa e interna | 29 |
| 2 Foto do <i>Perna perna</i> macho e fêmea..... | 30 |
| 3 Foto das brânquias do <i>Perna perna</i> | 31 |
| 4 Foto dos mexilhões em cultivo suspenso..... | 34 |
| 5 Foto de mexilhões em costão rochoso..... | 35 |
| 6 Foto do modelo francês de confecção de rede de mexilhões..... | 36 |
| 7 Mapa dos pontos de transplantes, cultivo de mexilhões e emissários submarinos..... | 38 |
| 8 Gráfico da classificação das praias de acordo com o período de tempo que ficaram “próprias” | 40 |
| 9 Foto do Terminal Marítimo Almirante Barroso da Petrobrás e seu Píer..... | 41 |
| 10 Foto do Porto de Santos..... | 44 |
| 11 Mapa da localização das indústrias e terminais na Baixada Santista em 1999..... | 45 |
| 12 Foto da área de cultivo da Praia da Cocanha–Caraguatatuba, Fazenda de mexilhões.. | 46 |
| 13 Foto da corda com mexilhões, adquirida no cultivo da Praia da Cocanha..... | 48 |
| 14 Foto da corda de mexilhões revestida com rede de pesca..... | 48 |
| 15 Foto do transplante dos mexilhões - Ponto 1 - Píer Sul – TEBAR – Petrobrás..... | 49 |
| 16 Foto do transplante dos mexilhões - Ponto 2 - Praia Engenho d’água – Ilhabela..... | 49 |
| 17 Foto dos organismos em tanque com água do mar para recuperação..... | 50 |
| 18 Foto dos mexilhões para pré-tratamento..... | 51 |
| 19 Foto do grupo de 90 organismos..... | 51 |
| 20 Foto da retirada da parte mole do organismo da concha..... | 52 |
| 21 Fotos da homogeneização em liquidificador com facas de titânio..... | 52 |
| 22 Foto da pesagem das amostras homogeneizadas..... | 53 |
| 23 Foto da liofilização das amostras – Liofilizador Thermo Electron Corporation, modelo Modulyo D-115..... | 55 |
| 24 Foto da etapa de moagem das amostras de mexilhões, após a liofilização..... | 56 |
| 25 Sequência de eventos do mecanismo da reação nuclear do tipo (n, γ)..... | 58 |
| 26 Processo de absorção atômica..... | 64 |

| | | |
|----|--|-----|
| 27 | Principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica..... | 65 |
| 28 | Principais etapas para as análises por AANI..... | 71 |
| 29 | Foto do equipamento CANBERRA utilizado para as medidas das atividades (taxas de contagem)..... | 75 |
| 30 | Principais etapas para a determinação de mercúrio total por CV AAS..... | 77 |
| 31 | Foto do equipamento de CV AAS - FIMS da Perkin-Elmer (Flow Injection Mercury System)..... | 80 |
| 32 | Principais etapas para as determinações de cádmio e chumbo por ET AAS..... | 82 |
| 33 | Foto do equipamento de AAnalyst 800 da Perkin-Elmer..... | 84 |
| 34 | Diagrama de Ishikawa para as contribuições à incerteza combinada em AANI..... | 95 |
| 35 | Diagrama de Ishikawa para as contribuições à incerteza combinada em AAS..... | 96 |
| 36 | Escore z para os valores médios obtidos para os elementos As, Ca, Cd, Co, Fe, Hg, Na, Pb, Se e Zn no material de referência certificado Oyster Tissue 1566b – NIST..... | 99 |
| 37 | Escore z para os valores médios obtidos para os elementos As, Cd, Fe, Hg, Pb, Se e Zn no material de referência certificado Mussel Tissue 2976 – NIST..... | 99 |
| 38 | Variação sazonal dos elementos analisados nos locais de estudo..... | 106 |
| 39 | Variação sazonal dos elementos analisados nos locais de estudo..... | 107 |
| 40 | Padrões de comportamento entre os pontos estudados, concentrações dos elementos em relação ao controle e as estações do ano..... | 113 |

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

O crescente aporte de poluentes das mais diversas naturezas, como resíduos de pesticidas e metais tóxicos, principalmente nas regiões estuarinas que sofrem impacto de atividades agrícolas, industriais e municipais, tem gerado, cada vez mais, sérias preocupações a nível global.

Os estuários são muito utilizados para a disposição de efluentes urbanos e industriais, acarretando a poluição das águas e da vida marinha por diversos poluentes. Pode-se verificar, mundialmente, o aumento nos níveis desses contaminantes, e essa constatação tem levado à formulação de estratégias para diminuir o impacto causado nesses ecossistemas. O grau de poluição desses ecossistemas pode colocar em risco a saúde das populações ribeirinhas que utilizam essas águas tanto para a pesca quanto para o lazer (MAIA *et al.*, 2006).

Um dos episódios que mais chocou a população mundial foi o da contaminação da Baía de Minamata no Japão, nos anos 50 e 60, TAKEUCHI & ETO, (1999), quando a Chisso Co, produtora de acetaldeído, lançou efluentes de mercúrio e metilmercúrio ao mar, o que causou a morte ou incapacitação de milhares de pessoas devido ao consumo de peixes e frutos do mar contaminados e deu origem à chamada “Doença de Minamata”.

Inúmeros outros episódios de contaminação de regiões costeiras, ocorridos no mundo todo, levaram muitos países a estabelecer extensos programas de monitoração, que incluem análises de águas, sedimentos e organismos marinhos, para diversos contaminantes orgânicos e inorgânicos.

Os principais elementos inorgânicos de interesse para esse tipo de programa são aqueles considerados de maior toxicidade, como: mercúrio, chumbo, cádmio, arsênio, níquel, cobre, zinco, antimônio e diversos outros. Além dos compostos inorgânicos, os contaminantes orgânicos são também de muito interesse, tais como os PCBs (bifenilas policloradas) e PAHs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), pois são considerados

como os poluentes mais nocivos à biota nas águas marinhas, costeiras e estuarinas do mundo.

Nos Estados Unidos, por exemplo, foi iniciado em 1976 o “Mussel Watch Programme”, com o objetivo de avaliar a contaminação de áreas costeiras, por meio da biomonitoração, utilizando os chamados “organismos-sentinelas” como mexilhões (*Mytilus*) e ostras (*Ostrea* ou *Crassostrea*). Outros países também têm implantado programas desse tipo (VIARENGO & CANESI, 1991).

Um organismo é um bioindicador quando contém informações sobre a qualidade do meio ambiente. Um organismo biomonitor é o que contém informações sobre os aspectos quantitativos e qualitativos sobre o meio ambiente (MARKERT *et al.*, 1999).

É importante ressaltar que em países mundialmente reconhecidos pelo seu desenvolvimento na gestão do setor de maricultura, os níveis aceitáveis de micropoluentes no meio natural são fixados de maneira rigorosa. Além da especificação de espécies químicas para os elementos de maior toxicidade, constata-se que os níveis tolerados são bem inferiores àqueles permitidos pela legislação em vigor no Brasil (GUNDERSEN *et al.*, 2001).

As concentrações de substâncias potencialmente tóxicas em água do mar são extremamente baixas e consideravelmente diversificadas no espaço e no tempo, tornando assim suas determinações complexas. Um outro meio para a determinação das concentrações dessas substâncias tóxicas em água do mar, que tem sido bastante utilizado, é a monitoração através de diferentes espécies de bivalves.

Elementos traço de água do mar e sedimentos marinhos podem ser acumulados por muitas espécies de invertebrados marinhos tais como ostras, mexilhões, etc. A utilização dessas espécies como biomonitores proporciona uma estimativa da disponibilidade de elementos traço à biomassa de diferentes áreas e localidades. Esses moluscos, em geral bentônicos, são capazes de acumular poluentes sem morrer (YUSOF *et al.*, 2004).

YUSOF *et al.*, (2004) avaliaram a poluição de áreas costeiras da Península da Malásia, analisando os teores de elementos traço e metais tóxicos em sangue de moluscos bivalves (*Anadara granosa*), mexilhão verde (*Perna viridis*) e sedimentos de 22 pontos de amostragem, para a verificação de tendências predominantes. Os metais tóxicos e elementos traço analisados foram: As, Cd, Cr, Cu, Pb, Se e Zn. As técnicas utilizadas para as determinações foram espectrometria de absorção atômica (AAS) e análise por ativação com nêutrons instrumental (INAA). Foram aplicados testes de correlação baseados nas

concentrações dos metais e elementos traço em sedimentos e em bivalves, e concluiu-se que os bivalves apresentam um potencial grande para seu uso como biomonitores.

BECHMANN *et al.*, (2001) determinaram as concentrações dos elementos V, Cr, Co, Ni, Cu, Ga, Rb, Cd, Ba, e Pb no tecido mole do mexilhão azul (*Mytilus edulis*) usando o método de ICP MS de alta resolução. Foi analisado o material de referência NIST-SRM 2974, “mussel tissue” e mexilhões azuis de sete diferentes sítios do Limfjorden (Dinamarca). Os mexilhões dos diferentes sítios puderam ser distinguidos por meio da Análise de Componentes Principais, ACP. A comparação com os níveis de elementos-traço nos mexilhões, em relação aos níveis de 1982, mostrou que a contaminação por elementos-traço tem aumentado nos últimos 15 anos. Pelos dados obtidos, concluiu-se que o mexilhão azul é um bom biomonitor para a identificação de áreas costeiras expostas a contaminantes metálicos.

OSTAPCZUK *et al.*, (1997) estudaram a utilização de bivalves como biomonitores, utilizando a espécie *Mytilus edulis* e a alga marrom *Fucus vesiculosus* para a biomonitoração em três localidades do Mar do Norte (Eckwarderhörne, Cuxhaven/Altenbruch e Königshafen na Alemanha), regiões influenciadas pelos rios Elba e Weser, e uma no Mar Báltico considerada uma região limpa. Os elementos determinados foram: Hg, As, Se, Cd, Pb, Cu, Na, K, S, P, Zn, Mn, Fe, Sr, Ca, Ba, Mg, Tl, Ni e Co, e as técnicas utilizadas para as análises foram: espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), análise por ativação com nêutrons instrumental (INAA), espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS), espectrometria de emissão atômica com plasma induzido (ICP OES), entre outras. De acordo com os resultados, para alguns elementos como: As, Mn, Co, Ni e Ba a bioacumulação em algas é significativamente mais alta do que nos mexilhões, enquanto que o Hg e Se são melhor acumulados em mexilhões. Para os elementos P, S, Na, K, Mg, Cu, Cd, Pb e Zn nenhuma diferença significativa foi observada. Os autores concluíram que no estudo a longo-prazo algas e mexilhões podem ser úteis para a monitoração, dependendo do objetivo, visto que ambas espécies são adequadas para demonstrar mudanças nas concentrações de Cd, Pb, Hg, Ni, Co, Cu e Zn em ecossistemas marinhos.

CHAFIK *et al.*, (2001) monitoraram a qualidade das águas costeiras do Marrocos, entre 1993 e 1997, medindo os parâmetros hidrológicos (oxigênio dissolvido, material particulado suspenso, fosfatos e nitratos) e usando o mexilhão *Mytilus galloprovincialis*

como biomonitor para a contaminação pelos elementos cádmio, cobre, manganês e zinco. As concentrações dos metais no mexilhão mostraram variações significativas, dependendo da estação de coleta e período de amostragem. As variações sazonais nas concentrações foram caracterizadas por valores mínimos no inverno e também estão aparentemente relacionadas ao ciclo fisiológico do animal. Os autores concluíram que, com exceção das áreas contaminadas por Cd, os mexilhões da costa do Marrocos parecem estar adequados para o consumo, de acordo com os padrões da legislação da Comunidade Européia (nº 194/97).

MORA *et al.*, (2004) realizaram estudos sobre a poluição da região do Golfo e do Golfo de Oman (Bahrain, Oman, Qatar e Emirados Árabes Unidos), coletando sedimentos costeiros e biota marinha (peixes e diversos bivalves). O Golfo compreende uma região marinha relativamente rasa, semi-fechada, com características de baixo fluxo de água e taxa de evaporação muito alta. Assim, os contaminantes sofrem pouca diluição e menor dispersão do que ocorreria em um sistema marinho aberto. A região tem experimentado diversos impactos nos últimos anos, que contribuíram para a poluição do ambiente devido ao transporte marítimo de petróleo, indústrias, agricultura em expansão e também ao impacto de três guerras nas duas últimas décadas. Por exemplo, houve derramamento maciço de petróleo durante a invasão iraquiana. Neste estudo foram analisadas amostras de sedimentos das regiões costeiras, duas espécies de peixes de importância comercial e diversos bivalves, notadamente ostras. As amostras foram analisadas para os metais, exceto Hg, por ICP MS. Para a análise de Hg na biota, as amostras foram analisadas por CV AAS, usando redução com SnCl₂. No caso das análises de sedimentos, duas localidades se destacaram em termos de seus elevados teores de elementos-traço: próximo à refinaria de petróleo de Bahrain e na praia de Akkah, na costa leste dos Emirados Árabes Unidos. No primeiro caso, atribuiu-se às descargas antrópicas e no segundo à mineralogia da região. Níveis elevados de Ni, Co e Cr foram encontrados na praia de Akkah, que não foram atribuídos a atividades industriais pois estas não existem nas proximidades. Quanto ao Hg, as concentrações nos sedimentos do Golfo e do Golfo de Oman foram muito baixas, pelos padrões internacionais.

As amostras do molusco *Pinna muricata* dos EAU (Emirados Árabes Unidos) tinham concentrações relativamente altas de Co (12,9µg.g⁻¹), Ni (35,8µg.g⁻¹) e Mn (1110µg.g⁻¹).

Concentrações muito altas de Zn (4290µg.g⁻¹), V (7,3µg.g⁻¹) e Pb (3,92µg.g⁻¹) foram encontradas nas ostras (*Pinctada radiata*) coletadas nas proximidades de uma refinaria de

petróleo, em Bahrain. Naquelas coletadas em Abu Dhabi, ocorreram teores relativamente altos de Cr, Fe, Co, Ni, Cu e Ag. As ostras (*Saccostrea cucullata*) de Ras Al Yei, Omã, apresentaram os teores mais altos, para diversos dos elementos-traço analisados. Em especial o Cd, um elemento associado com águas de ressurgência, sempre exibiu concentrações altas ($16-35\mu\text{g.g}^{-1}$) nas ostras dessa região, especialmente na época das monções. Durante os meses das monções muitos desses elementos-traço estão aumentados na água e no material particulado suspenso, quando a ressurgência e más condições marítimas são predominantes.

Dos bivalves examinados, os mexilhões (*Circentia callipyga*) e a espécie “*Pinna muricata*” continham os teores mais altos de arsênio (156 e $153\mu\text{g.g}^{-1}$). As concentrações encontradas são, em média, seis vezes mais altas do que a mediana nacional ($9,2\mu\text{g.g}^{-1}$) encontrada em bivalves, principalmente ostras e mexilhões (*Mytilus edulis*), coletados no período 1986-1997, no contexto do USA National Status and Trends Mussel Watch project. Os níveis de Hg total nos peixes predadores comumente consumidos na região estiveram abaixo do valor de $0,5\mu\text{g.g}^{-1}$ (peso úmido), que é o valor considerado seguro, estabelecido em muitos países.

No caso das altas concentrações de arsênio encontradas, considera-se como hipótese mais provável a ocorrência de processos biogeoquímicos naturais na região e não a origem do arsênio a partir de fontes pontuais de contaminação.

MIKAC *et al.*, (1996) realizaram experimentos de transplante de mexilhões (*Mytilus galloprovincialis*) obtidos em um cultivo, dos quais as características biométricas eram bem conhecidas. Esses organismos foram transplantados para diversos sítios ao longo do estuário do Rio Krka, na costa leste do Mar Adriático, e foi estudada a cinética de acumulação do mercúrio em uma área com baixa poluição deste elemento. Foram escolhidos 480 indivíduos de um ano de idade e com características biométricas conhecidas. Estes foram separados em quatro grupos de 120 indivíduos e colocados em quatro diferentes sítios, a uma profundidade de 6 metros, onde a salinidade da água é constante (38‰), o que proporciona condições de vida semelhantes os originais. Foram realizadas amostragens periódicas, tomando 25 indivíduos de cada estação, durante um período de cerca de 9 meses. Foram 10 indivíduos para análises biométricas e 15 para as análises de mercúrio nos tecidos moles.

As amostras foram analisadas por CV AAS. As concentrações de mercúrio total e metil-mercúrio foram significativamente correlacionadas com o peso da concha, peso do

mexilhão e peso seco do mexilhão. Verificou-se que somente uma pequena porcentagem (<1%) do Hg total presente na água é finalmente retida pelos mexilhões, o que é consequência da baixa eficiência de acumulação do Hg inorgânico pelos mexilhões e da eficiente eliminação desse elemento por este organismo marinho. A acumulação do MeHg é completamente diferente e estima-se que seja da ordem de $20\text{pg.L}^{-1}\text{MeHg}$. A eficiência de acumulação do Hg total da água seria menor do que 1% e para o MeHg estaria em torno de 20 a 50 %.

GAŠPIĆ *et al.*, (2006) realizaram outro estudo para avaliar a disponibilidade para organismos marinhos (*Mytillus galloprovincialis*) de mercúrio remobilizado na Baía de Kaštela, situada no Mar Adriático. Essa Baía foi contaminada por este metal e estima-se que a quantidade total de mercúrio lançada foi de 39 toneladas. Os mexilhões, obtidos em um cultivo situado em área não poluída, foram transplantados para a Baía, tendo sido determinados os teores de Hg total e metil-mercúrio no tecido mole, glândula digestiva e guelras. Para determinar a biodisponibilidade do mercúrio na Baía, o material suspenso e o sedimento também foram coletados, nas mesmas estações e analisados, em um experimento paralelo. As concentrações de mercúrio total foram medidas nos mexilhões, sedimento e material suspenso. As concentrações de MeHg foram determinadas somente nas amostras biológicas, por separação por troca iônica, seguida de detecção por CV AAS.

As concentrações de Hg total na glândula digestiva foram de 1,5 a 5,5 vezes mais altas do que no tecido mole. As concentrações de MeHg em todos os tecidos aumentaram significativamente após o transplante. As concentrações de MeHg no tecido mole e nas guelras foram positivamente correlacionadas com as concentrações de Hg total nesses tecidos, enquanto que para a glândula digestiva essa correlação não foi estatisticamente significativa. A glândula digestiva dos mexilhões acumulou mais Hg total do que os outros tecidos, enquanto que as concentrações de MeHg foram semelhantes em todos os tecidos analisados. Os resultados sugerem que, não importa qual seja a forma de absorção, o Hg inorgânico é transportado principalmente para a glândula digestiva. Provavelmente, lá o Hg inorgânico é transformado em uma forma menos tóxica (inativa) antes da excreção ou retenção. Nesse estudo, o processo de acumulação do Hg nos mexilhões transplantados foi rápido em todas as estações, o que indica que o ecossistema da Baía de Kaštela está poluído com mercúrio. Os valores obtidos para o mercúrio total no tecido total do mexilhão são significativamente mais baixos ($138\text{-}325\text{ng.g}^{-1}$ peso seco) em comparação com o período anterior ao fechamento da fábrica de cloro-álcalis, quando os mexilhões na

vizinhança do efluente da fábrica continham até $20\mu\text{g.g}^{-1}$ de Hg, peso úmido e $100\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco. No entanto, são ainda mais altos do que aqueles encontrados em áreas não contaminadas (cerca de 20ng.g^{-1} peso úmido).

Segundo os autores, o implante de mexilhões em uma área contendo sedimento contaminado por Hg é uma boa ferramenta de monitoração para a avaliação da disponibilidade de Hg remobilizado para organismos marinhos. Os dados obtidos ao longo de seis meses de experimentos indicaram que a glândula digestiva foi um indicador muito sensível da concentração de Hg total no ambiente. Quanto ao metil-mercúrio, todos os tecidos podem ser igualmente utilizados como bioindicadores das concentrações de MeHg no meio ambiente.

No Brasil, alguns trabalhos têm sido realizados visando o uso de organismos marinhos, como os mexilhões, como indicadores de metais tóxicos e organoclorados. Ênfase especial é dada à análise de mercúrio e metilmercúrio, devido à particular toxicidade dos compostos orgânicos desse elemento e às descargas industriais que ocorrem, particularmente das indústrias de cloro-álcalis (FURLEY & OLIVEIRA, 1998; MAURO, 1997; MEDEIROS *et al.*, 1998; CALLIL, 1998).

PFEIFFER *et al.*, (1985) foram os primeiros a usar o mexilhão *Perna perna* como bioindicador para a contaminação de cádmio e chumbo na Baía de Sepetiba.

COSTA *et al.*, (2000) realizaram um estudo com o objetivo de comparar os teores de mercúrio em mexilhões da Baía de Guanabara, ao longo de um intervalo de tempo de 10 anos (1988 a 1998). A espécie utilizada para a biomonitoração foi o *Perna perna* por ser o bivalve mais comumente encontrado na Baía. A Baía de Guanabara na costa Sudeste do Brasil tem sido fortemente poluída pela indústria do petróleo, erosão, esgotos, entre outras fontes. Além disso, sua bacia tem sido bastante deflorestada. Até uma década atrás, a Baía de Guanabara recebia efluentes contendo mercúrio, oriundos de uma fábrica de cloro-álcalis, situada nas margens de um de seus afluentes.

Os sítios de amostragem foram Urca e Marina da Glória. A Urca possui maior oxigenação e recebe um aporte de água limpa a cada ciclo da maré. Os mexilhões foram coletados nesse sítio nas paredes de uma plataforma flutuante. O sítio de coleta da Marina da Glória está localizado ao longo da península que forma a marina municipal do Rio de Janeiro e na qual as rochas proporcionam um excelente substrato de fixação. No entanto, o local já está muito explorado e nem sempre é possível obter amostras ali. Os mexilhões

coletados na Marina da Glória são inclusive comercializados para restaurantes do Rio de Janeiro. A água desse sítio sofre descarga das galerias pluviais da cidade.

Após a coleta os mexilhões foram removidos, colocados em sacos plásticos e congelados a -20°C , até a análise. Após o descongelamento, o tecido mole foi removido e deixado brevemente sobre papel de filtro. Neste trabalho foram comparados dois métodos de mineralização (Campos, 1980 e Akagi e Nishimura, 1991) e em ambos os casos o Hg foi medido por CV AAS, após redução com cloreto estânico.

Os dois métodos de dissolução comparados forneceram resultados semelhantes para a análise do material de referência SRM 2976 (Mussel Homogenate) e não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias. Em ambos os períodos estudados, os teores de Hg dos mexilhões da Baía de Guanabara foram considerados seguros para o consumo, mas os teores de patógenos e outros contaminantes não foram adequados.

Não foram encontradas relações entre os teores de Hg e o comprimento, massa e sexo dos mexilhões. Não se encontrou, nos dois períodos estudados, variações sazonais para o conteúdo de mercúrio total. O Hg total nos mexilhões coletados na Urca não apresentou diferenças significativas, de 1988 a 1998, ao passo que na Marina da Glória ocorreu um aumento significativo. Essas variações poderiam ser atribuídas a mudanças nas condições das águas, às quais os mexilhões responderiam rapidamente (em um período de 2 a 3 meses), ou a descargas fluviais e urbanas, que não somente diminuem a salinidade, mas também trazem uma carga maior de material particulado e de poluentes.

Na Urca é menos provável que sejam encontradas essas variações, devido à estabilidade da população de mexilhões e à maior influência das águas advindas do Atlântico, com qualidade melhor e menos sujeitas a variações. Esse sítio seria adequado para ser usado como controle em um programa de biomonitoração.

KEHRIG *et al.*, (2001) realizaram um estudo onde foi feita uma comparação, quanto ao teor de mercúrio total e metil-mercúrio, assim como as relações metil-mercúrio/mercúrio total (% de metil-mercúrio), para três espécies de organismos marinhos, o peixe carnívoro *Micropogonias furnieri*, o peixe detritívoro *Mugil spp.* e o bivalve *Perna perna*, que são largamente consumidos pela população. Um total de 291 espécimes foram coletados na Baía de Guanabara, em diferentes períodos, entre 1988 e 1998. Todos os organismos apresentaram baixas concentrações de mercúrio total e metil-mercúrio, sempre abaixo do limite máximo de $1000\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{Hg}$ (peso úmido), estabelecido para o consumo humano de peixes predatórios, pela nova legislação brasileira (BRASIL, 1998).

Os autores concluíram que as baixas concentrações de mercúrio total e metil-mercúrio nos organismos do ecossistema da Baía de Guanabara estão relacionadas com as condições eutróficas da Baía e seus elevados teores de material suspenso. Nessa situação, o Hg poderia estar fortemente complexado ou adsorvido pelo particulado, que então diluiria os aportes de Hg e reduziria os tempos de residência na coluna d'água, com um conseqüente decréscimo na sua disponibilidade aos organismos.

CURTIUS *et al.*, (2003) realizaram um estudo onde foram investigados a qualidade de ostras da espécie *Crassostrea gigas* e mexilhões da espécie *Perna perna* cultivados na zona costeira do estado de Santa Catarina. Os cultivos estavam situados nas proximidades da Ilha de Santa Catarina: Enseada da Pinheira (município de Palhoça), praia do Sambaqui e na praia do Ribeirão da Ilha. As coletas de mexilhões e ostras, água do mar e sedimentos marinhos foram realizadas em abril e outubro de 1999 e 2000. As determinações de metais e semi-metais foram realizadas por ETV ICP MS. Segundo os autores, nas águas do mar todos os teores de metais encontram-se abaixo do limiar máximo permitido pela legislação brasileira (CONAMA). Em síntese, os riscos de contaminação de moluscos por metais e semi-metais podem ser considerados pouco relevantes pelo fato de não ter sido realizada uma avaliação suplementar sobre o estado dos sedimentos existentes nas áreas de cultivo selecionadas. Foi verificado também que o teor de Cu é mais acumulado em ostras do que em mexilhões (10 vezes mais). O mesmo comportamento foi observado para os elementos Cd e Zn, porém em proporções menores, de 1,7 a 3,5 vezes, para o Ni a acumulação foi maior nos mexilhões, uma média de 5,7 vezes superior.

Embora já tenham sido realizados muitos trabalhos de monitoração no Brasil (PFEIFFER *et al.*, 1985; COSTA *et al.*, 2000; KEHRIG *et al.*, 2001 e CURTIUS *et al.*, 2003), devido à extensão do país e aos inúmeros problemas ambientais que têm ocorrido devido aos aportes antrópicos de compostos tóxicos das mais diversas naturezas ao meio ambiente, torna-se necessária a obtenção ainda de um grande volume de dados com relação à monitoração de diversos compartimentos ambientais, como águas, solos, sedimentos, aerossóis, organismos marinhos, etc.

O *Perna perna* é um bivalve presente ao longo de uma grande extensão da costa brasileira e apresenta, em princípio, todas as propriedades desejáveis para um biomonitor. Assim, essa espécie é uma boa candidata para o estabelecimento de um programa de biomonitoração em áreas tropicais.

Nesse contexto, o presente trabalho pode vir a dar uma contribuição, no que se refere à aplicação dos métodos de análise por ativação neutrônica e espectrometria de absorção atômica, para a análise de elementos tais como: mercúrio, chumbo, cádmio, arsênio, cobalto, selênio, ferro e diversos outros em organismos marinhos (organismos-sentinela) transplantados, tendo sido escolhido o mexilhão *Perna perna*, devido à sua abundância, larga distribuição e alto consumo pela população brasileira.

As regiões estudadas nesse trabalho sofrem grandes impactos antrópicos, principalmente a região da Baixada Santista pois na década de 70, grande quantidade de despejos de resíduos químicos industriais, sem controle adequado, resultou em poluição do ar, solos e águas. Por outro lado, mesmo com a presença de muitos contaminantes, orgânicos e inorgânicos, a pesca de crustáceos, peixes e a captura de moluscos bivalves continuou ocorrendo, o que gerou sérias preocupações com relação ao consumo desses organismos pelas populações locais (PEREIRA *et al.*, 2002).

CAPÍTULO 2

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Desenvolvimento dos experimentos de transplante de mexilhões *Perna perna*, de uma região de cultivo para diversos pontos do litoral de São Paulo com o objetivo de determinar o teor dos elementos traço bioacumulados. Este experimento é inédito no Brasil, para estudo de bioacumulação de elementos-traço.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliação da bioacumulação sazonal dos seguintes elementos: As, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, Hg, Na, Pb, Se, Zn em amostras de organismos marinhos, após período de exposição em pontos sujeitos a contaminação, pelos métodos de análise por ativação com nêutrons instrumental (INAA) e espectrometria de absorção atômica, ETAAS e CVAAS.

- Validação da metodologia de análise por ativação com nêutrons instrumental para a determinação dos elementos: As, Ca, Co, Cr, Fe, Na, Se e Zn.

- Validação das metodologias de ET AAS e CV AAS para a determinação dos elementos: Cd, Hg e Pb.

CAPÍTULO 3

3. IMPORTÂNCIA DOS ELEMENTOS PARA O PRESENTE ESTUDO

Os organismos aquáticos dependem do ambiente para obtenção dos elementos "essenciais" (ciclo de vida), mas também estão expostos aos considerados "não-essenciais" que podem causar contaminação do meio ambiente e dos seres vivos, incluindo o homem (BOWEN, 1979).

Elementos "essenciais" são aqueles sem os quais não há desenvolvimento normal. Eles são divididos em *macroelementos* e *microelementos*. Os *macroelementos* são: o nitrogênio, potássio, cálcio, fósforo, enxofre e magnésio. Os *microelementos* e traços são: bário, cloro, cobalto, cobre, ferro, zinco, manganês e molibdênio. Estes elementos, quando ultrapassam determinadas concentrações, tornam-se tóxicos para a saúde humana. Já os elementos arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio não existem naturalmente em nenhum organismo, nem desempenham funções nutricionais ou bioquímicas em microorganismos, plantas ou animais. Portanto a presença destes elementos em organismos vivos é prejudicial em qualquer teor (SIQUEIRA, 2003).

Os principais metais considerados mais tóxicos são: Hg, Cd e Pb. Esses metais são totalmente não biodegradáveis, e por isso acumulam-se no meio ambiente e nos seres vivos.

No caso do Hg, o processo da biomagnificação é extremamente eficiente, sendo o aumento da concentração de até 10.000 vezes, ao longo das cadeias alimentares (MALM, 2006).

Os efeitos fisiológicos e toxicológicos de metais sobre organismos aquáticos dependem da biodisponibilidade desses elementos, associada à forma química predominante, que, por sua vez, está relacionada a uma série de fatores como pH, dureza, alcalinidade, presença de quelantes orgânicos e inorgânicos entre outros (STUMM & MORGAN, 1981).

3.1. Arsênio

O arsênio é um semi-metal com ampla distribuição na superfície terrestre, ocorrendo na maioria das rochas em concentrações que variam de 2 a $5\mu\text{g.g}^{-1}$, podendo atingir $13\mu\text{g.g}^{-1}$ em sedimentos argilosos (CETESB, 2001a). Encontra-se também em quantidades variáveis na água e vegetais. Pode ser concentrado por organismos marinhos ou ainda liberado como gás volátil (AsH_3 - arsina) sob a influência de fungos arsenófilos ou agentes redutores presentes em águas que contenham o arsênio (GONTIJO & BITTENCOURT, 2005).

O meio industrial representa outra fonte de As, especialmente as fundições de chumbo, ouro, prata, cobre, zinco e cobalto. É clássico o prurido arsenical ou prurido dos fundidores (*smelters itch*) desencadeado pelo contato com o trióxido de arsênio. Outras fontes de exposição incluem a manufatura de vidros, esmaltes, tintas, tecidos e couros, produtos agrícolas como inseticidas, formicidas, herbicidas e preservativos de madeira.

No corpo humano, o arsênio é encontrado em níveis que variam em torno de 0,0005 a $0,032\mu\text{g.g}^{-1}$ no sangue, e na urina os níveis considerados normais são em torno de $0,01\mu\text{g.g}^{-1}$ enquanto no cabelo os níveis normais são abaixo de $1\mu\text{g.g}^{-1}$ (WHO, 1981).

O arsênio é um elemento de grande importância para o meio ambiente, pois assim como o mercúrio, chumbo e cádmio apresentam efeitos danosos à saúde quando absorvido pelo homem. O efeito tóxico deste elemento depende da forma em que ele se encontra. Os compostos orgânicos são reconhecidamente menos tóxicos que os inorgânicos e neste último caso os compostos trivalentes são os mais tóxicos.

A maioria dos alimentos de origem terrestre contém menos de $1\mu\text{g.g}^{-1}$ de As de peso seco. Para os alimentos de origem marinha os níveis presentes são substancialmente mais altos, atingindo $80\mu\text{g.g}^{-1}$. Portanto a ingestão dietética de arsênio é grandemente influenciada pela quantidade de frutos do mar ingeridos (OMS, 1998).

Alguns peixes e crustáceos podem conter altos níveis de As como compostos orgânicos estáveis, por exemplo, arseniobetaína nas lagostas. Sua toxicidade é baixa, mas ainda não foram estudados os efeitos retardados (OLSZEWER, 1998).

Altas doses de arsênio causam envenenamento agudo e em alguns casos pode ser fatal. Exposições crônicas são causas de doenças da pele, câncer, desordens nervosas, problemas respiratórios, e outros efeitos patológicos (WHO, 1981).

3.2. Cádmio

O cádmio é encontrado em baixas concentrações na crosta terrestre, em torno de 0,1 a $0,2\mu\text{g.g}^{-1}$. Altas concentrações podem ser encontradas em rochas sedimentares e fosfatos marinhos que, freqüentemente, contém aproximadamente 15mg.kg^{-1} de cádmio (WHO, 1992).

A concentração de cádmio em águas superficiais em mar aberto está abaixo de 5ng.L^{-1} . A distribuição vertical do cádmio dissolvido em águas do oceano caracteriza-se por quantidades menores na superfície e maiores em águas profundas, o que pode ser correlacionado com os níveis de nutrientes nessas áreas. Essa distribuição deve-se à absorção do cádmio pelo fitoplâncton em águas superficiais, seu transporte para o fundo, incorporado a fragmentos biológicos e subsequente liberação (WHO,1992).

O cádmio apresenta várias propriedades físicas e químicas semelhantes ao zinco, o que explica a ocorrência dos dois metais juntos na natureza. Em minerais e minérios o cádmio e o zinco são encontrados geralmente em uma relação que varia, respectivamente, entre 1:100 e 1:1000, sendo que ocorre principalmente sob a forma de sulfetos (CARDOSO & CHASIN, 2001). Pode ocorrer também em associações com o chumbo e cobre em minerais e minérios. As maiores fontes antrópicas de cádmio são: atividades envolvendo mineração, produção, consumo e disposição de produtos que utilizam cádmio, tais como: baterias de Ni-Cd, pigmentos, estabilizadores de produtos de PVC, recobrimento de produtos ferrosos e não ferrosos (recobrimento contra corrosão), ligas de cádmio, componentes eletrônicos, ligas de zinco, chumbo e cobre, emissões de indústrias de ferro e aço, combustíveis fósseis (carvão, óleo, gás, turfa e madeira) e fertilizantes fosfatados (WHO,1992). A mineração de metais não ferrosos representa a maior fonte de cádmio (contaminação das águas) para o ambiente aquático. A contaminação do solo pode ocorrer a partir de resíduos sólidos como: resíduos sólidos da produção de metais não ferrosos, manufatura de artigos contendo cádmio e resíduos de cinzas de incineradores, sendo esses os resíduos com maiores proporções de cádmio. Os resíduos com menores proporções de cádmio, que também contribuem para a contaminação do solo são: resíduos de cimento, resíduo de lixo municipal, resíduo de esgoto e cinzas da queima de combustíveis sólidos. Os resíduos de lixo municipais são importantes pelo fato de não existir coleta eficiente de baterias de Ni-Cd.

Fertilizantes e agrotóxicos utilizados indiscriminadamente na agricultura podem apresentar diversos metais em suas fórmulas químicas, podendo veicular elevadas concentrações de cádmio com doses altamente tóxicas ao homem.

O cádmio pode causar intoxicações agudas em trabalhadores, por exposição direta em seus locais de trabalho e em populações de áreas industriais poluidoras. Quando absorvido pelo homem (e por outros animais) concentra-se em vários órgãos, na urina e no sangue, com acúmulo no fígado e rins (ARANHA, *et al.*, 1994).

Além de carcinogênico o cádmio tem se mostrado lesivo ao DNA. Existe toxicidade, carcinogenicidade e teratogenicidade do cádmio para o homem e animais. O dano renal ocorre após o dano hepático via liberação do complexo metal-proteína ligante, o que pode ter uma relação importante na nefrotoxicidade observada na resposta crônica da exposição ao cádmio (ROMAN, *et al.*, 2002).

Peixes, caranguejos e animais acumulam Cd em graus relativamente elevados nos rins e no fígado (OLSZEWER, 1998).

3.3. Cálcio

Muitos compostos contendo cálcio já eram conhecidos desde a antiguidade pelos indianos, egípcios, gregos e romanos.

É o quinto elemento em abundância na crosta terrestre (3,6% em massa) e cerca de 8% da crosta da Lua. O cálcio não aparece livre na natureza, estando sempre como constituinte de rochas ou minerais de grande interesse industrial, como as que apresentam em sua composição carbonatos (mármore, calcita, caliza e dolomita) e sulfatos (gipso, alabastro) a partir dos quais se obtém a cal viva, o cimento, etc. Outros minerais que o contêm são a fluorita (fluoreto), apatita (um fluorfosfato de cálcio) e granito (rochas silicatadas).

As águas naturais, incluindo a água do mar, contêm normalmente sais de cálcio dissolvidos, como o carbonato e o sulfato de cálcio. Por este fato, vários organismos marinhos concentram depósitos de compostos de cálcio nas suas conchas e no seu esqueleto, como é o caso das ostras, cuja concha é constituída por carbonato de cálcio.

Na indústria, o cálcio metálico é largamente utilizado para eliminar gases residuais em tubos de vácuo, entrando também como agente redutor na preparação de metais como tório, urânio, zircônio etc. Os compostos de cálcio são usados na fabricação de uma enorme variedade de produtos que vai de tintas a fertilizantes. Em processos industriais como na curtição de couros e no refino do petróleo, utiliza-se o óxido de cálcio (CaO), sendo este último preparado pela decomposição térmica do carbonato de cálcio (CaCO₃). Uma vez hidratado, o CaO forma a cal hidratada, cuja suspensão em água é muito usada como uma tinta branca de baixo custo.

O cálcio é o quinto elemento mais abundante no organismo. Constitui cerca de 1 a 2% do peso corpóreo - 99% do cálcio está nos ossos e dentes e o 1% restante está no sangue e líquidos extracelulares e dentro das células dos tecidos moles (COZZOLINO, 2005).

Seu excesso no organismo pode ocasionar os conhecidos cálculos renais, que são na verdade pequenos aglomerados de um composto conhecido como oxalato de cálcio. Ele é um dos elementos mais abundantes no corpo humano. A deficiência de cálcio pode provocar raquitismo, falhas no mecanismo de coagulação do sangue, distúrbios nervosos e contrações musculares convulsivas. A ingestão de vitamina D aumenta bastante a absorção do cálcio (BUZINARO *et al.*, 2006).

O Ca é encontrado em maiores ou menores concentrações, dependendo do alimento, sendo, geralmente, mais abundante e biodisponível no leite bovino e derivados (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1998). Porém, alguns outros alimentos, quando ingeridos em quantidades adequadas, podem contribuir consideravelmente para o seu fornecimento, de forma aproveitável, aos indivíduos. O leite de outros animais (cabras e ovelhas) e os queijos e iogurtes feitos a partir deste leite, poderiam ser usados em porções equivalentes às dos laticínios de origem bovina, como substitutos. Já o leite de soja enriquecido com Ca se constituiria em uma alternativa interessante, desde que fossem adequados os volumes das porções à biodisponibilidade do elemento. Outros alimentos como o feijão branco, o brócolis, a couve e os peixes pequenos inteiros, poderiam ser utilizados em associação com produtos de maior teor/biodisponibilidade para atingir-se as metas dietéticas adequadas de Ca nos indivíduos que não querem ou não podem ingerir o leite de vaca (BUZINARO *et al.*, 2006).

O nível de ingestão dietético diário médio recomendado RDA (Recommended dietary allowance) para adultos homens e mulheres com idade de 19 a 50 anos é de 1000mg (NAS, 2000a).

3.4. Chumbo

Esse metal tem ocorrência natural em rochas magmáticas e outras, em concentrações que variam de $0,1\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (rochas ultramáficas e calcários) a $40\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (rochas magmáticas ácidas e sedimentos argilosos) (CETESB, 1997).

As emissões vulcânicas, intemperismo geoquímico e névoas aquáticas, constituem-se nas maiores fontes naturais desse elemento (WHO, 1989a).

O chumbo é raramente encontrado no seu estado elementar. O mineral de chumbo mais comum é o sulfeto denominado de galena (com 86,6% deste metal, mais importante fonte primária de chumbo). Geralmente é encontrado com minerais de zinco, prata e, em maior abundância, de cobre. O chumbo também é encontrado em vários minerais de urânio e de tório, já que se forma diretamente da desintegração radioativa destes radioisótopos.

O chumbo não tem funções nutricionais, bioquímicas ou fisiológicas conhecidas, tornando-se assim tóxico para a maioria dos organismos vivos.

Esse metal é largamente utilizado na fabricação de acumuladores de chumbo (conhecido como baterias de chumbo), como catalisadores na fabricação de espumas de poliuretano, pinturas navais com o objetivo de inibir a inscrustação nos cascos, agentes biocidas contra as bactérias grampositivas, proteção da madeira contra o ataque das brocas e fungos marinhos, inibidores da corrosão do aço e blindagem contra radiação.

O chumbo está presente em indústria de extração, beneficiamento e fundição do metal (CETESB, 2001a), ocorrendo assim como efluente de indústrias de refino de petróleo as quais utilizam chumbo e outros metais como catalisadores, anticorrosivos ou dispersantes, indústrias petroquímicas e siderúrgicas, entre outras. As fundições de metais, fábricas de baterias e indústrias químicas constituem-se nas maiores fontes de liberação deste metal.

Até 1970, quase toda gasolina utilizada no mundo continha chumbo. O chumbo tetraetila ($\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$) era utilizado como anti-detonante da gasolina, melhorando assim sua qualidade, porém emitia vapores de chumbo para atmosfera. Em 1984, a combustão da

gasolina com chumbo adicionado foi responsável por aproximadamente 90% do total de emissões antrópicas. Na década de 90 alguns países limitaram o uso da gasolina com chumbo diminuindo a quantidade das emissões (PAOLIELLO & CHASIN, 2001).

O Brasil já utilizou o tetraetil-chumbo (chumbo-tetraetila) para melhorar a qualidade da gasolina. Atualmente, a gasolina é misturada com álcool etílico (etanol ou álcool comum), o que melhora sua resistência à compressão.

O chumbo é um elemento tóxico não essencial, o qual acumula-se no organismo e tem maior percentual de fixação, no corpo humano, no tecido ósseo, de 90 a 95% adsorvido, caracterizando uma doença crônica denominada saturnismo ou plumbismo (SIQUEIRA, 2003). Este metal pode ser introduzido no organismo através da inalação (ar atmosférico), ingestão (água, alimentos e solo contaminados) e por via dérmica. Dependendo do nível e duração da exposição, o chumbo pode afetar vários sistemas orgânicos. Os principais efeitos dos compostos de chumbo no sistema nervoso por exposição crônica são as encefalopatias com irritabilidade, cefaléia, tremor muscular, alucinações, perda da memória e da capacidade de concentração. Pode ser distribuído também no fígado, rins e trato respiratório (MAVROPOULOS, 1999).

Em organismos filtradores o chumbo pode ser acumulado através das brânquias, tornando-se assim o consumo de organismos contaminados altamente perigoso para a saúde humana.

Os níveis de Pb nos alimentos são muito variáveis. Lavar e descascar retiram parcialmente o Pb dos alimentos, ao passo que, enlatar e processar têm efeito inverso (OLSZEWER, 1998).

3.5. Cobalto

O Cobalto é um metal duro, quebradiço, com aparência semelhante a do ferro com coloração branca azulada. Normalmente está associado a minérios de níquel, prata, chumbo, cobre e ferro, dos quais é obtido como subproduto. Sua presença também é detectada em meteoritos.

O cobalto metálico é normalmente constituído de duas formas alotrópicas com estruturas cristalinas diferentes: hexagonal e cúbica centrada nas faces.

Esse metal é utilizado para a produção de superligas usadas em turbinas de gás de aviões, ligas resistentes a corrosão, carbetos, ferramentas de diamante, eletrodos de baterias, sais são usados para dar cor azul a porcelanas, vidros e esmaltes. A solução do cloreto é usada como tinta.

É também utilizado como catalisador para refino de petróleo, alguns processos químicos, e como estabilizador de espuma de cervejas e chope.

Com níquel, alumínio, manganês e silício, forma uma liga de nome comercial Alnico, que é usada em ímãs permanentes de elevado fluxo magnético. Com cromo e tungstênio, forma a liga comercialmente chamada Stellite, usada em ferramentas de corte para altas velocidades e temperaturas e também em matrizes para produção de peças metálicas.

O radioisótopo ^{60}Co é usado como fonte de radiação gama em radioterapia, esterilização de alimentos (pasteurização).

É um elemento químico essencial para os mamíferos em pequenas quantidades.

O cobalto faz parte do centro ativo da molécula de vitamina B12 (4%), a qual se apresenta estocada no fígado (ORTOLANI, 2002). Em ruminantes sua absorção é baixa, em torno de 3% (McDOWELL, 1992). Entre os animais, os ruminantes são os que mais necessitam de cobalto, pois o elemento é requerido e usado pela microbiota ruminal que converte o cobalto em vitamina B12 e seus análogos (VAN SOEST, 1994). O cobalto é essencial na dieta de ruminantes pois participa na reação do metabolismo do ácido propiônico que é necessário para síntese de cianocobalamina (B12). Essa vitamina influencia o metabolismo energético, facilitando a formação de glicose. A deficiência da vitamina B12 impede a formação de hemoglobina, e uma série de lesões no sistema nervoso central pode ocorrer (LEHNINGER, 1985).

As pastagens de algumas regiões são deficientes em cobalto, pelas condições alcalinas de solo ou pelo excesso de manganês, causando diminuição da absorção do elemento pelas plantas (GONZÁLEZ & SILVA, 2003).

Os vegetais, geralmente são pobres em Co, mas são a maior fonte para os animais (OLSZEWER, 1998).

O nível de ingestão dietético diário médio recomendado pela RDA para adultos é de $2,4\mu\text{g}$ (NAS, 1998).

3.6. Cromo

O cromo é encontrado em todas as rochas da crosta terrestre, daí estar difundido no solo, na água e nos materiais biológicos.

Nas águas, assim como nos solos, o cromo encontra-se, predominantemente, em sua forma iônica reduzida (Cr^{+3}), mais estável e menos tóxica, ou na forma mais oxidada (Cr^{+6}), menos estável e mais tóxica aos organismos (CETESB, 2001a).

Plantas contêm entre 100 e $500\mu\text{g.kg}^{-1}$ e alimentos, de um modo geral, contêm entre 20 e $590\mu\text{g.kg}^{-1}$ (COZZOLINO, 2005).

O cromo é empregado principalmente em metalurgia para aumentar a resistência à corrosão e dar um acabamento brilhante. Em ligas metálicas, o aço inoxidável, por exemplo, apresenta aproximadamente 8% de cromo. Seus cromatos e óxidos são empregados em corantes e pinturas. É comum o uso do cromo e de alguns de seus óxidos como catalisadores, por exemplo, na síntese do amoníaco (NH_3). Está presente em tijolos refratários utilizados no revestimento de fornos e em ligas metálicas. Sais de cromo têm amplo emprego em curtumes, laboratórios e na indústria química em geral. O metal é encontrado também em efluentes líquidos de siderúrgicas, refinarias, indústrias de fertilizantes e de celulose e papel.

O Cr (III) é um oligoelemento essencial, mas também tóxico, para o homem; é necessário para a manutenção dos metabolismos normais da glicose, colesterol, e ácidos graxos. A deficiência do Cr em animais é associada com insuficiência na tolerância à glicose, retardo do crescimento, opacidade da córnea e degeneração necrótica do fígado (OLSZEWER, 1998).

Em alimentos e em suplementos apenas a forma trivalente está presente. Quando ingerido, o Cr(III) possui baixo grau de toxicidade, principalmente por sua baixa absorção (COZZOLINO, 2005).

A ingestão adequada AI (Adequate intake) para homens e mulheres de 19 a 50 anos é de $35\mu\text{g.d}^{-1}$ e $25\mu\text{g.d}^{-1}$, respectivamente (NAS, 2000a).

3.7. Ferro

O ferro é o elemento telúrico mais abundante, compondo 30% da massa total do planeta. Constitui 80% do núcleo e é o quarto elemento mais abundante da crosta terrestre depois do oxigênio, silício e o alumínio. Ao lado do alumínio, é o elemento metálico mais importante no ambiente terrestre. Somente uma pequena parte encontra-se no estado livre, de origem meteorítica, sendo a maior parte combinada com os elementos oxigênio, silício ou enxofre (LIMA & PEDROZO, 2001).

Depósitos de minérios de ferro foram formados por diferentes processos ao longo do tempo: desgaste de rochas pela ação de agentes atmosféricos, sedimentação, processos hidrotérmicos e químicos. Esses depósitos contêm entre 25 a 68% de ferro (KROSCWITZ, 1995).

O ferro e seus compostos orgânicos e inorgânicos são largamente usados na indústria: na fabricação de aço e de produtos de ferro, na indústria eletrônica, nas baterias de Ni-Fe, na estamperia de tecidos, como pigmentos de tintas e plásticos, para dar polimento em vidros e metais preciosos, nos sistemas de purificação de água, catalisadores, etc (OLSZEWER, 1998).

Recentemente, sua gama de aplicações ampliou-se, já que o ferro de valência zero tem atraído grande interesse como ferramenta de remediação ambiental devido à sua eficiência na degradação de compostos recalcitrantes, facilidade de obtenção, baixo custo e compatibilidade ambiental não é um elemento tóxico (PEREIRA & FREIRE, 2005).

O ferro é vital para todos os organismos vivos pela sua participação em múltiplos processos metabólicos essenciais, incluindo o transporte de oxigênio, síntese de DNA e transporte de elétrons.

O conteúdo total de ferro no organismo varia de 800 a 1040mmol (45-60mg.kg⁻¹) de peso corporal do homem e de 630-730mmol (35-41mg.kg⁻¹) de peso corporal da mulher. Homens possuem reservas de ferro maiores (cerca de 50% das reservas funcionais do organismo) que as das mulheres (de quase nada até 16% das reservas funcionais). Portanto, mulheres correm maior risco de deficiência (COZZOLINO, 2005).

A deficiência de ferro é o distúrbio nutricional mais prevalente no mundo inteiro e afeta mais de um bilhão de pessoas, principalmente mulheres em idade fértil e pré-escolares das áreas tropicais e subtropicais (GILLESPIE *et al.*, 1991). A anemia é o

resultado de uma insuficiência de hemoglobina na circulação, provocando diminuição da habilidade de transporte de oxigênio para os tecidos. Entre as causas da anemia, a principal é a deficiência em ferro, que pode ocorrer tanto pela falta de ingestão quanto pelo aumento das perdas.

A maior parte do ferro de origem animal é heme, retirado da hemoglobina, sua absorção é cerca de 20% melhor que o ferro não heme (fontes vegetais). Portanto as carnes são as melhores fontes deste elemento. O ferro presente nos crustáceos tem uma boa disponibilidade, por ser ferro heme (para 100g de camarão temos 2,3mg de ferro). Para os mexilhões em 100g de mexilhão cru temos 3,5mg de ferro (PORTO & OLIVEIRA, 2006).

O nível de ingestão dietético diário médio recomendado RDA para adultos homens e mulheres com idade de 19 a 50 anos é de 8mg e 18mg, respectivamente (NAS, 2000a).

3.8. Mercúrio

O mercúrio é amplamente encontrado na natureza devido à liberação de gás da crosta terrestre, erupções vulcânicas, evaporação dos oceanos, queima de combustível fóssil. Admite-se que as emissões naturais sejam da ordem de 25.000 a 125.000 toneladas por ano (NASCIMENTO E CHASIN, 2001).

Durante séculos, o mercúrio foi um ingrediente importante de numerosos medicamentos, como: diuréticos, bactericidas, anti-sépticos e laxantes. Os sinais de intoxicação mercurial devido a essas drogas atualmente tornaram-se raridade, pois foram substituídos por métodos mais específicos e eficazes de tratamento. Por outro lado, atualmente os casos de intoxicação mercurial devidos à poluição ambiental têm trazido grandes preocupações (CATHARINO, 2002).

As principais fontes antrópicas são: mineração (amalgamação do ouro), indústrias cerâmicas, farmacêuticas e de cosméticos, refinarias, amálgama dentário, instrumentos de medição e elétricos, baterias, manufatura de produtos têxteis, entre outros (LACERDA & MARINS, 1997). As indústrias de cloro-álcali, as de equipamento elétricos e as de pinturas à base de mercuriais são apontadas como contribuintes em cerca de 55% da produção total de mercúrio (WHO, 1989b).

A política de ocupação da Amazônia, iniciada nos anos 70, facilitou a instalação de diversas atividades capazes de liberar o mercúrio para o meio ambiente, principalmente a garimpagem do ouro, o que resultou na incorporação lenta e progressiva do mesmo em diferentes compartimentos ambientais. A Bacia do rio Tapajós, no Estado do Pará, foi responsável, em 1980, por cerca de 50% do ouro produzido no Brasil, sendo que a maior concentração de garimpos localiza-se nos municípios de Itaituba e Jacareacanga (SANTOS *et al.*, 2003).

Do ponto de vista toxicológico divide-se os compostos de mercúrio em:

- compostos inorgânicos: mercúrio elementar (Hg^0) o qual se encontra principalmente na forma de gás, o íon mercurioso (Hg_2^{2+}) forma pouco estável em sistemas naturais e o íon mercúrico (Hg^{2+}), sendo todos estes relativamente pouco absorvidos.

- compostos orgânicos: o íon mercúrico apresenta-se ligado covalentemente a um radical orgânico, sendo o metilmercúrio (CH_3Hg^+) e o dimetilmercúrio ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$) os mais comuns, ou ainda com ligantes orgânicos naturais, são bem absorvidos, bem retidos e mais fortemente ligados aos tecidos.

A principal forma de exposição do homem ao metilmercúrio dá-se através da dieta, onde este é absorvido rapidamente e eliminado lentamente se comparado às outras formas mercuriais. No entanto, o ar e a água, dependendo do nível de concentração, podem contribuir significativamente para o aumento do nível de Hg total no organismo humano.

A maior fonte de metilmercúrio na alimentação está nos peixes, frutos do mar e derivados. Para peixes comestíveis a concentração não deve exceder $0,5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de Hg total (WHO, 1990), sendo que, em média, 85% se encontram na forma de metilmercúrio (LACERDA *et al.*, 1994).

O acúmulo de mercúrio nas cadeias aquática e terrestre resulta em risco para o homem, principalmente através do consumo de peixe de águas contaminadas, particularmente os predadores, como atum, peixe espada e outros peixes de água salgada, mesmo se pescados distantes da região costeira.

A eliminação do metilmercúrio, de peixes e outros organismos aquáticos é lenta, podendo levar meses ou anos. A perda de mercúrio inorgânico é mais rápida e assim a maior parte é retida como metilmercúrio (WHO, 1989b).

A literatura apresenta vários trabalhos sobre a concentração de Hg total em peixes no Brasil, sendo que para a região amazônica os valores encontrados estão acima do valor permitido na legislação brasileira ($0,5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (BIDONE *et al.*, 1997).

3.9. Selênio

O selênio é um semi-metal, que ocorre nos minerais sulfetos polimetálicos e é obtido como um subproduto do refino do cobre. É usado em indústria eletroeletrônica, semicondutores, retificadores, células fotoelétricas, baterias solares, câmeras de TV, indústria de vidros, cerâmicas e esmaltagem, xerografia, produção de pigmentos inorgânicos, borracha (agente de vulcanização), ligas (aço inoxidável com maior maleabilidade), lubrificantes e outros derivados do petróleo (como antioxidante), inseticidas, fungicidas, catalisadores, aditivos alimentares de rações para animais, dermatologia, etc (OLSZEWER, 1998).

O selênio é encontrado muito distribuído na crosta terrestre. Na maioria das rochas e solos é encontrado em concentrações entre 0,1 e 2,0 $\mu\text{g g}^{-1}$. O selênio tem 28 isótopos, dos quais 5 são estáveis. O ^{75}Se é empregado em radiodiagnóstico como traçador na visualização de tumores malignos.

Por muitos anos o selênio (Se), na forma de selenito ou selenato, foi conhecido como tóxico para gado criado em pasto, pois essas formas estão naturalmente presentes em grande quantidade em algumas faixas de solo (LEHNINGER, 1985).

Em 1957, um papel positivo foi identificado para o selênio, pois demonstrou-se que esse elemento pode ser um protetor de danos provocados aos ratos deficientes de vitamina E contra necrose do fígado e perda capilar (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1998; OKIGAMI, 2000).

O papel bioquímico do selênio foi parcialmente esclarecido, em 1973, quando descobriu-se que a glutathione peroxidase (GSHPx-1) era uma selenoenzima e era considerada a principal forma ativa do selênio nos tecidos.

O selênio está presente no organismo como selenometionina ou glutathione peroxidase. O selênio estocado na forma de selenometionina encontra-se em músculos, eritrócitos, pâncreas, fígado, rins, estômago, cérebro, pele e mucosa gastrintestinal. Essa reserva depende da ingestão de Se na forma de selenometionina, que está disponível para ser metabolizada primeiro e independe da necessidade do organismo para o selênio. A segunda forma de estocagem de selênio no organismo é no fígado, na forma de glutathione peroxidase (GSHPx-1). A deficiência de selênio, por meio da dieta, limita a síntese de

outras selenoproteínas e esse compartimento fica sob regulação, reduzindo a concentração de mRNA e, conseqüentemente, a síntese da (GSHPx-1) (COZZOLINO, 2005).

O reconhecimento da importância do selênio no metabolismo cresceu quando foi provado que uma cardiomiopatia fatal proveniente de deficiências de selênio na dieta, afetava crianças e mulheres jovens na China, a chamada doença de Keshan. A deficiência de selênio é geralmente vista nas partes da China onde o índice de selênio no solo e, conseqüentemente, a entrada de selênio, é muito baixa. Os sinais mais comuns da deficiência de selênio vistos na doença de Keshan são um coração ampliado e um mau funcionamento do coração. Essa doença poderia ser prevenida com a suplementação de selênio (ZHANG & CHATT, 1997).

O selênio é elemento essencial ou tóxico para homens e animais, dependendo da concentração na qual é administrado. Sua deficiência é responsável por cardiomiopatias, distrofia muscular e desordens na reprodução em várias espécies animais. A concentração de selênio depende das condições do solo, alimentação e método de preparação dos alimentos. Diversos tipos de alimentos são reconhecidos como as principais fontes de selênio: frutos do mar, rim, fígado, carne bovina e aves, enquanto que as frutas e vegetais são pobres em selênio e além disso uma fração significativa do elemento é perdida durante o cozimento com água. Os grãos variam dependendo do solo em que cresceram. A castanha-do-Pará é o alimento mais rico em selênio.

Atualmente, considera-se que o selênio é um elemento traço essencial na dieta humana. Um importante sistema de defesa enzimático contra o aumento de radicais livres, envolve a enzima glutathione peroxidase entre outras. A deficiência de selênio no organismo provoca uma diminuição na atividade dessa enzima, mas com o suplemento de selênio essa atividade pode ser normalizada.

A deficiência de selênio é relativamente rara, porém pode ocorrer em pacientes com disfunções intestinais severas ou com nutrição exclusivamente parenteral, assim como em populações que dependem de alimentos cultivados em solos pobres de selênio. A deficiência de selênio ocorre quando a ingestão diária desse mineral é menor ou igual a $11\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$. O nível de ingestão dietético diário médio recomendado RDA para adultos a partir de 19 anos é de $55\mu\text{g}$ (NAS, 2000b). A ingestão de mais de $800\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ pode provocar efeitos tóxicos (selenoses).

3.10. Sódio

O sódio é um metal macio, leve e de coloração prateada. É muito abundante na natureza, encontrado no sal marinho e no mineral halita. Não é encontrado livre na natureza.

O sódio metálico é empregado em síntese orgânica como agente redutor. É também componente do cloreto de sódio (NaCl) necessário para a vida. É utilizado em ligas antiatrio com o chumbo para a produção de balas (projéteis), na produção de aditivos antidetonantes para as gasolinas juntamente com o chumbo, na fabricação de detergentes, na purificação de metais fundidos, na fabricação de células fotoelétricas, na iluminação pública, através das lâmpadas à vapor de sódio, etc.

O sódio é relativamente abundante nas estrelas e é detectado através das linhas D do seu dubleto no espectro solar, situada aproximadamente no amarelo. A crosta terrestre contém aproximadamente 2,6% de sódio, sendo o quarto elemento mais abundante e o mais comum entre os metais alcalinos.

O sódio é o íon de carga positiva, em maior teor nos líquidos extracelulares do organismo humano. Está em equilíbrio com o íon negativo cloro ou agindo com outros eletrólitos, especialmente o potássio no líquido extracelular, e age como um dos principais fatores de regulação osmótica do sangue, plasma e fluidos intercelulares e do equilíbrio ácido-básico. É essencial para a manutenção do equilíbrio hídrico no interior do organismo, na transmissão dos impulsos nervosos e relaxamento muscular. O sódio é um elemento muito difundido na natureza e o seu teor no corpo humano gira em torno de 1% do peso do indivíduo. Ingressa no organismo através dos alimentos e é deliberadamente acrescentado à dieta com o sal de cozinha (FRANCO, 1992).

Os alimentos de origem animal contêm mais sódio que os de origem vegetal. As principais fontes são: sal de cozinha, carnes bovinas e suínas, leite e derivados, batatas e grãos.

A recomendação nutricional diária de sódio para adultos é de 500 mg.d⁻¹ (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1998).

A deficiência de sódio causa fraqueza e convulsões e o excesso causa cefaléia, delírio, parada respiratória, hipertensão, eritema da pele.

3.11. Zinco

O zinco é um metal amplamente distribuído na natureza, ocorrendo nos solos e, como nutriente essencial, nas plantas em geral. Nos solos, os valores de zinco em áreas não poluídas variam de 10 a $30\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Na Baixada Santista, o zinco é encontrado nos efluentes de grande parte das indústrias, dos terminais e em áreas contaminadas da região (CETESB, 2001a).

O zinco é empregado na fabricação de ligas metálicas como o latão, além de ser utilizado na produção de telhas e calhas residenciais. O zinco é, ainda, utilizado como metal de sacrifício para preservar o ferro da corrosão em algumas estruturas, na produção de pilhas secas e como pigmento em tinta de coloração branca, indústria têxtil e da borracha, produção de vidros e cerâmicas, produção de pesticidas (carbamatos).

Sulfetos de zinco são os principais minérios na produção do metal. A dinamitação e a moagem do minério, bem como, sua fundição geram poluição atmosférica pelo zinco e outros metais mais tóxicos (Cd e Pb). O ZnO é o principal composto emitido (OLSZEWER, 1998).

O mineral zinco está presente em todas as partes do corpo e tem múltiplas funções.

Seu papel é crucial no crescimento e na divisão das células, quando é necessário na síntese de proteínas e de DNA, na atividade da insulina, no metabolismo dos ovários e testículos e no funcionamento do fígado. Como componente de muitas enzimas, está ligado ao metabolismo de proteínas, carboidratos, lipídios e energia (TRINDADE, 2005).

A alimentação é a principal fonte de zinco do organismo humano. O zinco é encontrado em diversos alimentos como nas ostras, carnes vermelhas, aves, alguns pescados, mariscos, favas e nozes.

O nível de ingestão dietético diário médio recomendado RDA para adultos homens e mulheres é de 11mg e 8mg, respectivamente (NAS, 2000a).

Casos de envenenamento podem ocorrer, seja por ingestão de alimentos, por bebidas contaminadas, de poeiras e fumaça com altos teores de zinco ou contato da pele com zinco e seus sais. Muito embora o envenenamento por zinco através da ingestão de peixes ou moluscos altamente contaminados seja improvável, pois os mesmos, devido à coloração azul-esverdeada produzida, são rejeitados para consumo, há o risco potencial e as doses excessivas desse metal podem causar problemas pulmonares, febre, calafrios,

gastroenterites, sonolência, náusea, desidratação e descoordenação muscular (ROCHA *et al.*, 1985). A deficiência em humanos pode resultar em consequências sérias para a saúde, incluindo crescimento retardado, anorexia, dermatite, depressão entre outros sintomas.

CAPÍTULO 4

4. ORGANISMO DE ESTUDO - MEXILHÃO *Perna perna* (LINNAEUS, 1758)

A classe Bivalvia, também chamada de Pelecypoda ou Lamellibranchia, é formada por moluscos conhecidos por bivalves e inclui formas tão populares como as ostras, mexilhões, vieiras e outros mariscos. Todos os bivalves possuem uma concha com duas valvas dorsalmente articuladas que envolvem completamente o corpo (BARNES, 1984).

O organismo utilizado neste trabalho foi o mexilhão da espécie *Perna perna* que é um molusco bivalve com a seguinte classificação sistemática:

Classe Bivalvia Linnaeus, 1758

Ordem Mytiloida Férrussac, 1822

Família Mytilidae Rafinesque, 1815

Gênero *Perna* Retzius, 1788

Espécie *Perna perna* (Linnaeus, 1758)



Figura 1 – Foto da espécie *Perna perna* – Visão externa e interna

Esta espécie não possui o músculo adutor posterior, presente nos demais mitilídeos, e as valvas apresentam linhas de crescimento bem definidas (MAGALHÃES, 1985).

Nos mexilhões, os sexos são separados e os machos podem ser distinguidos das fêmeas, internamente, quando estão sexualmente maduros, pela coloração das gônadas. Nos machos, estas são de cor branca leitosa enquanto que para as fêmeas são alaranjadas. Nesta espécie raramente ocorre hermafroditismo, sua fecundação ocorre livremente na água. Na região sudeste o ciclo sexual é praticamente contínuo durante todo o ano, sendo que no outono e primavera o período de reprodução encontra-se mais acentuado (LUNETTA, 1969).

A figura 2 ilustra o sexo dos mexilhões *Perna perna*.



Figura 2 – Foto do *Perna perna* macho e fêmea

Os mexilhões são organismos filtradores por excelência. Estes organismos alimentam-se, por filtração, de partículas suspensas na água e de plâncton, principalmente fitoplâncton, que é capturado através das brânquias (BARNES, 1984). As brânquias são formadas por dois pares paralelos de lâminas, compostas por estruturas filamentosas ciliadas, que se estendem da região anterior a partir da boca até a região posterior do corpo. Segundo o CEMAR, (2006), Centro Experimental de Maricultura, os mexilhões apresentam taxas de filtração elevadas, sendo que um indivíduo adulto pode filtrar até 100 litros de água por dia.



Figura 3 – Foto das brânquias do *Perna perna*

Esta espécie é comumente encontrada em todo o litoral brasileiro, e também na costa da Venezuela, Uruguai, Argentina e África do Sul (RIOS, 1984). Este bivalve se constitui em grande fonte de alimento, sendo cultivado em grande escala visando à comercialização.

O *Perna perna* é conhecido popularmente como marisco preto, marisco, marisco-das-pedras, ostra-de-pobre e mexilhão.

O mexilhão *Perna perna* é encontrado fixo às rochas na região entre marés, em áreas de alto hidrodinamismo, formando densos bancos naturais. Essa fixação é feita através do “bisso”. Os filamentos do bisso são secretados por um conjunto de glândulas localizadas no interior do pé do animal. Trata-se de uma substância protéica que, a medida que é secretada se polimeriza com a própria água do mar. O bisso fixa os mexilhões ao substrato e permite a permanência do animal mesmo em presença de fortes ondas.

Devido a seus hábitos sedentários, ao fato de serem filtradores e sua habilidade de bioconcentrar os poluentes, mexilhões e outros bivalves vêm sendo empregados em estudos de avaliação da qualidade ambiental de áreas costeiras IMW, (1993), sendo muitas vezes designados como “organismos – sentinela”. Esta capacidade vem sendo utilizada pelos pesquisadores, caso o Mussel Watch Programme, iniciado em 1976 nos Estados Unidos, citado anteriormente.

4.1. Cultivo de Mexilhões

A maricultura, cultivo de organismos marinhos, é uma atividade que vem apresentando um alto crescimento nos últimos anos, em consequência do aumento populacional e a crescente demanda por proteínas de origem animal. Devido a isso os organismos marinhos vêm sendo empregados, cada vez mais, como fonte potencial de fornecimento de alimentos. Esta atividade surgiu inicialmente como uma alternativa de complementação de renda para as comunidades pesqueiras, transformando-se rapidamente em um novo ciclo econômico. A maricultura no Brasil está representada, basicamente, pelo cultivo de crustáceos e moluscos. A região Sul é responsável por cerca de 50% da produção nacional, sendo o Estado de Santa Catarina com maior produção, cerca de 20% da produção total EMBRAPA, (2002), onde se destaca principalmente o cultivo de moluscos marinhos, que encontra-se em processo de expansão.

Dentre as espécies marinhas, os moluscos bivalves, conhecidos como mexilhões, destacam-se como uma importante fonte de alimentos, cujos cultivos apresentam-se como de grande interesse econômico.

No Brasil, a criação de moluscos surgiu na década de 1970 e os primeiros cultivos comerciais foram implantados na década de 1980, mas foi somente na década de 1990, na região Sul do país, que a atividade despontou como agronegócio (FAGUNDES *et al.*, 2004a). O Estado de Santa Catarina destaca-se como um dos maiores produtores nacionais de mexilhões cultivados, tendo a safra obtida em 1999 chegado a um patamar de 9.460 toneladas, ROCZANSKI *et al.*, (2000). De acordo com a EPAGRI, (2006) - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A., a produção catarinense de mexilhões nesse estado, no ano de 2005, foi da ordem de 12.234 toneladas, representando um crescimento de 24,8% em relação a 2004. Nesse Estado, a introdução dessa atividade produziu alterações sócio-econômicas importantes para as famílias que se dedicam a essa atividade, permitindo assim que os pescadores artesanais permanecessem em suas comunidades pesqueiras, não perdendo assim seu espaço de origem.

Apesar de todas as vantagens sócio-econômicas, as práticas intensivas de maricultura no Estado de Santa Catarina não estão isentas de riscos. Possíveis impactos destrutivos do ponto de vista sócio-ambiental incluem, entre outros, distúrbios das comunidades naturais de fitoplâncton, deposição de matéria orgânica no fundo das áreas de cultivo,

contaminação genética de estoques selvagens, introdução de espécies que competem com as já existentes e disseminam doenças nos estoques naturais e, finalmente, ameaças à saúde pública pelo fato dos cultivos serem realizados na ausência de um sistema realmente eficaz de monitoramento da qualidade das águas e dos produtos cultivados (CURTIUS *et al.*, 2003).

O centro de produção de bivalves, no Brasil, está localizado nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina, devido às características ambientais propícias para o desenvolvimento desses organismos, os quais necessitam de águas de temperaturas amenas e ricas em nutrientes (BEIRÃO *et al.*, 2000). A espécie cultivada, *Perna perna*, é considerada o maior mitilídio brasileiro, pertencente à família Mytiliidae, e devido a esse fato o cultivo de mexilhões passou a ser denominado mitilicultura.

No Estado de São Paulo, a produção de mexilhões é praticada comercialmente desde 1983, sendo o principal objetivo da mitilicultura proporcionar uma alternativa de renda visando conter o empobrecimento das comunidades de pescadores artesanais, que sofrem com o declínio dos estoques pesqueiros, principalmente em decorrência da poluição e da pesca predatória. Essa atividade é incentivada pelo Instituto de Pesca (IP), Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) e da Coordenadoria da Assistência Técnica Integral (CATI) por meio de seus projetos de transferência de tecnologia e educação ambiental (FAGUNDES *et al.*, 2004a).

O litoral norte do Estado de São Paulo compreende uma área de 1943 km² e quatro municípios: São Sebastião, Ilhabela, Caraguatatuba e Ubatuba. Esses municípios possuem 184 praias, a maioria com uma extensão média de 1km, cobrindo uma extensão de 128km (LAMPARELLI, 1999; CETESB, 2002). Trata-se de um local apropriado para a prática da maricultura, pois encontra-se próximo aos principais centros de consumidores, São Paulo e Rio de Janeiro, além de ser uma região que apresenta uma costa bastante recortada, com a formação de pequenas baías abrigadas (MARQUES, 1998).

De acordo com GELLI *et al.*, (2002) no litoral norte existem 77 famílias cadastradas na atividade de mitilicultura (cultivo de mexilhões *Perna perna*), onde 42 famílias situam-se em Caraguatatuba distribuindo-se em 23 praias ao longo do litoral. Os produtores vêm utilizando exclusivamente o método de sistema flutuante do tipo espinhel ou “*long-line*” para a criação em escala comercial desse mexilhão.

Esse tipo de cultivo suspenso em “*long-line*” é o que se adapta melhor a regiões litorâneas sujeitas à ação de ventos e ondas, sendo normalmente implementado em áreas

com profundidade superior a 2m. Neste método, são usadas estruturas flutuantes de diferentes materiais, como bóias de plástico, isopor, entre outros. Essas estruturas servem para suspender uma corda mestra onde são amarradas as redes de mexilhões. O conjunto formado é fixado ao fundo por âncoras de diferentes materiais e tamanhos amarradas nas duas extremidades.

Este sistema permite manter os mexilhões imersos continuamente e próximos ao primeiro metro da coluna de água, onde a produtividade é sensivelmente superior, e mantém o produto afastado do fundo evitando a ação de predadores. A figura 4 ilustra o sistema de cultivo suspenso “*long-line*”.



Fonte: CEMAR, 2006

Figura 4 - Foto dos mexilhões em cultivo suspenso

Para a criação de mexilhões primeiramente é necessária a obtenção de sementes, que são mexilhões jovens (de 1 a 4cm de comprimento). Essas sementes são obtidas através de bancos naturais, por raspagem dos costões rochosos, que deve ser feita em faixas alternadas, para permitir que uma população de jovens permaneça nesses bancos e venha a se constituir nos futuros reprodutores, assegurando a continuidade da população.



Figura 5 - Foto de mexilhões em costão rochoso

Devido ao alto prejuízo ambiental e social causado por esta ação e pelo alto custo da produção de sementes em laboratório, que aumentaria muito o preço do mexilhão, é aconselhável obtê-las pela captura de larvas no seu ambiente natural em estruturas próprias para a técnica, denominadas “coletores de larvas”. Estas estruturas são flutuantes e podem ser de diferentes materiais, como o bambu, este ficando imerso na superfície da coluna d’água. Estes coletores devem permanecer em locais de maior probabilidade de ocorrência de larvas, como bancos naturais e parques de cultivo.

Após a obtenção das sementes temos o processo da semeadura, que no Litoral Norte de São Paulo é realizada com base no sistema francês, com alta eficiência e facilidade de convecção. Este processo consiste em introduzir as sementes em uma rede de algodão que é envolvida por uma segunda rede de nylon e ao centro é introduzida uma corda de nylon, afim de fixar a rede de mexilhões ao sistema de cultivo. Após alguns dias as sementes se fixam à corda central e a rede de algodão se rompe, temos então a corda de mexilhões, que permanece no cultivo para o processo de engorda até os organismos atingirem um tamanho comercial. Esse período pode variar de 6 a 9 meses, conforme o local de produção (GALVÃO, 2004).



Fonte: CEMAR, 2006

Figura 6 - Foto do modelo francês de confecção de rede de mexilhões

Para a colheita dos organismos adultos prontos para a comercialização não há um tamanho mínimo ou máximo do mexilhão e sim a relação entre o peso da carne e o peso total do indivíduo incluindo a concha. Para essa espécie, na fase próxima à desova as gônadas representam a maior parte do organismo, indicando assim a época exata da colheita. Após a desova, todo o material gâmico é eliminado e o organismo perde peso e qualidade, portanto a colheita nessa época deve ser evitada. Por fim, para a comercialização dos mexilhões esses passam pelos processos de depuração (eliminação de toxinas, lama ou silte, no aparelho digestivo, através de imersão em água) e processamento (lavagem para a retirada de organismos que ficam impregnados nas conchas) seguindo para o comércio, diretamente para o consumidor ou unidades de beneficiamento (FETT, 2006).

Em 2001, mais da metade das fazendas de mexilhão do Estado estavam instaladas em Caraguatatuba (34,7%) e em Ubatuba (32,7%). As demais estavam espalhadas por Ilhabela, São Sebastião e Cananéia (FAGUNDES *et al.*, 2004b).

Atualmente a produção de mexilhões no Litoral Norte de São Paulo está em torno de 100t/ano, sendo Ubatuba o local com maior potencial de produção (SALÁN, 2005).

CAPÍTULO 5

5. ÁREA DE ESTUDO

Nossa área de estudo compreende a região do litoral paulista que se estende da Baixada Santista a São Sebastião, incluindo o Canal de São Sebastião e Ilhabela (23°58' - 23°53'S e 46°30' - 45°19'W).

Nesta região as relações climáticas predominantes determinam um ambiente de característica quente e úmida, SILVEIRA, (1952); MONTEIRO, (1973), cuja temperatura média anual é superior a 20°C e a pluviosidade anual é de 2000 a 2500mm (SANTOS, 1965; MONTEIRO, 1973; SANT'ANNA, 1990).

A figura 7 ilustra a área de estudo no litoral paulista.

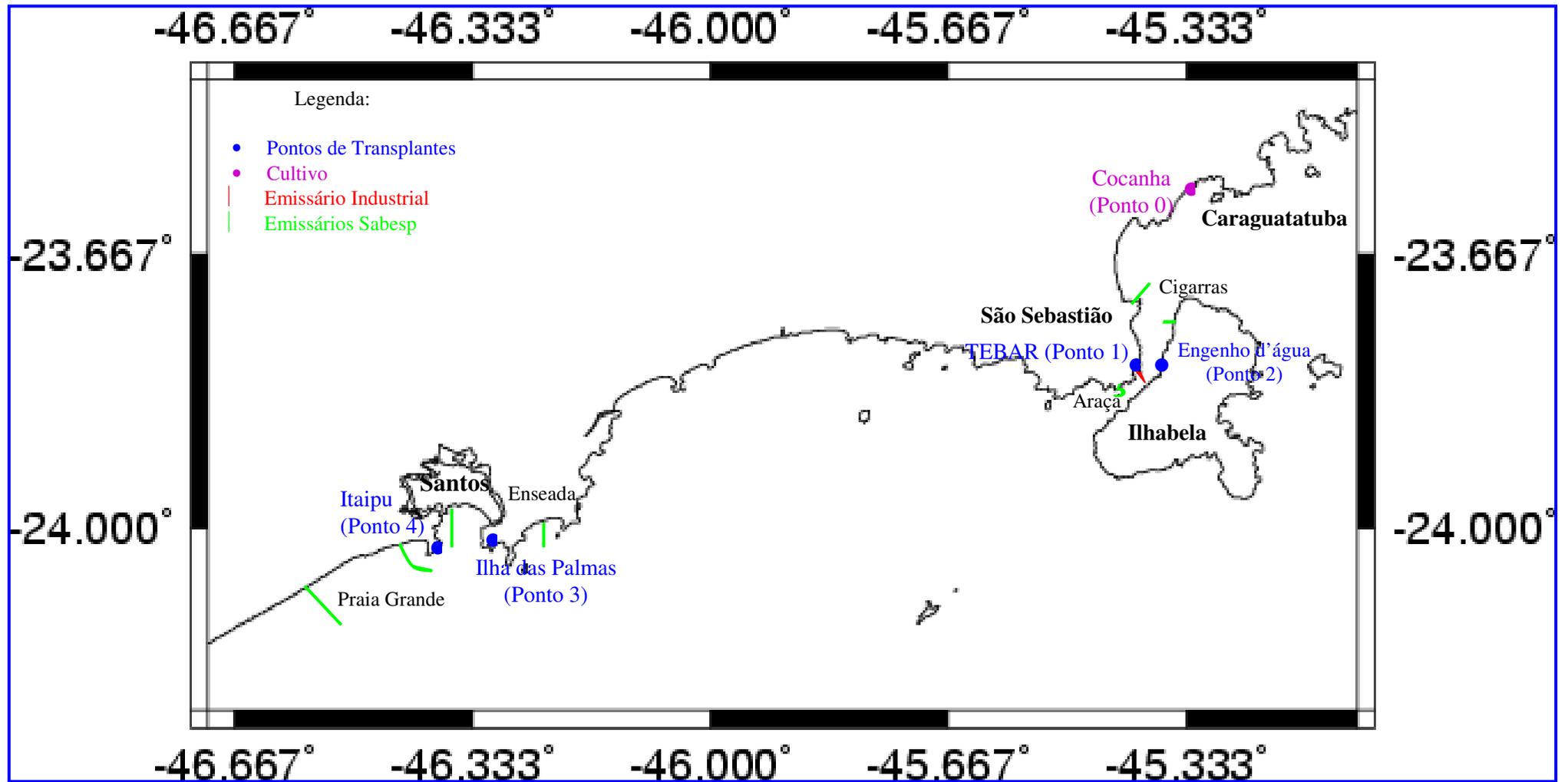


Figura 7 - Mapa dos pontos de transplantes, cultivo de mexilhões e emissários submarinos

5.1. Caraguatatuba – Praia da Cocanha

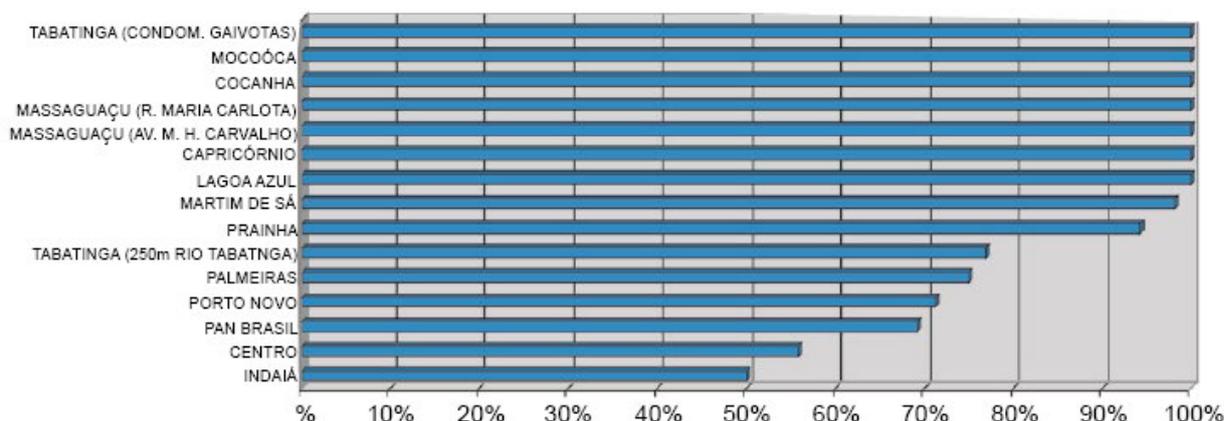
Caraguatatuba está localizada entre o Oceano Atlântico e a Serra do Mar, onde nascem os principais rios que deságuam nas praias e onde se situa o Parque Estadual da Serra do Mar.

O município não apresenta nenhum porto ou atracadouro, apenas uma área de fundeio em águas semiabrigadas, no local denominado Camaroeiro, utilizado por pequenas embarcações de pesca. No Rio Juqueriquerê existem vários atracadouros de barcos de pesca e alguns pontos de comercialização de pescado, além de galpões para abrigo de embarcações de recreio (CETESB, 2001b).

Ao norte de Caraguatatuba temos a Praia da Cocanha onde deságua o rio Cocanha. Esta praia fica entre Massaguaçu e Mococa e em frente à qual estão as ilhas do Tamanduá e o ilhote da Cocanha.

Com águas rasas, calmas e cristalinas é ideal para o banho de mar. Ocupada por muitas casas de veraneio, possui boa infra-estrutura de serviços, como restaurantes, bares e quiosques.

Em 2005 a Cetesb avaliou a qualidade das águas litorâneas no estado de São Paulo, onde em Caraguatatuba 13 praias foram avaliadas e a Praia da Cocanha foi classificada como BOA, permanecendo *própria* durante todo o ano. A Cetesb vem avaliando a qualidade das águas litorâneas desde 1996. A figura 8 mostra o gráfico da classificação das praias de acordo com o período de tempo que ficaram próprias. Podemos verificar que a Praia da Cocanha destaca-se como sendo uma praia de boa qualidade de suas águas (CETESB, 2005).



Fonte: CETESB, 2005

Figura 8 - Gráfico da classificação das praias de acordo com o período de tempo que ficaram "próprias"

Na Praia da Cocanha encontra-se uma fazenda de mexilhão, com cerca de 2 mil metros quadrados. Os produtores de mexilhão, com apoio da Secretaria de Turismo, promovem passeios de barco até o local onde eles são cultivados, a cerca de 500 metros da praia. Cerca de quinze pescadores cultivam o mexilhão em uma espécie de fazenda marinha, situada no ilhote da Cocanha (LITORAL VIRTUAL, 2007).

5.2. São Sebastião e Ilhabela

No litoral norte é objeto de interesse, neste estudo, a região de São Sebastião que compreende o continente onde está localizada a cidade de São Sebastião e a Ilha de São Sebastião, conhecida como Ilhabela. O continente e a ilha estão separados pelo Canal de São Sebastião com cerca de 25km de extensão e possuindo duas bocas, uma ao sul e outra ao norte com larguras em torno de 7 a 6km respectivamente (FURTADO *et al.*, 1987).

Esta área é centro de intensa atividade turística e, na margem continental está localizado o maior e mais importante terminal petrolífero brasileiro, Dutos e Terminais Centro Sul PETROBRÁS (DTCS), TEBAR, operando desde 1968, FURTADO *et al.*,

(1987), e o Porto de São Sebastião, em atividade desde meados do século XIX (SCHAEFFER-NOVELLI, 1990). Este terminal é responsável por derramamentos crônicos de petróleo, e, por vezes, por acidentes, impactando o meio ambiente (ZANARDI *et al.*, 1999).

O Terminal Marítimo Almirante Barroso (TEBAR), da Petrobrás, situado no canal de São Sebastião ao norte do porto, é o maior terminal especializado na carga e descarga de granéis líquidos, petróleos e derivados, da América Latina (MARINHA DO BRASIL, 2006).

A figura 9 ilustra o Píer do Terminal Marítimo Almirante Barroso da Petrobrás.



Fonte: MARINHA DO BRASIL, 2006.

Figura 9 - Foto do Terminal Marítimo Almirante Barroso da Petrobrás e seu Píer.

Na época da coleta houve um vazamento onde a CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental) aplicou uma multa ao TEBAR (Terminal Marítimo Almirante Barroso), em São Sebastião, pelo vazamento de óleo ocorrido durante uma operação de descarga no terminal. Segundo a CETESB não foi possível constatar a quantidade de óleo derramada no mar e nenhuma praia foi atingida pelo óleo. O terminal informou que o vazamento ocorreu durante a descarga de petróleo na linha 42 do píer norte. Um outro acidente com óleo registrado em São Sebastião ocorreu em fevereiro de

2004, quando cerca de 240 mil litros de petróleo vazaram de um duto do TEBAR e poluíram 8km do rio Guaecá (LITORAL VIRTUAL, 2005).

Ilhabela é um município do estado de São Paulo. O município ocupa a Ilha de São Sebastião, a principal ilha, e suas vizinhas, Ilhas de Búzios, Ilha da Vitória, e mais os ilhotes: das Cabras, Serraria, Castelhanos, Lagoa, Figueira e das Enchovas, sendo as três primeiras habitadas. A ilha fica na frente dos municípios de São Sebastião a noroeste e Caraguatatuba a norte. É a segunda maior ilha marítima do Brasil, com 44 praias. A população estimada em 2005 é de aproximadamente 29.000 habitantes. A ilha principal tem um relevo bem acentuado, com vários pontos com mais de mil metros de altura. Essas formações com grande altitude fazem uma barreira para os ventos carregados que vêm do mar, e por isso o clima da região é tropical úmido, com grandes tendências para chuva.

A leste e sul suas praias defrontam diretamente com o Oceano Atlântico. O lado leste da Ilha de São Sebastião possui estradas precárias dificultando o acesso, sendo que muitos locais só podem ser atingidos através de embarcação. Esta característica, aliada a fisionomia geomorfológica e hidrodinâmica do local fazem desta uma região bastante preservada e livre da poluição observada no Canal de São Sebastião.

5.3. Baixada Santista

A Baixada Santista é a área central do litoral paulista compreendida entre Bertioga, a noroeste, Monganguá, a sudeste, e Santos, estendendo-se do litoral até a escarpa da serra do Mar, para o interior (BOLDRINI, 1987).

Na Baixada Santista a intensa ocupação do solo, o desenvolvimento industrial de Cubatão, onde encontram-se o grande complexo industrial com indústrias químicas, petroquímicas e de fertilizantes, além de uma grande siderúrgica (COSIPA) bem como a presença do Porto de Santos, o maior do Brasil, trouxeram uma série de problemas alterando a qualidade das águas, pois são as principais fontes de contaminação do sistema local (TOMMASI, 1979).

No Porto de Santos, diariamente inúmeros navios carregam e descarregam produtos oriundos de vários países, como matérias-primas e produtos industrializados. Muitos desses produtos são armazenados em tanques e comercializados de acordo com a demanda.

Essa atividade de tancagem, juntamente com as demais atividades marítimas realizadas no porto, tornam os acidentes ambientais comuns (derramamento de produtos químicos, por exemplo).

O lançamento de esgotos municipais produzidos por Santos, São Vicente, Vicente de Carvalho e Guarujá e os inúmeros efluentes industriais lançados na baía e no estuário são responsáveis por fazerem deste, um dos locais mais poluídos do mundo. A partir da década de 70, com a criação da Cetesb, iniciou-se um rígido monitoramento nessas regiões sobre a dispersão de poluentes, tanto de natureza orgânica como inorgânica.

Em 2001 a Cetesb avaliou que a contaminação de sedimentos, organismos aquáticos e água, estão relacionados com as fontes potenciais de poluentes existentes no local. De acordo com os dados essa região ainda continua impactada por diversos metais e compostos químicos.

A Baía de Santos está situada no lado sul da Ilha de São Vicente, recebendo todas as águas do estuário e dos efluentes de esgotos municipais produzidos por Santos, São Vicente, Vicente de Carvalho e Guarujá. Para TOMMASI, (1982) os níveis de Cd, Pb, Cu, Hg e Zn apresentaram-se elevados para os compartimentos de água e sedimento de fundo, indicando poluição por metais.

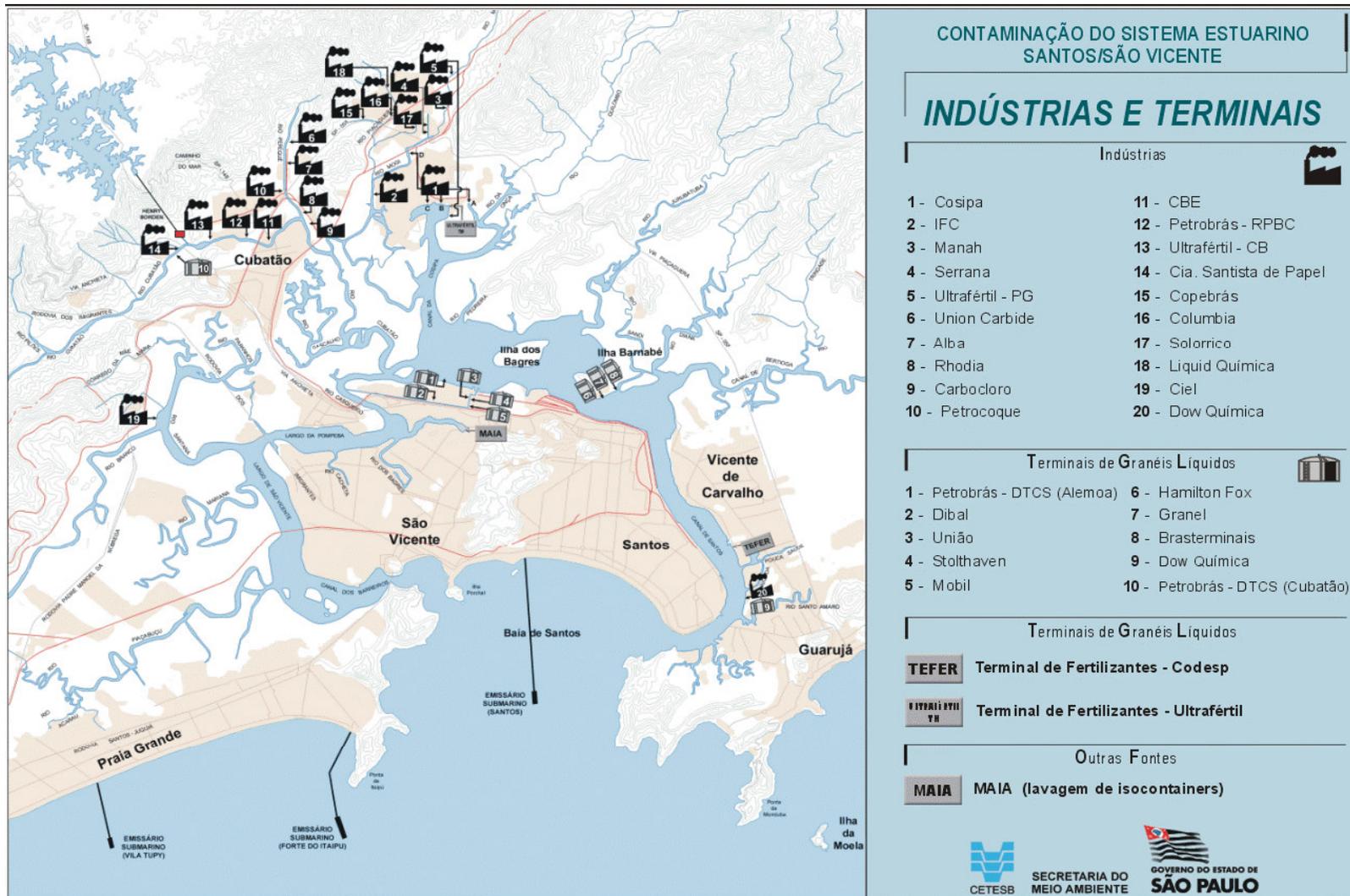
Dentro da Baía existe um regime de circulação de águas que é governada predominantemente pelo regime de marés (enchente e vazante). Ao leste da Baía temos a região de Ilha das Palmas que se encontra próximo à desembocadura do Canal do estuário de Santos. Essa região pode sofrer uma possível contaminação por influência do emissário da Sabesp, mas sua principal fonte de contaminação é a água estuarina (efluentes municipais e industriais) trazida em condições de maré vazante. Já no lado oeste da Baía temos a região da Ponta de Itaipu que segue o mesmo padrão de possível contaminação através do canal do estuário de São Vicente, também em condições de maré vazante.

As figuras 10 e 11 ilustram o Porto de Santos e o mapa da localização das indústrias e terminais da Baixada Santista em 1999.



Fonte: MARINHA DO BRASIL, 2006

Figura 10 - Foto do Porto de Santos



Fonte: CETESB, 2001

Figura 11 - Mapa da localização das indústrias e terminais na Baixada Santista em 1999.

CAPÍTULO 6

6 . PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Delineamento

Para a utilização em nossos experimentos é necessário que tenhamos animais sadios, provenientes de locais livres de qualquer tipo de poluição. Os organismos utilizados foram adquiridos no cultivo da Praia da Cocanha (cultivo do Alemão) em Caraguatatuba em colaboração com o proprietário do cultivo, Sr. Edemilsohn Ranulfo.



Figura 12 - Foto da área de cultivo da Praia da Cocanha – Caraguatatuba
Fazenda de mexilhões

Os organismos foram transplantedos para vários pontos ao longo do litoral paulista, onde foram utilizados como “organismos sentinelas” (BAINY *et al.*, 2000).

Os transplantes foram iniciados no outono de 2005 e tiveram término no verão de 2006.

Os locais escolhidos são pontos onde os organismos ficam sujeitos a situações de estresse, devido à proximidade de aporte de efluentes industriais, efluentes municipais ou atividades ligadas à indústria do petróleo. Estes pontos são:

0. Praia da Cocanha - Controle
1. Pier Sul da PETROBRÁS (TEBAR) - São Sebastião
2. Praia do engenho d' água - São Sebastião - Ilhabela
3. Ilha das Palmas - Santos
4. Ponta de Itaipu - Santos

Atualmente existem 7 emissários submarinos em operação na costa paulista, implantados e operados pela Sabesp, e que estão distribuídos em cinco municípios:

- 1 – Santos. Entrou em operação em 1979 e está localizado na praia José Menino.
- 2 – Guarujá. Praia da Enseada, entrou em operação em 1998.
- 3 - Praia Grande. Subsistemas I e II- operação em desde 1996. O subsistema I está localizado próximo a Itaipu.
- 4 - São Sebastião. Praia das Cigarras, em operação desde 1985 e Baía do Araçá, no canal de São Sebastião em operação desde 1990. Emissário submarino de efluentes industriais, TEBAR, instalado no Canal de São Sebastião e operado pela Petrobrás desde de 1968 (CETESB, 2004).
- 5 – Ilhabela. Operação desde 1997, situado próximo à Praia do Engenho d' água.

6.2. Coleta dos Organismos e Montagem do Experimento

A montagem do experimento, aquisição dos organismos biomonitores (organismo sentinela) mexilhões e coleta dos mesmos foram realizados em colaboração com o Instituto Oceanográfico da USP - IOUSP junto ao Laboratório de Ecotoxicologia, coordenado pela Prof. Dra. Eduinetty Ceci Pereira Moreira de Sousa. O IOUSP possui laboratório em

Ubatuba, na praia do Lamberto, onde foram realizados os trabalhos iniciais de tratamento das amostras.

Para os experimentos foi adquirida, no cultivo do Alemão, Praia da Cocanha, em janeiro de 2005, uma corda contendo cerca de 1000 animais, que foi utilizada para análises químicas e bioquímicas preliminares, para verificar as condições dos mexilhões deste cultivo. Os resultados das análises preliminares no cultivo de mexilhões estão apresentados no capítulo 7. Após essas análises os transplantes foram iniciados.

No início do outono de 2005 foram adquiridas, no cultivo do Alemão, mais cinco cordas que foram revestidas por redes de pesca para evitar o acúmulo de cracas, entre outros organismos, facilitando assim a preparação posterior das amostras.

As figuras 16 e 17 ilustram as preparações da corda para o transplante.



Figura 13 - Foto da corda com mexilhões, adquirida no cultivo da Praia da Cocanha



Figura 14 - Foto da corda de mexilhões revestida com rede de pesca

Após o revestimento das cordas estas foram transplantadas para os quatro pontos de estudo. A quinta corda foi deixada no próprio cultivo, visando assim a obtenção de um controle de cada estação.

A cada 3 meses (uma estação do ano), as cinco cordas contendo os organismos, foram retiradas dos locais estabelecidos (pontos 1, 2, 3 e 4) juntamente com os organismos do cultivo (controle). Essas cordas foram transportadas para o laboratório da Base Norte do Instituto Oceanográfico para posterior preparação das amostras.

Esse procedimento foi repetido durante todo o ano, realizando-se assim um estudo nas quatro estações do ano, objetivando avaliar a influência sazonal na bioacumulação dos metais.

As figuras 15 e 16 ilustram o transplante dos mexilhões em alguns pontos de estudo.



Figura 15 – Foto do transplante dos mexilhões - Ponto 1
Pier Sul – TEBAR - Petrobrás



Figura 16 - Foto do transplante dos mexilhões - Ponto 2
Praia Engenho d'água - Ilhabela

Após a retirada dos mexilhões transplantados dos pontos de estudo esses foram transportados para o laboratório da Base Norte do IOUSP em Ubatuba onde foram acondicionados em tanques contendo água do mar e aeração. As cordas com os mexilhões

permaneceram por aproximadamente 3h nos tanques para a recuperação dos organismos, visto que durante a retirada destes dos pontos de estudo, eles permaneceram fora d'água por aproximadamente 6 horas.



Figura 17 - Foto dos organismos em tanque com água do mar para recuperação

Para cada coleta e em cada amostra foram realizadas análises químicas no laboratório do IPEN e análises bioquímicas no laboratório do IOUSP.

6.3. Pré-Tratamento das Amostras

Após o período de recuperação dos organismos cada corda foi retirada do tanque e levada para o laboratório para um pré-tratamento para as análises químicas.



Figura 18 - Foto dos mexilhões para pré-tratamento

Foram selecionados 90 organismos de tamanhos diferentes para cada corda de cada ponto de estudo (30 pequenos, 30 médios e 30 grandes).

Em seguida foram retirados, com uma faca de titânio, algas e outros organismos que ficam impregnados nas conchas. Após a remoção desses organismos cada mexilhão foi lavado com água do mar e foi medido, com um paquímetro, o comprimento e largura da concha. Após as medidas cada organismo foi retirado das respectivas conchas e foram observadas também as condições dos organismos tais como: estágio de maturação (desova) e sedimentos ou material particulado dentro das conchas.



Figura 19 - Foto do grupo de 90 organismos



Figura 20 - Foto da retirada da parte mole do organismo da concha

Após a retirada dos organismos das conchas estes foram triturados e homogeneizados em um liquidificador com facas de titânio.



Figura 21 - Fotos da homogeneização em liquidificador com facas de titânio

Ao término da homogeneização as amostras foram estocadas em recipientes plástico, pesadas e congeladas.



Figura 22 - Foto da pesagem das amostras homogeneizadas

As amostras foram transportadas em caixas térmicas com gelo para posterior liofilização, no laboratório de Análise por Ativação Neutrônica – LAN do IPEN.

6.4. Preparação das Amostras

As amostras foram preparadas no laboratório de Análise por Ativação Neutrônica – LAN do IPEN e passaram pelas seguintes etapas antes das análises químicas:

6.4.1. Liofilização

Para as análises pelo método de ativação neutrônica, é necessário que as amostras estejam na forma mais seca possível, para que não ocorram reações de radiólise da água durante a irradiação. Um dos métodos de secagem mais usados para materiais biológicos analisados por análise por ativação com nêutrons instrumental é a liofilização, pois para muitos elementos o risco de perdas por volatilização é menor.

Para a liofilização das amostras foi utilizado o liofilizador de marca Thermo Electron Corporation, modelo Modulyo D-115, do Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica, que é adequado para o manuseio de amostras pequenas.

As amostras foram liofilizadas separadamente por pontos de estudo e estações do ano, com o objetivo de evitar qualquer tipo de contaminação. A liofilização foi realizada por 48h, à temperatura de -52°C e pressão de 74mbar e a seguir, estas foram pesadas novamente para verificar a porcentagem de umidade perdida na liofilização.

No caso das análises por espectrometria de absorção atômica, não é necessária a secagem das amostras. A análise pode ser realizada com a amostra fresca, visto que é necessário o ataque químico, geralmente com misturas de ácidos (HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4) ou ácidos com peróxido de hidrogênio, porém as amostras foram analisadas na forma seca, visto que a preparação das amostras para análise pelo método de análise por ativação com nêutrons instrumental é necessária.

A figura 23 ilustra a etapa de liofilização das amostras.



Figura 23 - Foto da liofilização das amostras – Liofilizador Thermo Electron Corporation, modelo Modulyo D-115

6.4.2. Moagem

Ao término da secagem por liofilização, as amostras foram trituradas no liquidificador com facas de titânio, moídas em almofariz de ágata e peneiradas em peneira de nylon de 100 mesh. Por fim as amostras foram armazenadas em frascos plásticos, etiquetadas e guardadas em freezer para posteriores análises.

A figura 24 ilustra a etapa de moagem das amostras.



Figura 24 - Foto da etapa de moagem das amostras de mexilhões, após a liofilização

6.5. Técnicas Analíticas

6.5.1. Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental -AANI

A análise por ativação com nêutrons (NAA) é uma técnica nuclear onde a medida da radioatividade induzida é obtida e posteriormente analisada após a conversão de um núcleo estável em um núcleo radioativo pela irradiação com nêutrons. É uma técnica analítica de alta sensibilidade, com boa precisão e exatidão, útil para análises multielementares quali e quantitativas dos elementos principais, elementos menores e elementos traço, em amostras dos mais variados campos de aplicação.

HEVESY & LEVI, (1936) estudando a ação dos nêutrons nas Terras Raras, publicaram o primeiro trabalho sobre este método. BOYD, (1949) sugeriu o termo “análise por ativação” e BROWN & GOLDBERG, (1949) viabilizaram o uso de um reator nuclear como fonte de alto fluxo de nêutrons, oferecendo maior sensibilidade para a maioria dos elementos. A utilização de detectores semicondutores do tipo Ge(Li) de alta resolução, a

partir da década de 60, possibilitou a detecção simultânea de muitos radionuclídeos, aumentando o campo de aplicação da análise por ativação com nêutrons em estudos envolvendo um grande número de amostras, sem a necessidade de separação radioquímica. A aplicação de procedimentos puramente instrumentais é denominada de análise por ativação com nêutrons instrumental (INAA). Esta técnica tem sido utilizada com sucesso em inúmeros experimentos realizados pelo Laboratório de Ativação Neutrônica (LAN) do IPEN/CNEN-SP (VASCONCELLOS *et al.*, 2004).

Um procedimento típico na análise por ativação com nêutrons é caracterizado por:

- Ativação, da amostra a ser analisada, via irradiação com nêutrons;
- Medição da radiação gama induzida;
- Interpretação e análise do espectro gama com relação aos radionuclídeos de interesse e suas concentrações.

A ativação com nêutrons é o primeiro estágio do processo. Cada núcleo atômico pode capturar um nêutron durante a irradiação dando início a uma reação nuclear. Imediatamente após a captura forma-se um núcleo composto, e o excesso de energia é liberado com a emissão de radiação gama (“prompt gamma rays”) e/ou partículas. O núcleo produto formado após a reação nuclear pode ser um núcleo instável. Neste caso, já durante o processo de ativação, o núcleo produto instável começa a decair buscando uma configuração de estabilidade através da emissão de radiação pelos seguintes processos: decaimento α , decaimento β^- , decaimento β^+ , captura eletrônica. Na maioria dos casos, raios X e radiação gama (“delayed gamma rays”) são também emitidos.

A reação nuclear mais comum utilizada em NAA é a reação de captura de nêutrons térmicos, ou a reação (n, γ) . Como exemplo, uma reação típica de captura de um nêutron térmico por um núcleo atômico é mostrada a seguir:



O núcleo produto ${}^{60}\text{Co}$ é radioativo e decai pela emissão de partículas β e pela emissão de radiação gama, formando por fim um núcleo estável. Por meio da energia da radiação gama de decaimento e da respectiva meia-vida, o radioisótopo formado (núcleo produto) na reação nuclear pode ser identificado, permitindo assim realizar análises

qualitativas e quantitativas do elemento contido na amostra. A reação mostrada acima é, em geral, representada de uma forma mais compacta:



A figura 25 ilustra, como exemplo, o mecanismo de uma reação nuclear do tipo (n, γ).

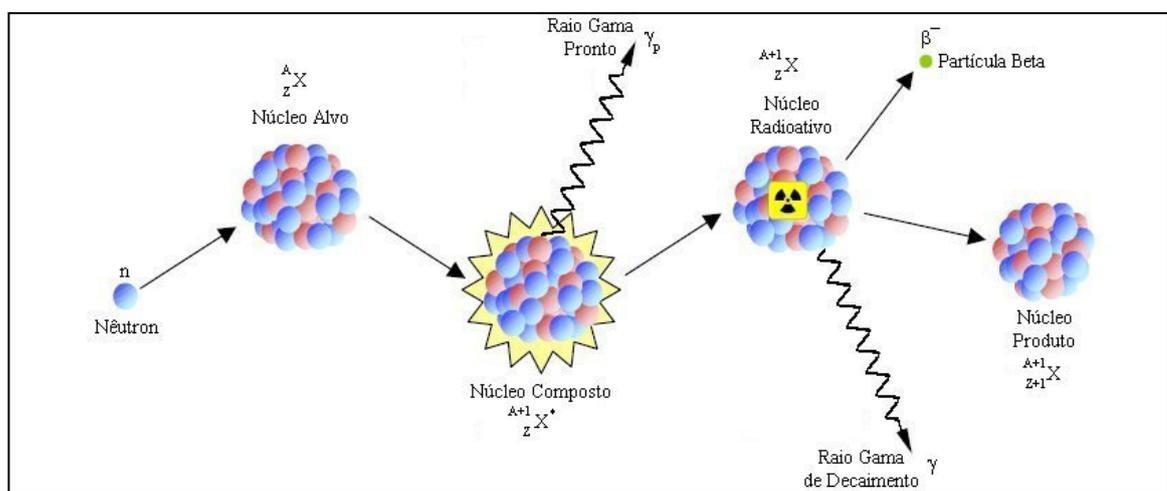


Figura 25 – Sequência de eventos do mecanismo da reação nuclear do tipo (n, γ)

A técnica NAA pode pertencer a duas categorias:

- Análise por ativação com nêutrons de raios gamas prontos (“prompt gamma rays”), na qual a medição se dá durante a irradiação. Esta técnica é conhecida por PGNAA.
- Análise por ativação com nêutrons de raios gama de decaimento (“delayed gamma rays”).

Esta última é a mais comum e, em geral, o termo NAA é empregado para este tipo de análise e será utilizado com este sentido neste texto. A PGAA é menos sensível que a NAA e tem aplicação em elementos de elevada seção de choque para captura de nêutrons, como o B, Cd, Sm e Gd; em elementos que decaem muito rapidamente para serem medidos por NAA; em elementos que produzem apenas isótopos estáveis ou para elementos com intensidades de decaimento de raios gama fracas.

A sensibilidade disponível por NAA depende dos parâmetros de irradiação (fluxo de nêutrons, tempos de irradiação e decaimento), condições de medição (tempos de medição e eficiência do detector), parâmetros nucleares dos elementos em estudo (abundância isotópica, secção de choque para nêutrons, meias vidas e abundâncias de raios gama).

Atividade induzida em um elemento alvo na NAA

A atividade de um radionuclídeo produzido em uma reação nuclear é uma medida direta da quantidade do elemento alvo presente na amostra irradiada. Com a finalidade de se obter a atividade induzida em um elemento Y após determinado tempo de irradiação, consideremos, como exemplo, a reação $X(a,b)Y$. A taxa de formação do núcleo produto Y é dada por:

$$\frac{dN_Y}{dt} = \sigma \cdot \phi \cdot N_X \quad (3)$$

onde σ é a secção de choque da reação, ϕ é o fluxo de a e N_X é o número de átomos do núcleo alvo X. Considerando que o tempo de irradiação de pequenas quantidades do elemento alvo seja curto, podemos assumir que o fluxo da partícula incidente permaneça constante em todo o volume do elemento alvo durante o período de irradiação, e que N_X permaneça constante, isto é, que o número de núcleos que sofreram transmutação na reação nuclear pode ser desprezado. Se o núcleo produto Y produzido pela reação $X(a,b)Y$ é radioativo, então a sua taxa de decaimento (λN_Y) durante o tempo de irradiação deve ser levada em consideração e a equação (3) é escrita como:

$$\frac{dN_Y}{dt} = \sigma \cdot \phi \cdot N_X - \lambda N_Y \quad (4)$$

onde λ é a constante de decaimento do núcleo produto Y.

Integrando a equação (4) desde o início da irradiação ($t = 0$) até o tempo final da irradiação ($t = t_i$), e considerando que no instante $t = 0$, $N_Y = 0$, temos:

$$N_Y = \frac{\sigma \cdot \phi \cdot N_X}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t_i}) \quad (5)$$

Usualmente, o que se determina não é a quantidade N_Y formada na irradiação, mas sim a taxa de decaimento de N_Y , conhecida por atividade (A):

$$A = -\frac{dN_Y}{dt} = \lambda N_Y \quad (6)$$

O número de átomos N_X do núcleo alvo poder ser expresso em função da sua massa m :

$$N_X = \frac{N_0}{M} \cdot I \cdot m \quad (7)$$

onde N_0 é o número de Avogadro, M é a massa atômica do elemento, I é a abundância isotópica do núcleo alvo X.

Substituindo as equações (6) e (7) na equação (5) temos que:

$$A = \frac{\sigma \cdot \phi \cdot N_0 \cdot I \cdot m}{M} (1 - e^{-\lambda t_i}) \quad (8)$$

A equação (8) mostra que a atividade produzida é diretamente proporcional à quantidade do núcleo alvo, desde que as condições de irradiação permaneçam inalteradas. Ainda, a atividade produzida e a sensibilidade da NAA aumentam com o aumento do fluxo ϕ .

Para a reação nuclear do tipo (n, γ) discutida no presente trabalho, a atividade induzida A em um elemento alvo pode ser medida experimentalmente, após um tempo de irradiação t_i , por um meio de um sistema de detecção adequado. Sendo ϵ a eficiência do sistema de detecção, a equação (8) para a reação em questão é dada por:

$$A = \frac{\varepsilon \cdot \sigma \cdot \phi \cdot N_0 \cdot I \cdot m}{M} (1 - e^{-\lambda t_i}) \quad (9)$$

onde,

A - atividade induzida após o tempo de irradiação, em contagens por segundo;

ε - eficiência do sistema de detecção;

σ - secção de choque de captura de nêutrons térmicos, em cm^2 ;

ϕ - fluxo de nêutrons térmicos incidentes no núcleo alvo, em $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$;

N_0 - número de Avogadro;

I - abundância isotópica do núcleo alvo;

m - massa do núcleo alvo, em g;

M - massa atômica do núcleo alvo;

t_i - tempo de irradiação, em segundos;

λ - é a constante de decaimento do núcleo produto, em s^{-1} , sendo $\lambda = \frac{0,693}{T_{1/2}}$.

Convém lembrar que, normalmente, a atividade induzida A em um elemento alvo não é medida experimentalmente imediatamente após o tempo de irradiação t_i , existe um intervalo de tempo t_d entre o final da irradiação e o tempo de início da medida experimental. Levando-se em consideração o tempo de decaimento t_d , a equação (9) torna-se:

$$A = \frac{\varepsilon \cdot \sigma \cdot \phi \cdot N_0 \cdot I \cdot m}{M} \cdot (1 - e^{-\lambda t_i}) \cdot e^{-\lambda t_d} \quad (10)$$

O método de NAA que utiliza a equação (10) é conhecido como NAA absoluto. Teoricamente é possível o uso do método absoluto na análise experimental, mas não é muito comum, uma vez que a maioria dos parâmetros nucleares apresentados na equação (10) não são conhecidos com exatidão, o que torna este método absoluto bastante limitado. Dessa forma, uma vez que as secções de choque σ de captura de nêutrons térmicos para a maioria dos radionuclídeos não são bem conhecidas e como o fluxo ϕ de nêutrons térmicos

incidentes no núcleo alvo pode variar durante o período de irradiação, o método comparativo da NAA é normalmente utilizado.

Método comparativo na NAA

No método comparativo de análise por ativação com nêutrons, a amostra e um padrão do elemento a ser determinado são irradiados simultaneamente, sob as mesmas condições, e ambos medidos com o mesmo detector. Desta forma, o fluxo ϕ de nêutrons térmicos incidentes no elemento, a secção de choque σ de captura de nêutrons térmicos, o tempo de irradiação, a eficiência ε do sistema de detecção e todas as outras variáveis associadas às contagens são constantes tanto para a amostra como para o padrão, tornando possível a determinação da concentração do elemento na amostra através de uma comparação entre as atividades induzidas na amostra e no padrão, uma vez que a taxa de emissão de radiação por uma material é proporcional ao seu número de átomos. O método comparativo não exige a necessidade do conhecimento dos valores dos parâmetros nucleares mostrados na equação (10), tornando mais simples o cálculo da concentração de um elemento presente na amostra em estudo.

De acordo com a equação (10) e considerando o tempo de decaimento da amostra e do padrão, respectivamente, como t_{da} e t_{dp} (com $t_{da} \neq t_{dp}$, pois a taxa de contagem da amostra e do padrão não são obtidas simultaneamente), a atividade induzida A_a em um elemento da amostra e a atividade induzida A_p em um mesmo elemento do padrão são dadas por:

$$A_a = \frac{\varepsilon \cdot \sigma \cdot \phi \cdot N_0 \cdot l \cdot m_a}{M} \cdot (1 - e^{-\lambda t_i}) \cdot e^{-\lambda t_{da}} \quad (11)$$

e

$$A_p = \frac{\varepsilon \cdot \sigma \cdot \phi \cdot N_0 \cdot l \cdot m_p}{M} \cdot (1 - e^{-\lambda t_i}) \cdot e^{-\lambda t_{dp}} \quad (12)$$

Dividindo-se a equação (11) pela equação (12) temos:

$$\frac{A_a}{A_p} = \frac{m_a}{m_p} \cdot \frac{e^{-\lambda t_{da}}}{e^{-\lambda t_{dp}}} \quad (13)$$

e

$$m_a = \frac{m_p \cdot A_a \cdot e^{\lambda(t_{da}-t_{dp})}}{A_p} \quad (14)$$

A concentração C_a do elemento contido na amostra é dada por:

$$C_a = \frac{m_a}{M_a} \quad (15)$$

Substituindo a equação (14) na equação (15):

$$C_a = \frac{m_p \cdot A_a \cdot e^{\lambda(t_{da}-t_{dp})}}{M_a \cdot A_p} \quad (16)$$

onde:

m_p – massa do elemento no padrão, em μg ;

A_a – taxa de contagens do elemento na amostra para o tempo de decaimento t_{da} , em contagens por segundo;

t_{da} – tempo de decaimento da amostra, em segundos;

t_{dp} – tempo de decaimento do padrão, em segundos;

M_a – massa total da amostra, em gramas;

A_p – taxa de contagens do mesmo elemento no padrão para o tempo de decaimento t_{dp} ;

λ - constante de decaimento do núcleo produto, em s^{-1} , sendo $\lambda = \frac{0,693}{T_{\frac{1}{2}}}$;

$T_{\frac{1}{2}}$ - meia-vida do núcleo produto, em segundos;

A concentração do elemento contido na amostra, pelo método comparativo, é calculada através da equação (16). O termo exponencial da equação (16) leva em consideração o decaimento da amostra e do padrão, uma vez que a taxa de contagem da

amostra e do padrão não são obtidas simultaneamente. A simplicidade deste cálculo é uma grande vantagem do método comparativo, pois não é necessário conhecer todos os parâmetros nucleares envolvidos no processo. De uma forma geral, a massa m_a de uma amostra é medida e depois irradiada simultaneamente com um material cuja concentração do elemento a ser determinado já é conhecida (elemento padrão). Em seguida, obtém-se a taxa de contagem para a amostra e para o padrão utilizando-se um sistema de detecção adequado. A comparação entre estas taxas de contagens é a base para o cálculo da concentração do elemento contido na amostra.

6.5.2. Espectrometria de Absorção Atômica - AAS

Espectrometria de Absorção Atômica (AAS – do inglês Atomic Absorption Spectrometry) é uma técnica espectroanalítica para determinação quantitativa de elementos envolvendo a absorção de radiação óptica por átomos livres no estado gasoso.

Todo elemento tem um número específico de elétrons associado com o seu núcleo. A configuração orbital mais estável de um átomo dos elementos é denominada como “estado fundamental”.

Quando energia de um comprimento de onda específico (λ) é aplicada a um átomo, esta é absorvida e o átomo passa a apresentar uma configuração menos estável, chamada “estado excitado”, sendo este o processo de absorção atômica (Figura 26). Uma vez que este estado é instável, o átomo retornará ao estado fundamental, emitindo fóton de energia. Este processo é conhecido como emissão atômica.

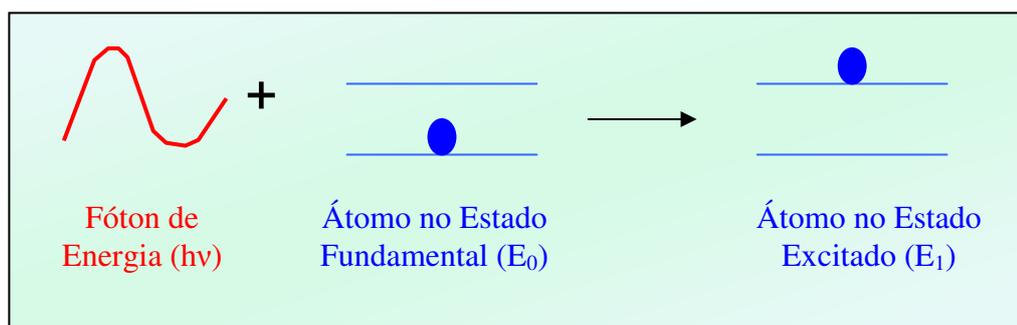
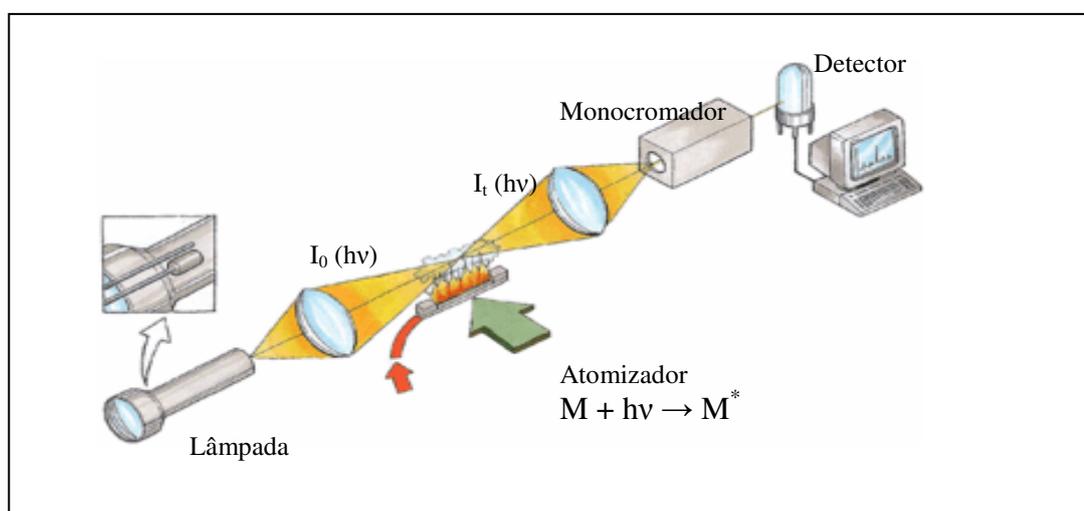


Figura 26 - Processo de absorção atômica (HASWEEL, 1991)

O princípio fundamental desta técnica envolve a medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética proveniente de uma fonte de luz, por átomos gasosos no estado fundamental (HASWEEL, 1991). Os componentes básicos de um espectrômetro incluem: fonte de radiação, atomizador, monocromador, detector e processador.

A figura 27 ilustra um diagrama de blocos de um espectrômetro de absorção atômica.



Fonte: HiQ, 2007

Figura 27 – Principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica

A lâmpada de absorção atômica é um dispositivo capaz de gerar o espectro de emissão de um elemento, o qual será direcionado a um detector passando pelo atomizador, onde o I_0 é a intensidade de radiação emitida e I_t é a intensidade de radiação transmitida.

A fonte de radiação mais comum para medidas de absorção atômica é a lâmpada de cátodo oco. Um outro tipo de fonte de radiação específica é a lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL), que foi o tipo de lâmpada utilizada neste trabalho para as determinações de Cd e Pb.

O atomizador é um dispositivo capaz de transformar íons ou moléculas presentes na amostra, em átomos no estado fundamental para que possam absorver a radiação proveniente da lâmpada ($M + hv \rightarrow M^*$), e portanto atenuar a intensidade do sinal emitido

pela lâmpada e conseqüentemente ser usado na determinação da concentração do elemento de interesse.

Os atomizadores podem ser:

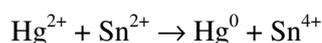
- Chama - Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS - do inglês Flame Atomic Absorption Spectrometry).
- Forno de grafite - Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ET AAS do inglês Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry).
- Geração de vapor frio - Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CV AAS do inglês Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry).
- Geração de hidretos - Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de hidretos (HG AAS do inglês Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry).

Os atomizadores utilizados neste trabalho foram o forno de grafite, para determinação de Cd e Pb, e geração de vapor frio, para determinação de mercúrio total.

Os atomizadores eletrotérmicos do tipo forno de grafite são mais utilizados para análises elementares em níveis de $\mu\text{g.L}^{-1}$. A amostra é introduzida no forno de grafite através de um amostrador automático que introduz um pequeno volume da amostra (cerca de 2 a 20 μL) a ser analisada no interior do tubo de grafite, apresentando assim uma eficiência de transporte da amostra de 100%, obtendo-se limites de detecção da ordem de 0,002 a 0,01 ng.mL^{-1} . Após a introdução da amostra no tubo de grafite, esta passará por etapas de secagem, pirólise e por fim será atomizada em temperaturas de até 2700°C. Após a atomização o tubo de grafite é aquecido para a etapa de limpeza e, por fim, o tubo é resfriado para a introdução de nova amostra.

O atomizador de geração de vapor frio é aplicável somente para a determinação de mercúrio, sendo este o único elemento metálico que na temperatura ambiente existe no estado de vapor (20°C – 14 mg/m^3 de ar) (OLIVEIRA, 2000).

A análise por CV AAS dispensa o uso da chama para a atomização do metal, pois o mercúrio é reduzido a vapor por adição de um agente redutor (SnCl_2), sendo esta uma reação de formação de Hg atômico rápida e de fácil automatização, que de maneira simplificada pode ser descrita como:



O mercúrio elementar é então introduzido em um longo tubo de absorção por borbulhamento com uma corrente de gás inerte através da mistura na qual o elemento foi formado. Completa-se a análise com a medida de absorbância em 253,7nm. Os limites de detecção são da ordem de 0,01 a 1ng.g⁻¹ (HORVAT, 1996).

A técnica de vapor frio permite também determinações de ultra-traços (0,1ng), graças a possibilidade de amalgamação do mercúrio sobre cobre ou ouro.

O monocromador deve separar a linha espectral de interesse de várias outras linhas, através de um prisma ou grade de difração, associado a duas fendas estreitas que servem para a entrada e saída da radiação. O prisma ou a grade de difração decompõe o feixe da radiação em discretos comprimentos de onda, com diferentes ângulos, assim, através da fenda de saída, é possível selecionar apenas a linha com comprimento de onda desejado (OLIVEIRA, 2000). Em geral, os sistemas de detecção encontrados são fotomultiplicadores que convertem energia radiante em sinal elétrico.

A Lei de Lambert-Beer permite relacionar a concentração de átomos no estado fundamental com a absorção, temos então a seguinte equação:

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = alc \quad (17)$$

onde:

A = absorbância

I_0 = intensidade da radiação emitida pela fonte de luz

I_t = intensidade da radiação transmitida (não absorvida)

a = coeficiente de absorvidade molar do meio

l = espessura da célula de absorção

c = concentração de átomos no estado fundamental

Teoricamente, a absorção atômica deveria seguir a lei de Beer com a absorbância sendo diretamente proporcional à concentração, porém, na realidade, desvios na linearidade são encontrados freqüentemente, e seria temerário realizar uma análise de absorção atômica sem que tenha sido determinado experimentalmente se esta relação linear existe ou não. Então, periodicamente, uma curva de calibração que cubra o intervalo das concentrações encontradas nas amostras deve ser preparada (SKOOG *et al.*, 2002). Temos então o cálculo da concentração do analito através da equação da reta:

$$y = ax + b \quad (18)$$

onde:

y = absorvância (A)

a = coeficiente angular ou inclinação da reta

x = concentração do analito (C)

b = coeficiente linear (A_0)

temos:

$$A = aC + A_0 \quad (19)$$

A concentração do analito é calculada de acordo com a equação (19).

6.6. Análises

6.6.1. Materiais de Referência Certificados

Para o controle de qualidade dos procedimentos analíticos foram utilizados materiais de referência certificados marinhos que foram preparados pelo National Institute of Standards & Technology - NIST.

Esses materiais foram analisados juntamente com as amostras em ambos os métodos, afim de se obter a exatidão e precisão nas análises.

Os materiais de referência certificados que foram utilizados para as análises em ambos os métodos foram:

- Oyster Tissue 1566b – NIST
- Mussel Tissue 2976 – NIST

As tabelas 1 e 2 apresentam os valores certificados para os elementos estudados para os materiais de referência certificados Oyster Tissue e Mussel Tissue.

Tabela 1 – Valores certificados para os elementos no material de referência certificado
Oyster Tissue 1566b – NIST (NIST, 2001).

| Material de Referência | | Valores Certificados ^a |
|-----------------------------------|-----------|-------------------------------------|
| Certificado | Elementos | ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) |
| Oyster Tissue NIST - SRM 1566b | As | 7,65±0,65 |
| | Ca | 838±20 |
| | Cd | 2,48±0,08 |
| | Co | 0,371±0,009 |
| | Cr | NC |
| | Fe | 205,8±6,8 |
| | Hg | 0,0371±0,0013 |
| | Na | 3297±53 |
| | Pb | 0,308±0,009 |
| | Se | 2,06±0,15 |
| | Zn | 1424±46 |

NC = não certificado

^aincertezas são: incertezas expandidas (k = 2) obtidas a partir de médias ponderadas de dois ou mais métodos analíticos.

Tabela 2 - Valores certificados para os elementos no material de referência certificado
Mussel Tissue 2976 – NIST (NIST, 1998)

| Material de Referência | | Valores Certificados ^a |
|----------------------------------|-----------|-------------------------------------|
| Certificado | Elementos | ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) |
| Mussel Tissue NIST - SRM 2976 | As | 13,3±1,8 |
| | Ca | 7600±300* |
| | Cd | 0,82±0,16 |
| | Co | 0,61±0,02* |
| | Cr | 0,50±0,16* |
| | Fe | 171,0±4,9 |
| | Hg | 0,061±0,0036 |
| | Na | 35000±1000* |
| | Pb | 1,19±0,18 |
| | Se | 1,80±0,15 |
| Zn | 137±13 | |

* valores de referência (informativos)

^aincertezas são: incertezas expandidas ($k = 4,30$) obtidas a partir de médias ponderadas de dois ou mais métodos analíticos para os valores certificados;

incertezas expandidas obtidas a partir de resultados de AANI com k para 95% onde k é o valor de t-student de acordo com os seguintes graus de liberdade: Ca: $v = 5$, Co: $v = 17$, Cr: $v = 2$ e Na: $v = 4$, para os valores informativos.

6.6.2. Teor de Umidade Residual

Para que os resultados obtidos para os materiais de referência certificados sejam dados na base seca, é necessário verificar o teor de umidade residual.

Cerca de 1g de cada material de referência certificado (Oyster Tissue 1566b – NIST e Mussel Tissue 2976 – NIST) foi utilizado para a determinação de umidade residual. Cada

alíquota foi seca a 100°C, em estufa, por duas horas. Esse procedimento foi repetido até se obter um peso constante da amostra.

6.6.3. *Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental – AANI*

Os elementos As, Ca, Co, Cr, Fe, Na, Se e Zn foram determinados pela técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI) nas amostras de mexilhões transplantados nos pontos de estudo.

A figura 28 mostra o fluxograma das principais etapas realizadas para a determinação desses elementos.

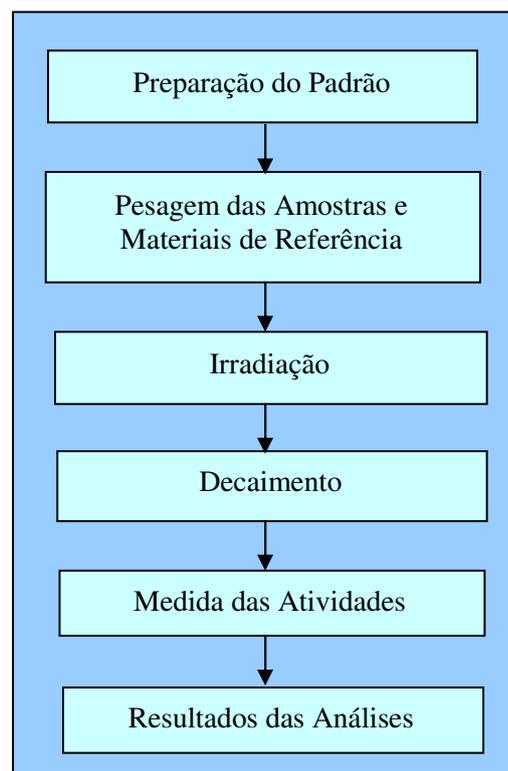


Figura 28 - Principais etapas para as análises por AANI

6.6.3.1. Preparação dos Padrões

Para que a análise seja realizada é necessária a preparação de um padrão, afim de que se possam comparar as atividades medidas da amostra com as do padrão, já que o método utilizado foi o comparativo.

Foram pipetados em tiras de papel de filtro Whatman n° 40 alíquotas de soluções de concentrações conhecidas (soluções padrão certificadas da marca Spex Certi Prep) dos elementos de estudo. Essas tiras de papel foram secas à temperatura ambiente e após a secagem essas tiras foram dobradas e embaladas em envoltórios plásticos previamente limpos com ácido nítrico PA da Merck 10%.

Para os elementos As, Co, Cr, Se e Zn foi necessário a diluição das soluções originais antes de pipetar nas tiras de papel de filtro.

As soluções originais de As e Cr foram diluídas em um balão volumétrico de $(24,981 \pm 0,005)$ mL, onde foram pipetados $(1,2485 \pm 0,0004)$ mL de cada solução. Essa solução foi preparada em meio ácido nítrico 2%, obtendo-se assim uma solução padrão multielementar de As e Cr.

Para os padrões Co, Se e Zn as soluções originais também foram diluídas em um balão volumétrico de $(24,981 \pm 0,005)$ mL, onde foram pipetados $(0,24770 \pm 0,00002)$ mL da solução de Co e de Se e $(5,0179 \pm 0,0001)$ mL da solução de Zn. Essa solução foi preparada em meio ácido nítrico 2%, obtendo-se assim uma solução padrão multielementar de Co, Se e Zn.

A tabela 3 apresenta as concentrações das soluções padrão, os volumes pipetados e a massa obtida no padrão.

Tabela 3 – Soluções padrão, volumes pipetados e massas nos padrões^a.

| Elemento | Procedência da Solução | Concentração da Solução Original (mg.L⁻¹)* | Concentração da Solução Diluída (µg.mL⁻¹) | Volume Pipetado (µL) | Massa no padrão (µg) |
|-----------------|-------------------------------|--|---|-----------------------------|-----------------------------|
| As | Spex Certi Prep | 1000±3 | 50,0±0,3 | 99,06±0,04 | 4,95±0,04 |
| Ca | Spex Certi Prep | 10.002±30 | --- | 99,06±0,04 | 991±6 |
| Co | Spex Certi Prep | 1000±3 | 9,92±0,06 | 99,06±0,04 | 0,983±0,009 |
| Cr | Spex Certi Prep | 1002,5±3 | 50,1±0,3 | 99,06±0,04 | 5,0±0,1 |
| Fe | Spex Certi Prep | 9.991±30 | --- | 49,09±0,08 | 490±3 |
| Na | Spex Certi Prep | 9.998±30 | --- | 99,06±0,04 | 990±6 |
| Se | Spex Certi Prep | 1000,5±3 | 9,96±0,06 | 99,06±0,04 | 0,99±0,02 |
| Zn | Spex Certi Prep | 1000±3 | 201±2 | 99,06±0,04 | 19,9±0,1 |

^aincertezas são: incertezas expandidas k = 2.

* Declarado pelo fornecedor

6.6.3.2. Pesagem das Amostras e Materiais de Referência Certificados

Foram pesados em envoltórios plásticos, previamente limpos com HNO₃ 10%, cerca de 150mg das amostras e 150mg dos materiais de referência certificados.

6.6.3.3. Irradiação

Como o método que foi utilizado foi o comparativo, as amostras de mexilhões, padrões dos elementos e materiais de referência certificados foram acondicionados em recipientes de alumínio, denominados “coelhos”, e foram irradiados simultaneamente no reator nuclear IEA – R1, sob um fluxo de nêutrons térmicos de cerca de $1-3 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, por um período de 8h.

6.6.3.4. Decaimento

Ao término da irradiação, o “coelho” de alumínio contendo as amostras, padrões e materiais de referência certificados passou por um período de decaimento em blindagem de chumbo.

6.6.3.5. Medida das Atividades

Após um decaimento de 7 dias após a irradiação as amostras, padrões e materiais de referência certificados foram medidos em um espectrômetro de raios gama por um período de 30 minutos cada padrão e 2 horas para cada amostra e material de referência certificado, afim de se obter as atividades induzidas. Nessa primeira medição obtemos os teores dos elementos Na e As. Com um decaimento de 21 dias após a irradiação (tempo necessário

para o decaimento de radionuclídeos de meias-vidas mais curtas, como o Na, que interferem nas determinações de outros elementos) amostras, padrões e materiais de referência certificados foram medidos novamente por um período de 1h para cada padrão e 5h para cada amostra e material de referência certificado. Essa segunda medição nos forneceu os teores para os elementos Ca, Co, Cr, Fe, Se e Zn.

Para a determinação desses elementos usou-se um espectrômetro de raios gama constituído de um detector de germânio hiperpuro CANBERRA modelo GX2020, acoplado a um sistema multicanal e eletrônica associada também da marca CANBERRA. A resolução (FWHM) do sistema utilizado foi de 0,98 keV para o fotopico de 122,1 keV do ^{57}Co e de 1,78 keV para o fotopico de 1332,5 keV do ^{60}Co .

A figura 29 ilustra o equipamento utilizado para as medidas das atividades (taxas de contagens).



Figura 29 - Foto do equipamento CANBERRA utilizado para as medidas das atividades (taxas de contagem).

6.6.3.6 Resultados das Análises

Ao término das medidas os espectros foram analisados por um programa chamado VERSÃO 2, uma nova versão do programa VISPECT2, PICCOT, (1989), que fornece as energias da radiação gama dos radioisótopos de interesse e as respectivas áreas dos picos.

Por fim as concentrações dos elementos foram calculadas usando-se o programa ESPECTRO, segundo a expressão (16), já apresentada no item 6.5.1..

As meias-vida e as energias da radiação gama dos radioisótopos ^{76}As , ^{24}Na , ^{47}Ca , ^{60}Co , ^{51}Cr , ^{59}Fe , ^{75}Se e ^{65}Zn utilizados para a determinação dos teores de As, Na, Ca, Co, Cr, Fe, Se e Zn nas amostras de mexilhões transplantados estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 – Meia-vida e energia da radiação gama dos radioisótopos (IAEA, 1990).

| Radioisótopo | Meia-vida | Energia da Radiação |
|------------------|-------------|---------------------|
| | | Gama (keV) |
| ^{76}As | 26,32 horas | 559,10 |
| ^{24}Na | 15 horas | 1368,60 |
| ^{47}Ca | 4,54 dias | 159,38 |
| ^{60}Co | 5,27 anos | 1332,50 |
| ^{51}Cr | 27,7 dias | 320,08 |
| ^{59}Fe | 44,5 dias | 1099,25 |
| ^{75}Se | 119,8 dias | 264,66 |
| ^{65}Zn | 243,9 dias | 1115,55 |

6.6.4. Espectrometria de Absorção Atômica – AAS

O mercúrio foi determinado pela técnica de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), visto que por análise por ativação com nêutrons instrumental a

interferência do sódio dificulta a análise desse elemento, notadamente em materiais marinhos.

As determinações de cádmio e chumbo foram realizadas pela técnica de espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS), visto que nem sempre é possível a determinação de cádmio por análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI) e não é possível a determinação de chumbo, devido às características nucleares desfavoráveis desse elemento.

6.6.4.1. *Análise de Mercúrio Total – CV AAS*

A figura 30 mostra o fluxograma das principais etapas realizadas para a determinação de mercúrio total pela técnica de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS).

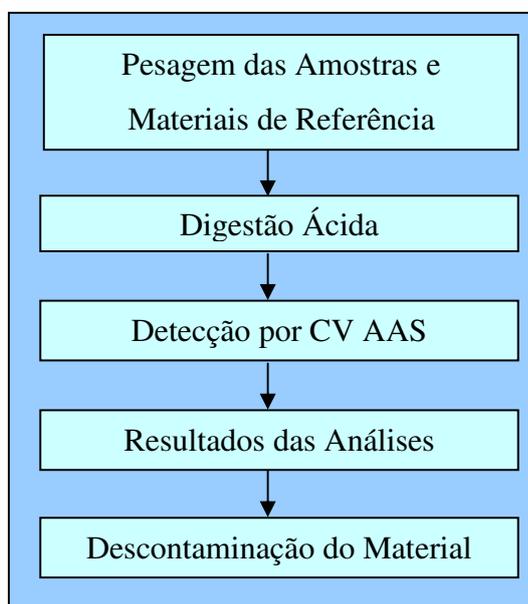


Figura 30 - Principais etapas para a determinação de mercúrio total por CV AAS.

6.6.4.1.1. Soluções Utilizadas no Equipamento

- Carregador: solução que foi utilizada para transportar a amostra, para a reação com o redutor quando o Hg^{2+} é reduzido a Hg^0 . Solução preparada a partir de ácido clorídrico fumegante PA da Merck, concentração de 3% (v/v) HCl.
- Redutor: preparado a partir de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ da Merck em 3% v/v HCl, concentração de 1,1% (m/v) SnCl_2 , preparado diariamente.

6.6.4.1.2. Soluções para a Construção da Curva de Calibração

As concentrações das soluções estoques (2 e 3) foram calculadas com as respectivas incertezas expandidas ($k=2$) calculadas a partir da incerteza nos respectivos fatores de diluição.

- Solução analítica de mercúrio – estoque 1: preparada a partir da dissolução de $(0,11712 \pm 0,00002)\text{g}$ de mercúrio metálico PA Merck em 1mL de HNO_3 concentrado PA Merck com baixo teor de Hg (max. 0,0000005% Hg), e o volume foi levado a 100mL (volume do balão calibrado foi de $(99,8 \pm 0,1)\text{mL}$). Solução de concentração $(1,174 \pm 0,002)\text{mg.mL}^{-1}$.

- Solução analítica de mercúrio – estoque 2: preparada a partir da diluição de 100 μL (volume do pipetador calibrado foi de $(99,4 \pm 0,4)\mu\text{L}$) da estoque 1 em 100mL (volume do balão calibrado foi de $(99,8 \pm 0,1)\text{mL}$), com a adição de 2mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 10% (m/v), obtendo-se uma concentração de $(1169,29 \pm 0,01)\text{ng.mL}^{-1}$.

- Solução analítica de mercúrio – estoque 3: preparada a partir de 1mL (volume do pipetador calibrado foi de $(1,012 \pm 0,004)\text{mL}$) da estoque 2 e volume levado a 10mL (volume do balão calibrado foi de $(10,0 \pm 0,1)\text{mL}$), preparada diariamente, concentração de $(118,3 \pm 0,2)\text{ng.mL}^{-1}$.

- Solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$: preparada a partir do sal de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ PA Merck, solução de concentração igual a 10% (m/v).

6.6.4.1.3. *Pesagem das Amostras e Materiais de Referência*

Cerca de 350mg da amostra, 350mg de material de referência certificado Oyster Tissue e 200mg de Mussel Tissue foram utilizados para a análise.

6.6.4.1.4. *Digestão Ácida*

Na determinação de mercúrio por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio, é necessário o ataque químico, geralmente com misturas de ácidos. No caso de materiais marinhos somente o HNO₃ foi suficiente.

Amostras e materiais de referência certificados foram pesados em frascos de Teflon da SAVILLEX de (25,30±0,07)mL e a seguir foram adicionados 4mL de HNO₃ concentrado PA da Merck com baixo teor de Hg (max. 0,0000005% Hg). Em seguida o frasco foi fechado, agitado levemente e permaneceu em repouso por aproximadamente 8h. Ao término das 8 horas foi adicionado 1mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) PA da Merck e o frasco foi novamente agitado levemente e deixado em repouso por mais 15 horas aproximadamente.

Para finalizar a digestão, os frascos foram colocados no bloco digestor a uma temperatura de 90°C por 3 horas. Após o aquecimento o volume foi levado a 25,3mL com água Milli Q e homogeneizado.

6.6.4.1.5. *Detecção por CV AAS*

A detecção por CV AAS foi realizada no equipamento de CV AAS – FIMS da Perkin-Elmer (Flow Injection Mercury System).

A curva de calibração foi preparada através de diluições das soluções estoques 2 e 3 de mercúrio de concentrações iguais a (1169,29±0,01)ng.mL⁻¹ e (118,3±0,2)ng.mL⁻¹ respectivamente. Essa curva foi preparada a cada análise.

A curva de calibração utilizada na análise e o branco analítico sofreram o mesmo processo de digestão das amostras e materiais de referência certificados.

Os pontos da curva de calibração utilizada foram 0,5; 2,4; 4,6ng.mL⁻¹.

O volume de injeção da amostra foi de 500μL, o fluxo de argônio de 50mL.min⁻¹, o fluxo do carregador de 10mL.min⁻¹ e o fluxo do redutor de 6mL.min⁻¹.

A figura 31 ilustra o equipamento FIMS utilizado nas análises de mercúrio total.

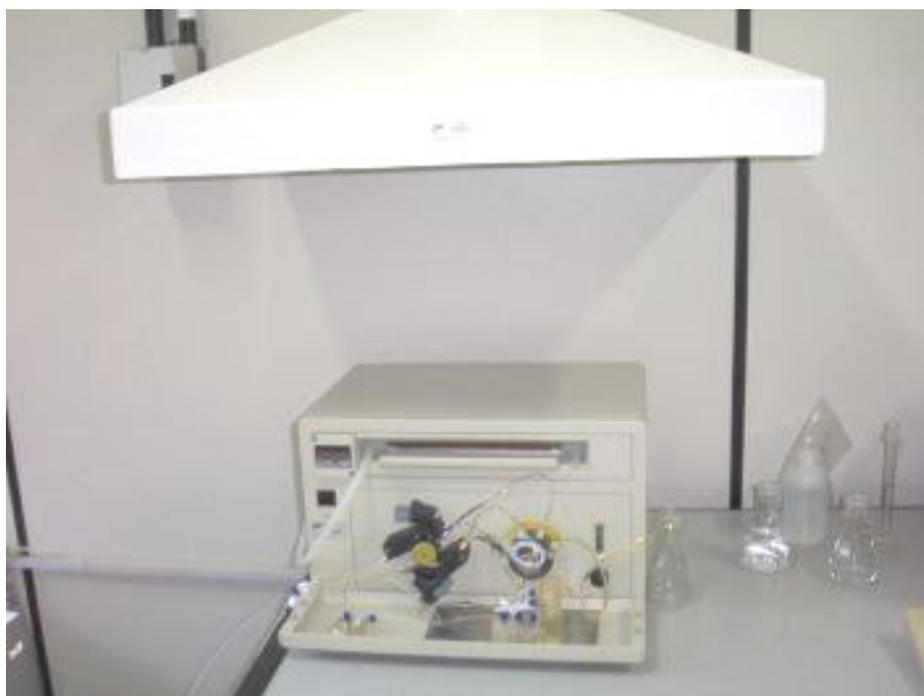


Figura 31 - Foto do equipamento de CV AAS - FIMS da Perkin-Elmer (Flow Injection Mercury System)

6.6.4.1.6. Resultados das Análises

O programa do FIMS já fornece todos os resultados em ng.g⁻¹ após a detecção. A concentração foi calculada de acordo com a expressão (19) descrita no item 6.5.2..

6.6.4.1.7. Descontaminação do Material

Toda a vidraria utilizada passou por um processo de descontaminação, que teve o seguinte procedimento:

Primeiramente toda a vidraria foi colocada em um banho de Extran neutro 2% (v/v) da Merck por 24h. Após esse período a vidraria passou por 3 banhos de HNO₃ PA da Merck, com baixo teor de Hg (max. 0,0000005% Hg), 20% (v/v) por 24h cada. Por fim foi lavada com água deionizada e depois com água Milli-Q, e seca à temperatura ambiente em capela de fluxo laminar.

Os frascos de Teflon, utilizados na digestão da amostra, foram deixados em um banho de Extran neutro 2% (v/v) da Merck por 24h, após esse período foram colocados por 3h no bloco digestor à 60°C com HNO₃ 50% (v/v) PA da Merck com baixo teor de Hg (max. 0,0000005% Hg). Por fim foram lavados com água deionizada e água Milli-Q e secos à temperatura ambiente na capela de fluxo laminar.

6.6.4.2. Análise de Cádmio e Chumbo – ET AAS

A figura 32 mostra o fluxograma das principais etapas realizadas para a determinação de cádmio e chumbo pela técnica de espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica – Forno de Grafite (ET AAS).

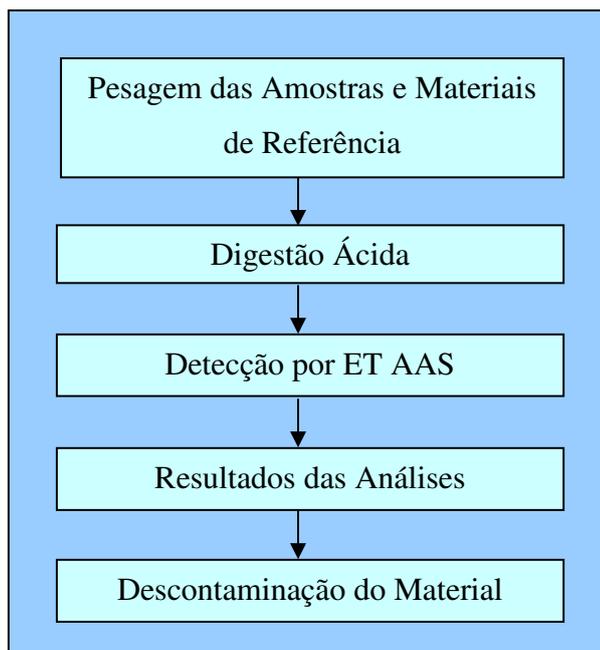


Figura 32 - Principais etapas para as determinações de cádmio e chumbo por ET AAS.

6.6.4.2.1. Soluções para as Construções das Curvas de Calibrações

As concentrações das soluções estoques (1) de cádmio e chumbo são apresentadas com as incertezas expandidas fornecidas pelo fabricante. As concentrações das soluções estoques (2 e 3) foram calculadas com as respectivas incertezas expandidas ($k=2$) calculadas a partir da incerteza nos respectivos fatores de diluição.

- Solução analítica de cádmio - estoque 1: Solução de cádmio Spex Certiprep de concentração $(998,5 \pm 3,0) \text{mg.L}^{-1}$ de Cd em HNO_3 2% (v/v).
- Solução analítica de cádmio - estoque 2: preparada a partir de 0,2mL (volume do pipetador calibrado foi de $(0,2018 \pm 0,0004) \text{mL}$) da estoque 1 e volume levado a 100mL (volume do balão calibrado foi de $(99,8 \pm 0,1) \text{mL}$) de HNO_3 2% (v/v) PA da Merck (teor de $\text{Cd} < 0,005 \text{mg.L}^{-1}$), solução de concentração $(2019 \pm 12) \text{ng.mL}^{-1}$.
- Solução analítica de cádmio - estoque 3: preparada a partir de 35 μL (volume do pipetador calibrado foi de $(34,73 \pm 0,08) \mu\text{L}$) da estoque 2 e volume levado a 10mL (volume

do balão calibrado foi de $(10,1 \pm 0,1)$ mL de HNO_3 0,2% (v/v) PA da Merck (teor de $\text{Cd} < 0,005 \text{ mg.L}^{-1}$), preparada diariamente, concentração de $(6,94 \pm 0,04) \text{ ng.mL}^{-1}$.

- Solução analítica de chumbo - estoque 1: Solução de chumbo da Merck de concentração $(1001 \pm 2) \text{ mg.L}^{-1}$ em HNO_3 $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$.

- Solução analítica de chumbo - estoque 2: preparada a partir de 0,1 mL (volume do pipetador calibrado foi de $(0,0994 \pm 0,0004)$ mL) da estoque 1 e volume levado a 100 mL (volume do balão calibrado foi de $(99,9 \pm 0,1)$ mL) de HNO_3 2% (v/v) PA da Merck (teor de $\text{Pb} < 0,010 \text{ mg.L}^{-1}$), solução de concentração $(996 \pm 4) \text{ ng.mL}^{-1}$. A partir desta solução estoque que foram feitas as diluições das outras soluções utilizadas para as construções das curvas de calibrações.

- Solução analítica de chumbo - estoque 3: preparada a partir de 250 μL (volume do pipetador calibrado foi de $(250,89 \pm 0,04) \mu\text{L}$) da estoque 2 e volume levado a 10 mL (volume do balão calibrado foi de $(10,0 \pm 0,1)$ mL) de HNO_3 0,2% (v/v) PA da Merck (teor de $\text{Pb} < 0,010 \text{ mg.L}^{-1}$), preparada diariamente, concentração de $(25,0 \pm 0,2) \text{ ng.mL}^{-1}$.

- Diluyente: utilizado para a construção da curva de calibração (Cd e Pb), preparado a partir de ácido nítrico concentrado PA da Merck, concentração de 0,2% (v/v) HNO_3 .

- Modificador químico: solução utilizada para estabilizar termicamente os analitos mais voláteis, aumentar a volatilidade dos analitos menos voláteis, diminuindo assim a temperatura de atomização. Aumenta também a volatilidade das espécies interferentes, promovendo a eliminação durante o pré-tratamento térmico. Solução da Perkin Elmer de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0,5% (m/v) e $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,03% (m/v).

6.6.4.2.2. *Pesagem das Amostras e Materiais de Referência*

Para as análises de cádmio foram pesados cerca de 350 mg da amostra, 100 mg para o material de referência certificado Oyster Tissue e 200 mg para o material de referência certificado Mussel Tissue.

Para as análises de chumbo foram pesados cerca de 350 mg da amostra, 350 mg para o material de referência certificado Oyster Tissue e 200 mg para o material de referência certificado Mussel Tissue.

6.6.4.2.3. Digestão Ácida

A digestão ácida nas amostras e materiais de referência certificados, para a determinação de Cd e Pb, foi à mesma utilizada para a determinação de mercúrio, descrita no item 6.6.4.1.4..

Para a determinação por ET AAS somente o branco analítico sofreu o mesmo processo de digestão das amostras, visto que nesse tipo de análise a curva de calibração é feita através de diluições de uma solução “estoque” mais concentrada feita pelo próprio equipamento.

6.6.4.2.4. Detecção por ET AAS

A detecção por ET AAS para Cd e Pb foi realizada no equipamento de AAnalyst 800 da Perkin-Elmer. A figura 33 ilustra o equipamento de absorção atômica.



Figura 33 - Foto do equipamento de AAnalyst 800 da Perkin-Elmer

Para as determinações de cádmio e chumbo nas amostras e materiais de referência marinhos primeiramente foram realizados testes para a otimização do programa de aquecimento do forno de grafite (temperaturas de atomização e pirólise, patamar, temperaturas de secagens, etc), e otimização do volume de injeção, da amostra e solução estoque dos elementos, para obtenção de melhor sensibilidade na análise.

As condições ótimas definidas, após os testes, para as análises de cádmio e chumbo por ET AAS estão descritas abaixo.

6.6.4.2.4.1. Cádmio

Os pontos da curva de calibração utilizada foram 1,4; 4,2 e 6,9ng.mL⁻¹. Visto que a determinação desse elemento é muito sensível por ET AAS, essa curva de calibração não poderá ultrapassar o valor de 7ng.mL⁻¹, pois o rollover (achatamento do pico) começa a prejudicar a análise.

As tabelas 5, 6 e 7 mostram todos os parâmetros ajustados, do equipamento, da construção da curva de calibração e programa de aquecimento do forno de grafite, respectivamente, para a determinação de cádmio nos materiais marinhos.

Tabela 5 - Parâmetros otimizados do equipamento para análise de cádmio em materiais marinhos.

| Parâmetros do equipamento | Valores |
|---|----------------|
| λ (nm) da lâmpada de Cd - Lâmpada do tipo EDL | 228,8 |
| Slit (nm) | 0,7 |
| Corrente da lâmpada (mA) | 230 |

Tabela 6 - Parâmetros otimizados para a construção da curva de calibração para análise de cádmio em materiais marinhos.

| Parâmetros para a construção da curva de calibração | Valores |
|--|----------------|
| Volume de injeção das amostras e padrões (μL) | 20 |
| Volume de injeção do modificador químico (μL) | 10 |

Tabela 7 - Parâmetros otimizados do programa de aquecimento do forno de grafite para análise de cádmio em materiais marinhos.

| Etapas | Temperaturas ($^{\circ}\text{C}$) | Rampa de Aquecimento ($^{\circ}\text{C s}^{-1}$) | Patamar (s) | Fluxo interno de Argônio (mL min^{-1}) | Leitura |
|---|---|--|------------------------|---|----------------|
| Secagem 1 | 110 | 1 | 30 | 250 | Não |
| Secagem 2 | 130 | 15 | 30 | 250 | Não |
| Pirólise | 500 | 10 | 20 | 250 | Não |
| Atomização | 1500 | 0 | 5 | 0 | Sim |
| Limpeza | 2450 | 1 | 3 | 250 | Não |
| Temperatura de injeção = 20°C | | | | | |

6.6.4.2.4.2. Chumbo

Os pontos da curva de calibração utilizada foram 5,0; 15,0 e 25,0 ng.mL^{-1} .

As tabelas 8, 9 e 10 mostram todos os parâmetros ajustados, do equipamento, da construção da curva de calibração e programa de aquecimento do forno de grafite, respectivamente, para a determinação de chumbo em materiais marinhos.

Tabela 8 - Parâmetros otimizados do equipamento para análise de chumbo em materiais marinhos.

| Parâmetros do equipamento | Valores |
|---|----------------|
| λ (nm) da lâmpada de Pb - Lâmpada do tipo EDL | 283,3 |
| Slit (nm) | 0,7 |
| Corrente da lâmpada (mA) | 440 |

Tabela 9 - Parâmetros otimizados para a construção da curva de calibração para análise de chumbo em materiais marinhos.

| Parâmetros para a construção da curva de calibração | Valores |
|--|----------------|
| Volume de injeção das amostras e padrões (μL) | 20 |
| Volume de injeção do modificador químico (μL) | 10 |

Tabela 10 - Parâmetros otimizados do programa de aquecimento do forno de grafite para análise de chumbo em materiais marinhos.

| Etapas | Temperaturas (°C) | Rampa de Aquecimento (°C s⁻¹) | Patamar (s) | Fluxo interno de Argônio (mL min⁻¹) | Leitura |
|---------------|------------------------------|---|------------------------|---|----------------|
| Secagem 1 | 110 | 1 | 30 | 250 | Não |
| Secagem 2 | 130 | 15 | 30 | 250 | Não |
| Pirólise | 850 | 10 | 20 | 250 | Não |
| Atomização | 1600 | 0 | 5 | 0 | Sim |
| Limpeza | 2450 | 1 | 3 | 250 | Não |

Temperatura de injeção = 20°C

6.6.4.2.5. Resultados das Análises

O programa do AAnalyst 800 já fornece todos os resultados em ng.g^{-1} após a detecção. A concentração foi calculada de acordo com a expressão (19) descrita no item 6.5.2..

6.6.4.2.6. Descontaminação do Material

O procedimento utilizado para a descontaminação da vidraria e frascos de teflon utilizados para a determinação de Cd e Pb foi o mesmo utilizado para descontaminação de mercúrio, descrito no item 6.6.4.1.7..

CAPÍTULO 7

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os pontos de estudo, faixa de comprimento e largura das conchas e condições dos organismos após a coleta, os valores de perda de água das amostras, em porcentagem, para cada ponto de estudo e estação do ano, valores para os teores de umidade residual para os materiais de referência certificados, limites de detecção, quantificação, escore z, os resultados médios obtidos e as incertezas expandidas associadas para as análises realizadas no cultivo da Cocanha (análise preliminar), nos materiais de referência certificados, nas amostras de mexilhões transplantados nas regiões estudadas.

7.1. Resultados do pré-tratamento das amostras de mexilhões

A tabela 11 apresenta os pontos de estudo, faixa de comprimento e largura das conchas e condições dos organismos.

A tabela 12 apresenta os valores de perda de água das amostras, em porcentagem, para cada ponto de estudo e estação do ano.

Tabela 11 – Coleta dos mexilhões transplantados nos pontos de estudo, faixa de comprimento, largura das conchas e condições dos organismos.

| Estações do Ano | Pontos de Estudo | Faixa de Comprimento(cm) | Faixa de Largura(cm) | Condições dos Organismos |
|------------------------|-------------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| 1/2005 | Cocanha - Preliminar | 4,8 – 6,7 | 2,1 – 3,3 | --- |
| | Cocanha (Controle) | 3,5 – 6,6 | 1,8 – 3,2 | --- |
| | Ilhabela | 4,6 – 7,5 | 2,3 – 3,7 | --- |
| Outono | TEBAR | 3,7 – 8,7 | 2,1 – 4,1 | --- |
| 2005 | Ilha das Palmas | --- | --- | Ponto não encontrado |
| | Itaipu | --- | --- | Ponto não encontrado |
| | Cocanha (Controle) | 3,7 – 6,9 | 1,9 – 3,4 | --- |
| | Ilhabela | 3,6 – 7,4 | 1,9 – 4,0 | --- |
| Inverno | TEBAR | 3,2 – 7,0 | 1,9 – 3,3 | --- |
| 2005 | Ilha das Palmas | 3,8 – 7,9 | 2,3 – 4,2 | --- |
| | Itaipu | 3,3 – 6,0 | 1,6 – 3,0 | * |
| | Cocanha (Controle) | 4,3 – 8,2 | 2,4 – 3,9 | --- |
| | Ilhabela | 3,5 – 8,0 | 1,9 – 4,0 | --- |
| Primavera | TEBAR | 2,6 – 6,9 | 1,7 – 3,3 | --- |
| 2005 | Ilha das Palmas | 4,3 – 7,6 | 2,2 – 3,7 | --- |
| | Itaipu | 3,4 – 7,7 | 2,0 – 4,0 | --- |
| | Cocanha (Controle) | 3,0 – 7,4 | 1,1 – 3,2 | --- |
| | Ilhabela | 4,1 – 10,1 | 2,4 – 4,8 | --- |
| Verão | TEBAR | 3,8 – 7,5 | 2,1 – 3,7 | --- |
| 2006 | Ilha das Palmas | 3,4 – 8,1 | 2,1 – 3,9 | --- |
| | Itaipu | --- | --- | Ponto não encontrado |

* Quase todos os organismos da corda estavam mortos, tinham desovado e estavam cheios de sedimentos dentro das conchas

Tabela 12 – Perda de água, em porcentagem, das amostras de mexilhões após liofilização.

| Estações do Ano | Pontos de Estudo | Perda de Umidade (%) |
|----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| 1/2005 | Cocanha - Preliminar | 87,5 |
| | Cocanha (Controle) | 83,6 |
| Outono 2005 | Ilhabela | 86,8 |
| | TEBAR | 86,4 |
| Inverno 2005 | Ilha das Palmas | Ponto não encontrado |
| | Itaipu | Ponto não encontrado |
| | Cocanha (Controle) | 83,0 |
| | Ilhabela | 87,5 |
| | TEBAR | 86,1 |
| Primavera 2005 | Ilha das Palmas | 85,0 |
| | Itaipu | 85,4 |
| | Cocanha (Controle) | 82,7 |
| | Ilhabela | 81,2 |
| | TEBAR | 82,4 |
| Verão 2006 | Ilha das Palmas | 79,9 |
| | Itaipu | 75,8 |
| | Cocanha (Controle) | 84,8 |
| | Ilhabela | 84,3 |
| | TEBAR | 84,9 |
| | Ilha das Palmas | 78,0 |
| | Itaipu | Ponto não encontrado |

7.2. Umidade residual para os materiais de referência certificados

Os teores de umidade residual estão apresentados na tabela 13.

Tabela 13 – Valores para os teores de umidade residual para os materiais de referência certificados Oyster Tissue 1566b – NIST e Mussel Tissue 2976 - NIST.

| Materiais de Referência Certificado | Teor de Umidade Residual (%) |
|--|-------------------------------------|
| Oyster Tissue | |
| NIST - SRM 1566b | 6,5 |
| Mussel Tissue | |
| NIST - SRM 2976 | 6,7 |

7.3. Limite de detecção e quantificação

A capacidade de quantificar um elemento traço ou molécula em matrizes biológicas ou químicas usando métodos analíticos específicos é frequentemente expressa em termos de limite de detecção. Este limite de detecção (L_D) é um número apresentado em unidades de concentração e expressa a menor concentração do elemento que pode ser detectada como sendo aquela que difere estatisticamente do branco analítico (LONG & WINEFORDNER, 1983). Além do L_D também se define o limite de quantificação (L_Q) que é o valor mínimo quantificável.

Os limites de detecção da técnica de AANI obtidos neste trabalho foram calculados utilizando-se a expressão apresentada abaixo (CURRIE,1999). Esse limite foi calculado para cada elemento em todos os materiais de referência utilizados e amostras.

O método de Currie é um dos mais utilizados para cálculo de limites de detecção em análise por ativação neutrônica.

$$L_D = 3,29\sigma_0 \quad (20)$$

$$L_Q = 10\sigma_0 \quad (21)$$

temos:

$$\sigma_0 = \frac{\sqrt{RF}}{t_v} \quad (22)$$

onde:

RF = número de contagens da radiação de fundo sob o pico do analito;

t_v = tempo vivo – tempo total de medição da amostra.

Para a técnica de AAS os limites de detecção e determinação obtidos neste trabalho foram calculados de acordo com os critérios adotados pelo INMETRO (2007).

$$LD = \bar{x} + ts \quad (23)$$

onde:

\bar{x} = média dos valores dos brancos da amostra (7 replicatas);

t = abcissa da distribuição de Student = 3,143 (99% de confiança);

s = desvio padrão da média dos valores dos brancos da amostra;

O limite de quantificação L_Q pode ser calculado a partir da equação (23), com o valor de t entre 5, 6 ou 10, portanto temos:

$$LQ = \bar{x} + 10s \quad (24)$$

As tabelas 14 e 15 apresentam os valores de limites de detecção e de quantificação para as técnicas de AANI e AAS.

Tabela 14 – Limites de detecção e quantificação (peso úmido), para os elementos determinados nas amostras de mexilhões transplantados, pela técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental AANI

| Elementos | L_D (µg.g⁻¹) | L_Q (µg.g⁻¹) |
|------------------|--|--|
| As | 0,06 | 0,19 |
| Ca | 115 | 350 |
| Co | 0,002 | 0,006 |
| Cr | 0,016 | 0,05 |
| Fe | 1,1 | 3,3 |
| Na | 1,6 | 4,9 |
| Se | 0,06 | 0,18 |
| Zn | 0,08 | 0,24 |

O valor encontrado, neste trabalho, para os limites de detecção dos elementos As, Ca, Co, Cr, Fe, Na, Se e Zn estão compatíveis com valores encontrados na literatura (FARIAS, 2006; MAIHARA, 1996).

Tabela 15 – Limites de detecção e quantificação (peso úmido), para os elementos determinados nas amostras de mexilhões transplantados, pela técnica de espectrometria de absorção atômica AAS

| Elementos | L_D (µg.g⁻¹) | L_Q (µg.g⁻¹) |
|------------------|--|--|
| Hg | 0,001 | 0,002 |
| Cd | 0,001 | 0,006 |
| Pb | 0,011 | 0,016 |

O valor encontrado, neste trabalho, para os limites de detecção do Hg, Cd e Pb estão compatíveis com valores encontrados na literatura (HORVAT, 1996; PEREIRA *et al.*, 2002).

7.4. Incertezas

Incerteza é um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que poderiam ser razoavelmente atribuídos ao mensurando.

A maneira de se realizar a avaliação de incertezas de medição foi sistematizada e consiste em inicialmente especificar o mensurando, isto é, o que exatamente se está medindo; identificar todas as fontes de incerteza relevantes; quantificar cada uma destas fontes; calcular a incerteza padrão combinada e a incerteza padrão expandida e finalmente fazer a apresentação dos resultados. (GUM, 2003; EURACHEM, 2000).

Para a determinação dos elementos As, Ca, Co, Cr, Fe, Na, Se e Zn pelo método de análise por ativação com nêutrons as principais fontes de incertezas do procedimento analítico foram identificadas conforme a figura 34. As incertezas padrão expandidas foram calculadas de acordo com MOREIRA *et al.*, (2006) para cada alíquota de material de referência e amostras de mexilhão. Por fim foram calculados os valores médios das concentrações dos elementos e tomou-se como incertezas expandidas a propagação de incerteza expandidas de cada alíquota.

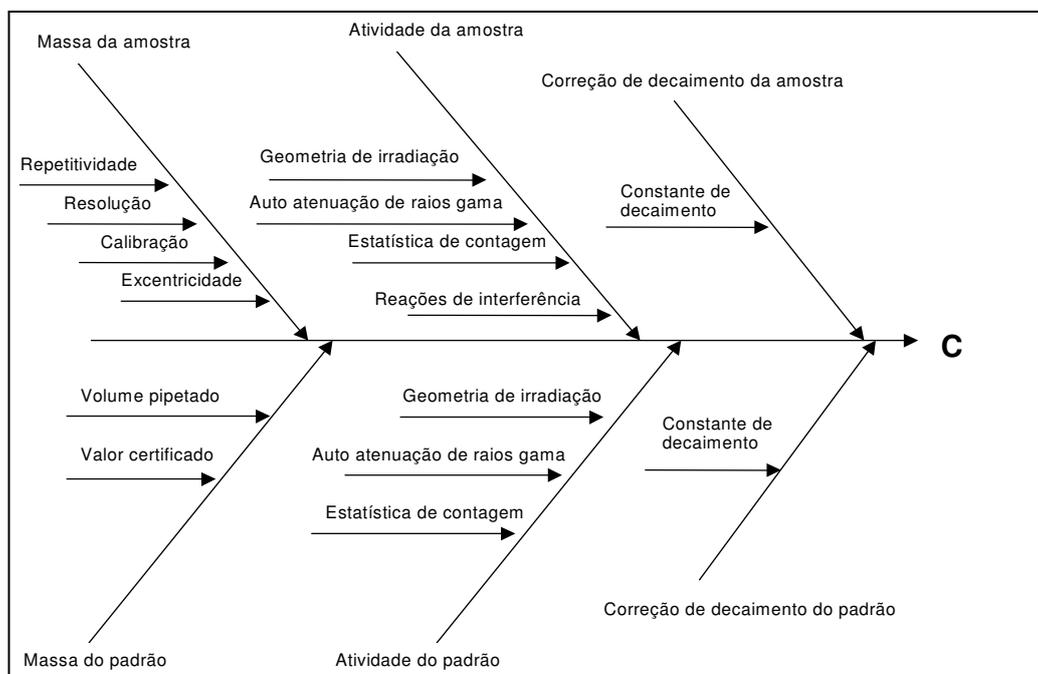


Figura 34 - Diagrama de Ishikawa para as contribuições à incerteza combinada em AANI (MOREIRA *et al.*, 2006).

Para a determinação dos elementos Cd, Hg e Pb por espectrometria de absorção atômica (AAS) as principais fontes de incertezas do procedimento analítico estão apresentadas na figura 35. As incertezas expandidas foram calculadas para cada alíquota de material de referência e amostra de mexilhão (MOREIRA *et al.*, 2005). Por fim foram calculados os valores médios das concentrações dos elementos e tomou-se como incertezas expandidas a propagação de incerteza expandidas de cada alíquota.

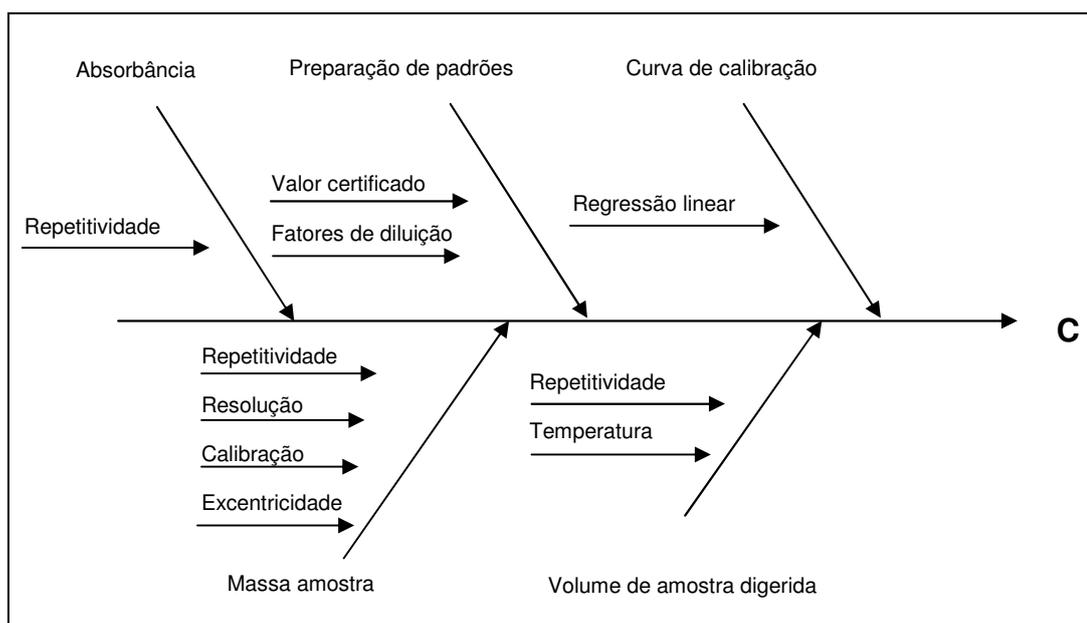


Figura 35 – Diagrama de Ishikawa para as contribuições à incerteza combinada em AAS (MOREIRA *et al.*, 2005).

7.5. Cálculo do score z

Uma das principais metas de um laboratório analítico é o conhecimento da qualidade dos resultados obtidos. Uma das técnicas associadas em controle de qualidade é a representação de variáveis observadas em gráficos de controle. Esses gráficos devem ser usados para determinar se um sistema está em um estado de controle estatístico. Por meio desses gráficos de controle, pode-se visualizar ou controlar a variabilidade relativa de dados repetitivos (KEITH *et al.*, 1983). O uso desses gráficos em medidas analíticas tem sido bastante aplicado, principalmente em materiais de referência certificados.

Para a construção desses gráficos de controle é necessário o cálculo do escore z que leva em consideração a incerteza no valor certificado do material de referência.

O escore z foi obtido pela seguinte equação (BODE & VAN DIJK, 1997):

$$z = \frac{C_a - C_r}{\sqrt{s_a^2 + s_r^2}} \quad (25)$$

onde:

C_a = concentração obtida experimentalmente

C_r = valor certificado

s_a = incerteza na análise

s_r = incerteza no valor certificado

De acordo com esse critério, se $|z| < 3$ o valor obtido está dentro da faixa do valor certificado a um nível de confiança de 99% (BODE, 1996).

7.6. Resultados das análises para os materiais de referência certificados

As tabelas 16 e 17 apresentam os valores médios obtidos e incertezas expandidas associadas para os elementos nos materiais de referência certificados, Oyster Tissue 1566b – NIST e Mussel Tissue 2976 – NIST, pelas técnicas de AANI e AAS. Valores de concentrações em peso seco do material.

As figuras 36 e 37 apresentam os gráficos de controle, escore z dos valores médios, para os materiais de referência certificados Oyster Tissue 1566b – NIST e Mussel Tissue 2976 – NIST. Os valores de escore z foram calculados somente para os elementos que possuem valores certificados.

Tabela 16 – Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) no material de referência certificado - Oyster Tissue 1566b – NIST.

| Oyster Tissue 1566b | As | Ca | Cd | Co | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|---------------------------------------|-----------|--------|-----------|-------------|-----------|---------------|---------|-------------|-----------|---------|
| <i>Valor Certificado^a</i> | 7,65±0,65 | 838±20 | 2,48±0,08 | 0,371±0,009 | 205,8±6,8 | 0,0371±0,0013 | 3297±53 | 0,308±0,009 | 2,06±0,15 | 1424±46 |
| <i>Valor médio obtido^b</i> | 7,63±0,08 | 843±29 | 2,43±0,08 | 0,37±0,02 | 204±7 | 0,038±0,001 | 3313±28 | 0,32±0,01 | 2,12±0,08 | 1384±26 |
| <i>Nº de determinações</i> | 6 | 4 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 | 4 | 6 | 6 |
| <i>Erro relativo (%)</i> | 0,3 | 0,6 | 2,0 | 0,3 | 0,9 | 2,4 | 0,5 | 3,9 | 2,9 | 2,8 |

^aincertezas são: incertezas expandidas ($k = 2$) obtidas a partir de médias ponderadas de dois ou mais métodos analíticos;

^bincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$.

Tabela 17 – Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) no material de referência certificado Mussel Tissue 2976 – NIST.

| Mussel Tissue 2976 | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|---------------------------------------|----------|-----------|-----------|------------|------------|-----------|--------------|-------------|-----------|-----------|--------|
| <i>Valor Certificado^a</i> | 13,3±1,8 | 7600±300* | 0,82±0,16 | 0,61±0,02* | 0,50±0,16* | 171,0±4,9 | 0,061±0,0036 | 35000±1000* | 1,19±0,18 | 1,80±0,15 | 137±13 |
| <i>Valor médio obtido^b</i> | 13,0±0,1 | 7629±268 | 0,84±0,03 | 0,63±0,03 | 0,50±0,01 | 169±7 | 0,062±0,002 | 32574±253 | 1,18±0,04 | 1,95±0,08 | 140±2 |
| <i>Nº de determinações</i> | 6 | 4 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| <i>Erro relativo (%)</i> | 2,2 | 0,4 | 2,4 | 3,3 | 0 | 1,2 | 1,6 | 6,9 | 0,8 | 8,3 | 2,2 |

* Valores de referência (informativos)

^aincertezas são: incertezas expandidas ($k = 4,30$) obtidas a partir de médias ponderadas de dois ou mais métodos analíticos para os valores certificados;

incertezas expandidas obtidas a partir de resultados de AANI com k para 95% onde k é o valor de t-student de acordo com os seguintes graus de liberdade:

Ca: $v = 5$, Co: $v = 17$, Cr: $v = 2$ e Na: $v = 4$, para os valores informativos;

^bincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$.

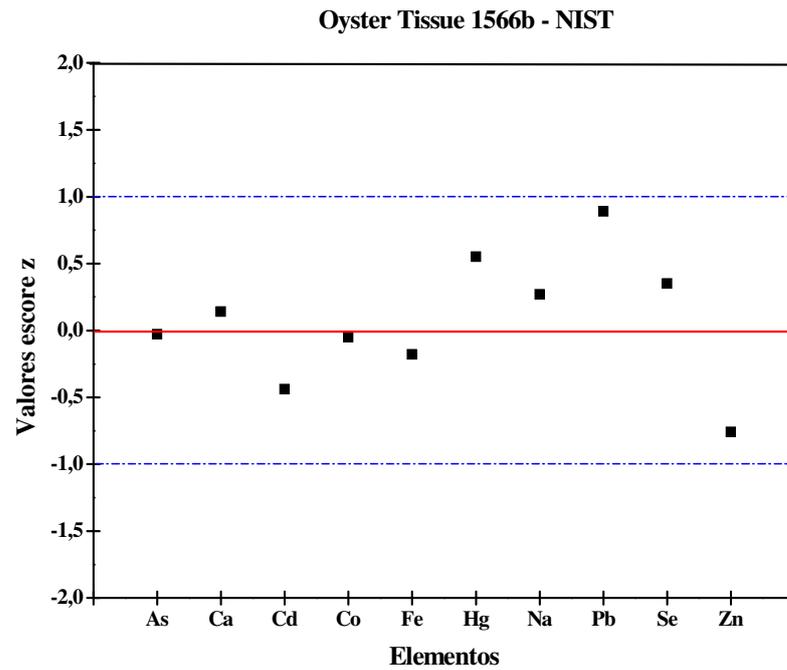


Figura 36 – Escore z para os valores médios obtidos para os elementos As, Ca, Cd, Co, Fe, Hg, Na, Pb, Se e Zn no material de referência certificado Oyster Tissue 1566b – NIST

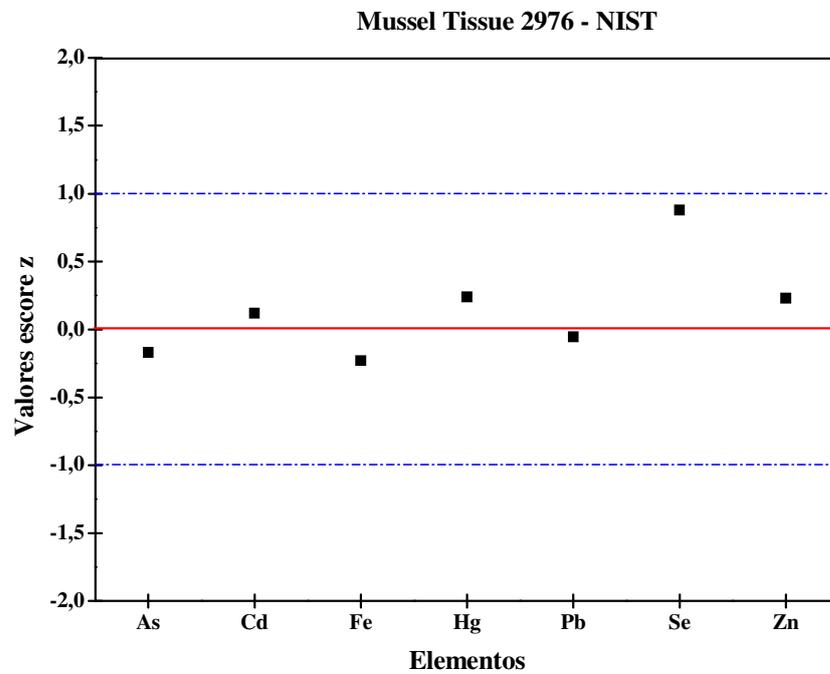


Figura 37 – Escore z para os valores médios obtidos para os elementos As, Cd, Fe, Hg, Pb, Se e Zn no material de referência certificado Mussel Tissue 2976 – NIST

Os resultados obtidos para as determinações de As, Ca, Cd, Co, Fe, Hg, Na, Pb, Se e Zn no material de referência certificado Oyster Tissue 1566b – NIST, estão satisfatórios, estando os erros relativos em torno de 0,3 a 4,0%.

Para o material de referência Musse Tissue 2976 – NIST os resultados obtidos para os elementos As, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, Hg, Na, Pb, Se e Zn estão satisfatórios, estando os erros relativos abaixo de 8,5%.

Analisando-se os gráficos de controle podemos verificar que os resultados foram bons para todos os elementos analisados nos materiais de referência certificados, por ambas as técnicas, os valores de z foram menores que 1, indicando assim que os valores obtidos estão dentro da faixa dos valores certificados a um nível de confiança de 99%.

7.7. Resultados das análises nas amostras de mexilhões da Praia da Cocanha

As determinações dos elementos nas amostras de mexilhões foram feitas em triplicatas. Os valores médios obtidos e as incertezas expandidas associadas estão apresentados na tabela 18. Os valores das concentrações foram obtidos em peso úmido da amostra.

A tabela 18 apresenta os teores dos elementos obtidos para as amostras de mexilhões da praia da Cocanha, coletados em janeiro de 2005 – Análise preliminar.

Tabela 18 – Resultados das análises preliminares ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões do Cultivo da Cocanha, pelas técnicas AANI e AAS – 1/2005.

| Cocanha^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|----------------------------|-----------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>Cultivo</i> | 1,69±0,03 | 511±21 | 0,065±0,003 | 0,10±0,01 | 0,118±0,003 | 16,7±0,6 | 0,019±0,001 | 6411±70 | <LD | 0,40±0,03 | 12,0±0,3 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$.

De acordo com as análises preliminares do cultivo de mexilhões situado na praia da Cocanha, apresentadas na tabela 18, podemos verificar que o cultivo de mexilhões apresenta valores para os teores de contaminantes inorgânicos como Cd, Pb e Hg dentro dos limites máximos de tolerância da portaria nº 685 de 27/08/1998 da Secretaria de Vigilância Sanitária, onde os limites são: Cd $1,0\mu\text{g.g}^{-1}$; Pb $2,0\mu\text{g.g}^{-1}$ e Hg $0,5\mu\text{g.g}^{-1}$ e $1,0\mu\text{g.g}^{-1}$ para peixes predadores (peso úmido) (BRASIL, 1998). Somente para o teor de As o valor obtido está um pouco acima do limite máximo de tolerância, que é de $1,0\mu\text{g.g}^{-1}$ (peso úmido). Para o Zn, Se e Cr o Brasil não possui um limite específico para os organismos aquáticos destinados ao consumo humano, portanto, pode-se considerar o limite de $50\mu\text{g.g}^{-1}$, $0,30\mu\text{g.g}^{-1}$ e $0,10\mu\text{g.g}^{-1}$ para as categorias de “outros alimentos, alimentos sólidos e qualquer alimento”, respectivamente, presente na legislação (peso úmido) (BRASIL, 1965). Podemos observar um teor um pouco acima do limite máximo somente para o Se.

Esses resultados podem ser comparados aos resultados obtidos por CURTIUS *et al.*, (2003) que realizaram um estudo em ostras da espécie *Crassostrea gigas* e mexilhões da espécie *Perna perna* em cultivos no estado de Santa Catarina. A tabela 19 ilustra os valores médios dos cultivos obtidos para as amostras de mexilhões pelos autores e os resultados obtidos para os mexilhões do cultivo da praia da Cocanha.

Tabela 19 – Valores médios para alguns metais e semi-metais obtidos em cultivos de Santa Catarina e o Cultivo da Praia da Cocanha – São Paulo (Valores em $\mu\text{g.g}^{-1}$ de peso seco).

| Elementos | Cultivos de Santa Catarina | Cultivo da Praia da Cocanha |
|------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| As | 14,2 | 15,2 |
| Cd | 0,9 | 0,6 |
| Cr | 2,4 | 1,0 |
| Hg | 0,16 | 0,17 |
| Pb | 0,6 | <0,011 |
| Se | 3,1 | 3,6 |
| Zn | 100 | 108 |

Os valores obtidos para o cultivo da Praia da Cocanha estão próximos aos valores obtidos por CURTIUS *et al.*, (2003).

De acordo com a CETESB que realizou um monitoramento das águas, sedimentos e mexilhões em três cultivos da Praia da Cocanha, Alemão, Careca e Zé Luis e um ponto controle situado próximo ao cultivo do Alemão, nos anos de 2005 e 2006 foi verificado que a qualidade das águas, sedimentos e mexilhões está dentro dos padrões estabelecidos pela legislação (CETESB, 2006).

Após a análise preliminar do cultivo da Cocanha verificou-se que este apresentava condições adequadas para os transplantes nos pontos de estudos.

7.8. Resultados das análises nas amostras de mexilhões transplantados

As determinações dos elementos nas amostras de mexilhões transplantados foram feitas em triplicatas. Os valores médios obtidos e as incertezas expandidas associadas estão apresentados nas tabelas 20, 21, 22 e 23. Os valores das concentrações foram obtidos em peso úmido da amostra.

As figuras 38 e 39 ilustram a variação sazonal dos elementos analisados nos locais de estudo.

Tabela 20 – Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS – Campanha de Outono 2005.

| Ponto de estudo ^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|--------|-------------|-----------|-------------|------|-------------|---------|-----|-----------|----------|
| <i>Cocanha (Controle)</i> | 2,07±0,03 | 724±29 | 0,077±0,003 | 0,13±0,01 | 0,088±0,003 | 27±1 | 0,026±0,001 | 6300±69 | <LD | 0,56±0,04 | 16,9±0,5 |
| <i>TEBAR</i> | 1,65±0,03 | 415±17 | 0,103±0,005 | 0,13±0,01 | 0,213±0,005 | 46±3 | 0,023±0,001 | 6156±68 | <LD | 0,47±0,03 | 15,6±0,4 |
| <i>Ilhabela</i> | 1,58±0,03 | 528±21 | 0,133±0,005 | 0,14±0,01 | 0,17±0,01 | 71±4 | 0,028±0,001 | 7033±77 | <LD | 0,45±0,03 | 15,4±0,4 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas k = 2.

Tabela 21 – Resultados das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS – Campanha de Inverno 2005.

| Ponto de estudo ^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|--------|-------------|-----------|-------------|------|-------------|---------|-------------|-----------|----------|
| <i>Cocanha (Controle)</i> | 2,07±0,04 | 554±22 | 0,113±0,005 | 0,13±0,01 | <LD | 27±1 | 0,024±0,001 | 5435±60 | <LD | 0,88±0,06 | 19,6±0,5 |
| <i>TEBAR</i> | 1,87±0,03 | 533±22 | 0,107±0,005 | 0,12±0,01 | 0,106±0,004 | 43±2 | 0,025±0,001 | 6007±66 | <LD | 0,77±0,05 | 18,0±0,5 |
| <i>Ilhabela</i> | 1,49±0,02 | 567±23 | 0,153±0,005 | 0,12±0,01 | 0,130±0,005 | 24±1 | 0,041±0,002 | 6537±72 | <LD | 0,53±0,04 | 16,2±0,5 |
| <i>Ilha das Palmas</i> | 1,50±0,02 | 740±30 | 0,053±0,002 | 0,20±0,01 | 0,21±0,01 | 63±3 | 0,016±0,001 | 6573±72 | 0,058±0,003 | 0,48±0,03 | 17,2±0,5 |
| <i>Itaipu</i> | 1,28±0,03 | 729±29 | 0,117±0,005 | 0,18±0,01 | 0,33±0,01 | 82±4 | 0,025±0,001 | 5664±62 | 0,070±0,003 | 0,56±0,03 | 19,2±0,4 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas k = 2.

Tabela 22 – Resultados das análises ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS – Campanha de Primavera 2005.

| Ponto de estudo ^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|---------|-------------|-------------|-------------|----------|-------------|---------|-------------|-----------|----------|
| <i>Cocanha (Controle)</i> | 3,15±0,05 | 719±29 | 0,089±0,004 | 0,070±0,005 | 0,52±0,02 | 10,7±0,6 | 0,012±0,001 | 5755±63 | <LD | 0,45±0,03 | 11,3±0,3 |
| <i>TEBAR</i> | 3,53±0,06 | 537±22 | 0,150±0,005 | 0,10±0,01 | 0,18±0,01 | 34±2 | 0,014±0,001 | 5995±66 | 0,037±0,002 | 0,53±0,03 | 13,1±0,3 |
| <i>Ilhabela</i> | 4,60±0,06 | 394±16 | 0,117±0,005 | 0,08±0,01 | 0,054±0,002 | 19,7±0,6 | 0,012±0,001 | 5214±57 | 0,018±0,001 | 0,54±0,03 | 14,1±0,3 |
| <i>Ilha das Palmas</i> | 2,06±0,03 | 1408±68 | 0,067±0,003 | 0,17±0,01 | 0,70±0,03 | 16,3±0,6 | 0,017±0,001 | 5269±58 | 0,036±0,002 | 0,43±0,03 | 21,9±0,6 |
| <i>Itaipu</i> | 2,79±0,04 | 467±19 | 0,066±0,003 | 0,11±0,01 | 0,22±0,01 | 13,7±0,6 | 0,012±0,001 | 4895±54 | 0,025±0,001 | 0,45±0,03 | 17,5±0,5 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$.

Tabela 23 – Resultados das análises ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS – Campanha de Verão 2006.

| Ponto de estudo ^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|---------|-------------|-----------|-------------|----------|-------------|---------|-------------|-----------|----------|
| <i>Cocanha (Controle)</i> | 2,74±0,04 | 434±18 | 0,100±0,005 | 0,14±0,01 | 0,20±0,01 | 48±2 | 0,015±0,001 | 6115±67 | <LD | 0,55±0,03 | 15,9±0,4 |
| <i>TEBAR</i> | 1,95±0,03 | 1038±42 | 0,127±0,005 | 0,11±0,01 | 0,18±0,01 | 11,3±0,6 | 0,015±0,001 | 5735±63 | <LD | 0,45±0,03 | 14,7±0,4 |
| <i>Ilhabela</i> | 1,88±0,03 | 551±22 | 0,110±0,005 | 0,11±0,01 | 0,086±0,004 | 22±1 | 0,013±0,001 | 6083±67 | <LD | 0,52±0,03 | 15,4±0,4 |
| <i>Ilha das Palmas</i> | 1,74±0,03 | 468±23 | 0,063±0,003 | 0,14±0,01 | 0,200±0,007 | 15,0±0,6 | 0,018±0,001 | 4563±50 | 0,037±0,002 | 0,38±0,03 | 17,5±0,5 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$.

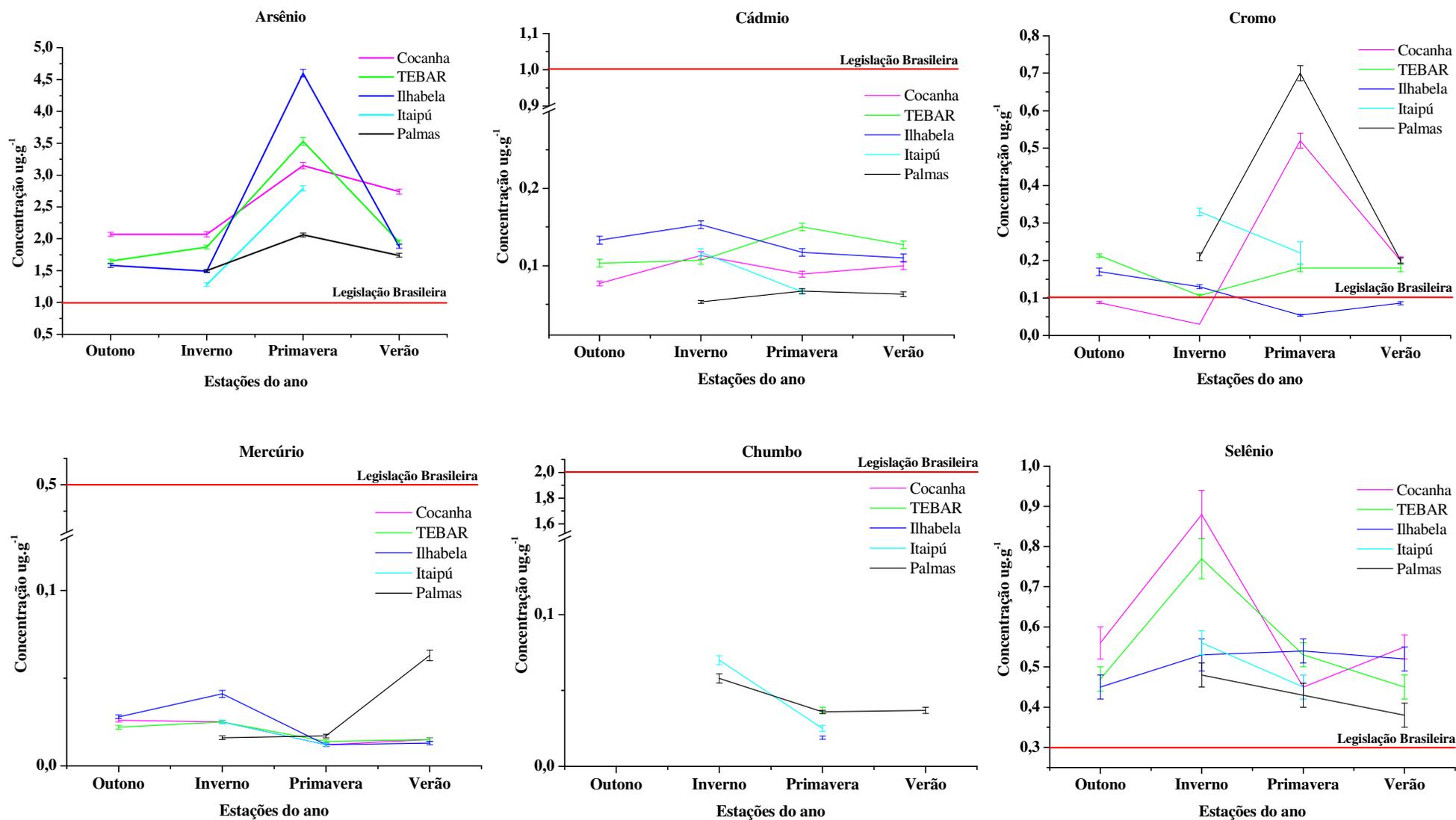


Figura 38 - Variação sazonal dos elementos analisados nos locais de estudo.

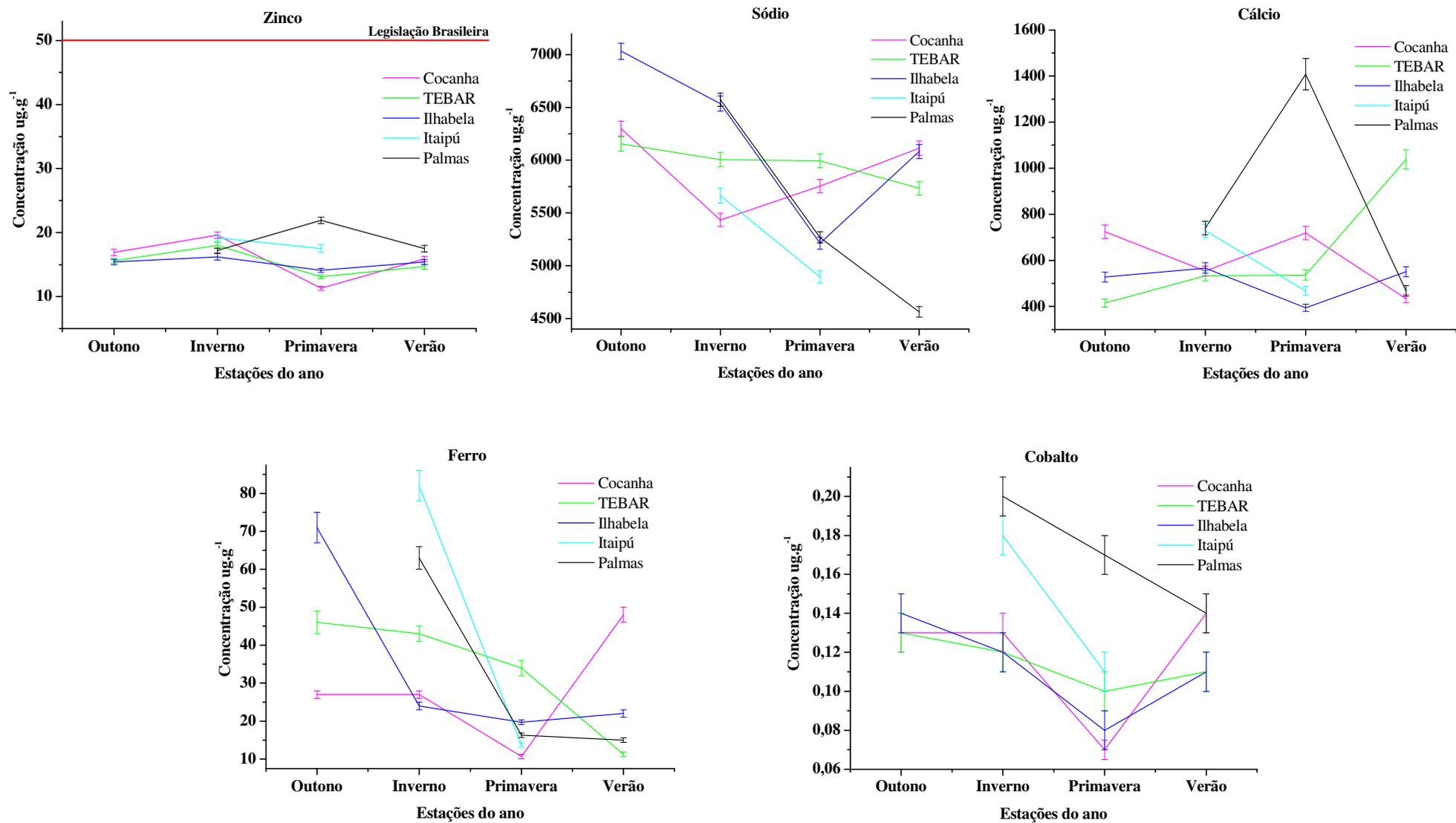


Figura 39 - Variação sazonal dos elementos analisados nos locais de estudo.

De acordo com as figuras 38 e 39 podemos verificar que os teores de As e Se apresentaram-se sempre acima dos limites máximos de tolerância estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 1998; BRASIL, 1965).

Para os elementos Cd, Hg, Pb e Zn os teores encontrados estiveram sempre abaixo dos limites máximos estabelecidos pela legislação. Para o elemento Cr somente nas estações do outono e inverno ($Cr < LD$) o ponto da Cocanha apresentou-se abaixo do valor estabelecido pela legislação, porém após o transplante dos organismos os teores de Cr ultrapassaram os valores do limite máximo. Nas estações da primavera e verão todos os pontos apresentaram teores de Cr acima do limite, exceto para o ponto da Ilhabela que após o transplante o teor do elemento apresentou uma diminuição permanecendo dentro do limite máximo.

Os resultados obtidos para o cromo podem ser comparados com os resultados obtidos por FRANCIONI *et al.*, (2004) que utilizaram mexilhões *Perna perna* que foram coletados em diversos locais, ao longo da costa do Rio de Janeiro, onde os conteúdos de Cu, Zn, Cd e Cr foram determinados. Dez espécimes foram coletados em cada um dos 18 sítios, desde a região relativamente limpa de Cabo Frio, até regiões bastante contaminadas, como a Baía de Sepetiba e a Baía da Guanabara. Dois dos sítios de coleta são em fazendas de criação de mexilhões, que podem sofrer influência da vizinha Baía de Sepetiba. Em geral, os níveis de elementos traço foram baixos, com exceção do cromo, que em alguns sítios excedeu o valor recomendado para o consumo humano, na legislação brasileira ($0,1 \text{mg.g}^{-1}$, na base úmida). Na fortaleza de Santa Cruz, na Baía de Guanabara, 50% dos organismos apresentaram concentrações de zinco acima dos valores permitidos pela legislação brasileira para alimentos ($50 \mu\text{g.g}^{-1}$).

No caso do cádmio, populações da Baía de Sepetiba e Barra de Guaratiba deveriam apresentar concentrações maiores do metal, no entanto, as concentrações de Cd foram maiores nas duas regiões supostamente menos contaminadas (Ilha Grande e Arraial do Cabo). Na estação 18 (sítio de cultivo do *Perna perna*) observou-se o valor mais alto de cádmio, onde surge a possibilidade de interpretação de que outro material usado na fazenda de mexilhões esteja contribuindo para esse alto teor. Foram testadas correlações entre as concentrações de vários elementos-traço, usando todo o conjunto de dados e agrupando de acordo com o sítio e, em geral, não foram encontradas regressões significativas, exceto em alguns sítios (Zn e Cd nas estações 6, 7 e 17 e Cu e Cr na estação 17).

Os resultados obtidos para os teores de Cd, Hg, Pb e Zn podem ser comparados com os resultados obtidos por PEREIRA, *et al.*, (2002) onde os teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn onde foram determinados nos bivalves *C. brasiliiana*, *P. perna* e *M. falcata* coletados em vários bancos naturais do litoral da Baixada Santista. No período de setembro de 1996 a fevereiro de 1997, foram coletadas e analisadas 70 amostras provenientes de doze bancos naturais. As determinações analíticas de Hg no tecido mole dos bivalves foram realizadas por espectrometria de absorção atômica com gerador de vapor frio, enquanto que o Pb, Cd, Zn e Cu foram analisados por ICP OES. Os resultados revelaram que as amostras apresentaram níveis de concentração permitidas pelas normas legais vigentes com relação aos teores de Pb, Cd, Hg e Cu analisados. Todas as amostras de mexilhão e sururu analisadas apresentaram teores de zinco abaixo do valor estabelecido pela legislação brasileira, que é de $50,0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, exceto todas as amostras de ostras *C. brasiliiana*.

Um outro trabalho a ser citado é o estudo realizado pela CETESB em 2001 onde foram encontrados níveis elevados de Pb, no sistema estuarino de Santos e São Vicente, para água e sedimento ($36\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $35\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente), porém as concentrações nos bivalves estudados não indicou contaminação (CETESB, 2001a).

Os resultados obtidos neste trabalho para o teor de mercúrio foram bem próximos aos resultados obtidos por ODŽAK *et al.*, (2000) que avaliaram a disponibilidade de mercúrio para organismos marinhos e também o risco à saúde pelo consumo dessas espécies. Um programa de monitoração foi iniciado em setembro de 1997 onde mexilhões *Mytilus galloprovincialis* foram transplantados de um cultivo para quatro estações da Baía de Kaštela, localizada na parte central do leste do Mar Adriático. Esta Baía foi profundamente contaminada por mercúrio, tendo sido a principal fonte de contaminação uma usina de cloro-álcalis, a qual foi operada por 40 anos. Os resultados obtidos no primeiro ano da monitoração sugeriram que o equilíbrio da concentração em mexilhões transplantados foi estabelecido em um curto período de tempo. Uma variação sazonal de mercúrio contido em tecidos moles e órgãos (brânquias e glândulas digestivas) foi observada em todas as estações. Os níveis de mercúrio encontrados nos tecidos estavam abaixo dos limites aceitos para consumo.

DAMATO *et al.*, (1997) analisaram mexilhões *Perna perna* da Baixada Fluminense e encontraram níveis médios de Hg entre $0,03$ e $0,06\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, valores esses próximos aos encontrados nas estações de outono e inverno no presente trabalho.

RODITI & FISHER, (1999) empregaram os isótopos Ag-110m, Cd-109, Cr-51, C-14, Hg-203 e Se-75 para estudar a possibilidade de empregar a “zebra mussel” (*Dreissena polymorpha*), abundante na América do Norte, como biomonitor de metais em ambientes aquáticos. Experimentos de laboratório demonstraram que a *D. polymorpha* acumula metais dissolvidos e existentes no material particulado em suspensão, de modo que essa espécie pode ser um biomonitor eficiente para a contaminação aquática.

CHONG & WANG, (2000) estudaram a assimilação de cádmio, crômio e zinco pelos bivalves *Perna viridis* (mexilhão) e *Ruditapes philippinarum* (marisco), que são frequentemente usados como biomonitores de contaminação costeira em águas tropicais e subtropicais. Foi determinada a eficiência de assimilação, AE, dos três elementos químicos citados, alimentando-os com diferentes espécies de fitoplâncton. Constatou-se que as AEs para Cd e Zn nos mariscos são mais altas que as AEs nos mexilhões. O estudo demonstrou que tanto os mexilhões quanto os mariscos são capazes de acumular metais a partir da alimentação ingerida e o tipo de alimentação parece ter efeitos diferentes na assimilação de metais em diferentes espécies de bivalves.

Os valores obtidos para todos os elementos estudados foram comparados usando análise de variância (one-way analysis of variance) (ANOVA; Programa Origin, versão 7.5, com teste de Tukey com 95% de confiança (VIEIRA, 1997).

Para uma análise sazonal foi verificado:

Outono:

Foi observado que para os elementos Co e Na não ocorreu uma acumulação significativa entre os locais estudados quando comparado com o ponto da Cocanha. Para os elementos Cd, Fe e Cr, ocorreram acumulações significativas entre os locais estudados (TEBAR e Ilhabela) quando comparados com o ponto da Cocanha. Já para os elementos Se e Zn houve uma queda na concentração desses elementos após o transplante, somente para o ponto de Ilhabela. Para o As e Ca ocorreu uma diminuição na concentração dos elementos nos dois pontos estudado quando comparado ao controle. Para o elemento Hg quando comparado ao controle foi observado uma diminuição na concentração somente para o ponto do TEBAR.

Inverno:

Todos os elementos apresentaram diferenças significativas nas suas concentrações. Os elementos que tiveram suas concentrações aumentadas após o transplante nos pontos de Itaipú e Ilha das Palmas foram: Ca, Co, Pb, Fe Cr, o elemento Na teve acumulação

somente para o ponto de Ilha das Palmas. Para os pontos do TEBAR e Ilhabela os elementos que sofrem aumento na concentração foram: Na e Cr. Para o elemento Fe o aumento na concentração ocorreu somente no TEBAR, para o Cd e o Hg tivemos um aumento somente na Ilhabela.

O elemento que apresentou diminuição na concentração para todos os pontos após o transplante foi o Se. O As teve uma queda na concentração para os pontos de Ilhabela, Itaipu e Ilha das Palmas, para o Zn a diminuição ocorreu nos pontos da Ilhabela e Ilha das Palmas e tanto para o Cd quanto para o Hg ambos apresentaram uma diminuição no ponto de Ilha das Palmas.

Primavera:

Para os elementos Fe, Pb, Zn todos os pontos estudados apresentaram um aumento significativo na concentração desses elementos. Para os pontos do TEBAR e Ilhabela as concentrações dos elementos Cd e Se apresentaram um aumento significativo. No ponto da Ilhabela ocorreu um aumento na concentração para o elemento As e Co para o ponto do TEBAR. O ponto de Ilha das Palmas apresentou uma acumulação após o transplante para os elementos Co, Hg, Cr e Ca e para Itaipu ocorreu acumulação somente para o Co.

Os elementos Na e Cd apresentaram uma diminuição nas concentrações para os pontos de Santos. Para os pontos do TEBAR, Ilhabela e Itaipu os elementos que apresentaram uma diminuição na concentração foram: Ca e Cr, e o As apresentou queda de concentração somente em Ilha das Palmas.

Verão:

Para o ponto de Ilha das Palmas foi verificado um aumento nas concentrações dos elementos Pb, Hg e Zn e Cd somente para o ponto do TEBAR.

Para os elementos Fe e As todos os pontos apresentaram diminuição das concentrações. A Ilhabela apresentou uma diminuição significativa de Cr e Co, o ponto do TEBAR para Na, Ca, Se, Co e Zn, e Ilha das Palmas para Na, Se e Cd.

Levando-se em consideração todas as estações do ano foi observado que para os elementos Cd, Co, Cr, Pb, Se, Zn, Na, Ca e Fe a um nível de confiança de 95% a acumulação desses elementos não apresentou uma diferença significativa.

Já para o As a acumulação pelos organismos apresentou-se maior na estação da primavera.

O comportamento da acumulação do mercúrio é afetado pelas estações do ano, onde a maior acumulação do elemento pelos organismos se dá no inverno.

Foi observado também que para os pontos do TEBAR e Ilhabela os elementos Cd, Fe, Cr tiveram suas concentrações aumentadas após o transplante em quase todas as estações do ano.

Para os pontos de Santos tivemos sempre a presença do elemento Pb, o qual não foi identificado no ponto controle. Outros elementos também apresentaram acumulações em quase todas as estações do ano para esses pontos de estudo, tais como: Co, Fe, Zn, Cr.

Com o intuito de se compreender melhor o comportamento dos elementos analisados para os pontos do presente estudo, foi realizada a análise fatorial com extração por componentes principais (PCA) para analisar as correlações entre as variações das concentrações de todos os elementos em relação aos seus respectivos controles (Cocanha), em todos os locais estudados e estações do ano.

Para a análise foi utilizado o programa estatístico R (R TEAM, 2006).

A figura 40 ilustra os padrões de comportamento entre os pontos estudados, concentrações dos elementos em relação ao controle e as estações do ano.

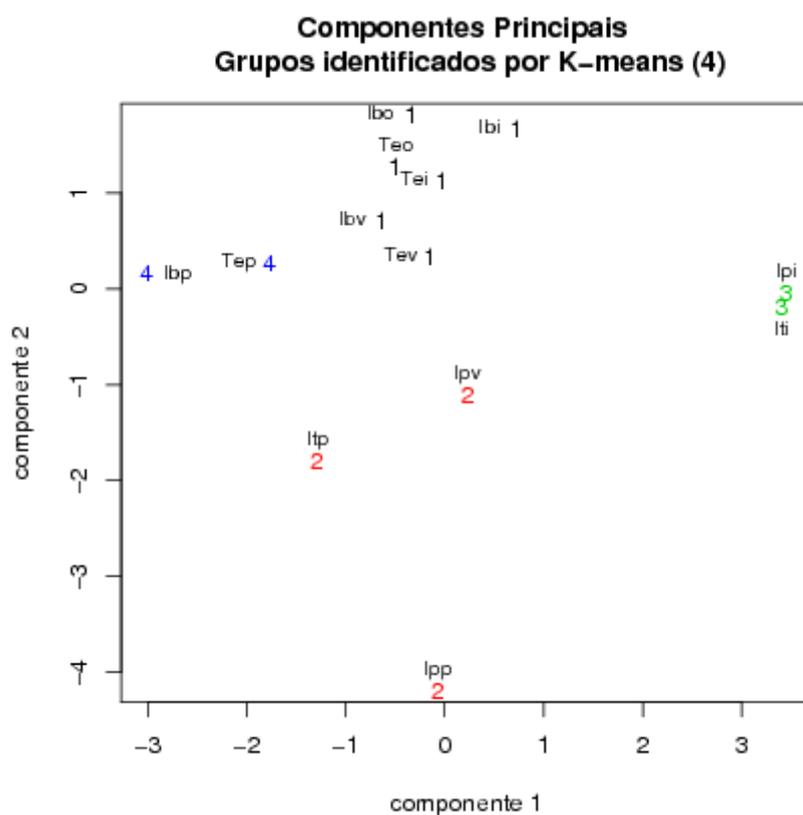


Figura 40 – Padrões de comportamento entre os pontos estudados, concentrações dos elementos em relação ao controle e as estações do ano

Podemos verificar que os pontos do TEBAR e Ilhabela (grupo 1) para as estações do outono, inverno e verão apresentaram comportamentos semelhantes das variações percentuais em relação aos seus controles (Cocanha), enquanto que para a estação da primavera (grupo 4) esses pontos tiveram um comportamento diferente das outras estações.

Para os pontos de Santos tivemos dois grupos com comportamentos diferentes, o grupo que inclui Itaipu e Ilha das Palmas na estação da primavera e Ilha das Palmas no verão, e o grupo 3 que é constituído pelos pontos de Itaipu e Ilha das Palmas no inverno.

CAPÍTULO 8

8. CONCLUSÕES

O método de análise por ativação com nêutrons instrumental permitiu determinar as concentrações dos elementos Na, As, Ca, Se, Co, Zn, Cr e Fe nas amostras de mexilhões com exatidão e precisão adequada, como pode ser confirmado pela análise dos materiais de referência, Oyster Tissue 1566b – NIST e Mussel Tissue 2976 – NIST, que foram utilizados no presente trabalho.

Da mesma forma os resultados para Hg, Cd e Pb por CV AAS e ET AAS apresentaram exatidão e precisão adequada para esses mesmos materiais de referência.

Podemos concluir que o procedimento de abertura da amostra (digestão), para materiais marinhos, foi adequado para todos os materiais de referência e amostras analisados por ETAAS e CVAAS, para Hg, Cd e Pb. Pode se observar que a digestão, pelo método de AAS, é simples, rápida e eficaz para esse tipo de matriz, permitindo uma obtenção de resultados rápida e um número maior de análises.

No período estudado os bivalves provenientes do cultivo da Cocanha apresentaram teores de As, Cr e Se acima dos valores estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 1965; BRASIL, 1998). Para os elementos Ca, Na, Co, Fe, Zn, Cd, Hg e Pb verificou-se que os valores estavam abaixo dos valores estabelecidos pela legislação brasileira.

Após os transplantes dos mexilhões para os pontos de estudo foi observado um aumento nas concentrações de todos os elementos estudados, indicando assim a boa aplicabilidade do mexilhão *Perna perna* como biomonitor.

Foi observado também que para os pontos do TEBAR e Ilhabela os elementos Cd, Fe, Cr tiveram suas concentrações aumentadas após o transplante em quase todas as estações do ano. Para o ponto do TEBAR o aumento dos teores desses elementos nos organismos provavelmente é proveniente de efluentes da indústria de petróleo e atividades intensas de embarcações no local. Para o ponto da Ilhabela existem duas saídas de efluentes municipais e uma de efluente industrial, vindo do TEBAR, e intensa movimentação de barcos, visto que os mexilhões foram transplantados próximos à marina.

Para os pontos de Santos tivemos sempre a presença do elemento Pb, o qual não foi identificado no ponto controle. Outros elementos também apresentaram acumulações em quase todas as estações do ano para esses pontos de estudo, tais como: Co, Fe, Zn, Cr e a presença desses elementos nos organismos provavelmente é proveniente dos estuários de Santos e São Vicente.

CAPÍTULO 9

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANHA, S.; NISHIKAWWA, A. M.; TAKA, T.; SALIONE, E. M.C. Níveis de cádmio e chumbo em fígado e rins de bovinos. **Rev. Instituto Adolfo Lutz**, v. 54, n.1, p. 16-20, 1994.
- BAINY, A. C. D.; ALMEIDA, E. A.; MÜLLER, I. C. Biochemical responses in farwed mussel *Perna perna* transplanted to contaminated sites on Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Marine Environmental Research**, n. 50, p. 411-416, 2000.
- BARNES ROBERT, D. **Zoologia dos invertebrados**. Roca: 4º edição, 1984.
- BECHMAN, I. E.; STURUP, S.; KRISTENSEN, L. V. High resolution ICP-MS determination and multivariate evaluation of 10 trace elements in mussels from 7 sites in Limfjorden, Denmark. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 368, n. 7, p. 708-714, dec. 2001.
- BEIRÃO, H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; SANTO, M. L. P. E. Processamento e industrialização de moluscos. In: **Seminário e Workshop – Tecnologias para aproveitamento integral do pescado**, 2000. Campinas, São Paulo, ITAL, Centro de tecnologia de carnes, p. 38-84.
- BIDONE, E. D.; CASTILHOS, Z. C.; SANTOS, T. J. S.; SOUZA, T. M. C.; LACERDA, L. D. Fish contamination and human exposure to mercury in tartarugalzinho River, Amapá State, Nothern Amazon, Brazil. **A screeniny approach, water, air and soil pollution**, v. 97, p. 9-15, 1997.

- BODE, P. **Instrumental and Organizational Aspects of a Neutron Activation Analysis Laboratory**. The Netherlands, 1996. Ph. D. Thesis – Delft University of Technology.
- BODE, P.; VAN DIJK, C. P. Operational management of results in INAA utilizing a versatile system of control charts. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 215, n.1, p. 87-94, 1997.
- BOLDRINI, C. V.; PEREIRA, D. N. Metais pesados na baía de Santos e estuários de Santos e São Vicente, Bioacumulação. **Ambiente.**, v. 1, n. 3, p. 118-127, 1987.
- BOYD, G. E. “Method of Activation Analysis”. **Anal.Chem.**, v. 21, p. 335-347, 1949.
- BOWEN, A. J. M. **Environmental chemistry of elements**. Academic Press., New York, 1979.
- BRASIL. Leis, Decretos, etc. Decreto no 55871 de 26 de Março de 1965. **Diário Oficial da República federativa do Brasil**, Brasília 09 de abril de 1965. Seção1, parte1, p. 3611, 1965.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998 fixa limites máximos de tolerância de contaminantes químicos em alimentos. **Diário Oficial da República federativa do Brasil**, Brasília, 24 de setembro de 1998. Seção 1, parte 1, p.1415-37, 1998.
- BROWN, H.; GOLDBERG, E. “The Neutron Pile as a Tool in Quantitative Analysis; The Gallium and Palladium Content of Iron Meteorites”. **Science**, v. 109, p. 347-353, 1949.
- BUZINARO, E. F.; ALMEIDA, R. N. A., MAZETO, G. M. F. S. Biodisponibilidade do Cálcio Dietético. **Arq. Brás. Endocrinol. Metab**, v. 50, n.5, p. 852-861, 2006.

CALLIL, C. T., Utilização de moluscos como indicadores de mercúrio: proposta de biomonitoração. In: **5º ECOTOX - Encontro Brasileiro de Ecotoxicologia**, Itajaí-SC-Brasil, 05 a 08/10/98.

CARDOSO, L. M. N.; CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos** – Série cadernos de referência ambiental, v.6, Salvador, Centro de recursos ambientais, CRA, 2001, 122p. Disponível em:

<http://www.seia.ba.gov.br/v3/busca/index.cfm?criterio=c%E1dmio>

Acesso em: 01/10/2006.

CATHARINO, M. G. M. **Análise de mercúrio e selênio em materiais biológicos pelo método de análise por ativação com nêutrons**. São Paulo, 2002. Tese (Mestrado) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

CEMAR - CENTRO EXPERIMENTAL DE MARICULTURA. Mexilhão.

Disponível em: http://siaiacad04.univali.br/index_mar.php?id=25

Acesso em: 22/8/2006.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Estabelecimento de padrões de referência de qualidade e valores de intervenção para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. Relatório parcial. Relatório técnico CETESB 110p. 1997.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Sistema estuarino de Santos e São Vicente**. Relatório técnico CETESB 178p. 2001a.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Balneabilidade das praias paulistas**. Relatório técnico CETESB 208p. 2001b.

CETESB - COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Balneabilidade das praias paulistas**. Relatório técnico CETESB 206p. 2002.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL.
Relatório de qualidade das águas litorâneas do estado de São Paulo: **Emissários Submarinos**. CETESB 235p. 2004.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL.
Relatório de qualidade das águas litorâneas do estado de São Paulo: **Balneabilidade das praias 2005**. CETESB 254p. 2006.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL.
Relatório de qualidade das águas litorâneas no estado de São Paulo: **Balneabilidade das praias 2006**. CETESB 341p. 2007.

CHAFIK, A.; CHEGGOUR, M.; COSSA, D.; SIFEDDINE, S. B. M. Quality of Moroccan Atlantic coastal waters: water monitoring and mussel watching. **Aquatic living resources**, v. 14, n. 4, p. 239-249, 2001.

CHONG, K.; WANG, W. X. Assimilation of Cd, Cr and Zn by the green mussel *Perna viridis* and the clam *Ruditapes philippinarum*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n.6, p. 1660-1667, 2000.

COSTA, M.; PAIVA, E.; MOREIRA, I. Total mercury in *Perna perna* mussels from Guanabara Bay-10 years later. **The Science of the Total Environment**, v.261, n.1-3, p. 69-73, 2000.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Manole: 1^a Ed., Barueri, SP, 2005.

CURRIE, L. A. Detection and quantification limits: origins and historical overview. **Anal. Chim. Acta**, v.391, p.128-134, 1999.

CURTIUS, A. J.; SEIBERT, E. L.; FIEDLER, H. D. Avaliando a contaminação por elementos traço em atividades de maricultura. Resultados parciais de um estudo de caso realizado na Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 44-52, 2003.

DAMATO, C.; SÃO CLEMENTE, S. C.; SANTOS, N. N. Levantamento sobre os índices de mercúrio presentes em mexilhões (*Perna perna* L.) oriundos da Praia de Piratininga, e Baías de Guanabara e Sepetiba. **Higiene Alimentar**, v. 11, n. 50, p. 30-35, 1997.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **A Embrapa e a Aqüicultura - Demandas e prioridades de pesquisa**. EMBRAPA Informação tecnológica 35p. 2002.

<http://www22.sede.embrapa.br/unidades/uc/sge/texto11.pdf>

Acesso em 13/12/2006.

EURACHEM/CITAC, **Guide on Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement**, 2nd ed., 2000.

EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A., 2006.

Disponível em: <http://www.epagri.rct-sc.br/>

Acesso em: 22/8/2006.

FAGUNDES, L.; GELLI, V. C.; OTANI, M. N.; VICENTE, M. C. M.; FREDO, C. E. Perfil sócio-econômico dos mitilicultores do litoral paulista. **Informações Econômicas**, v. 34, n. 5, p. 47-58, 2004a.

FAGUNDES, L.; GELLI, V. C.; OTANI, M. N.; VICENTE, M. C. M.; FREDO, C. E. Mexilhões: Potencial de cultivo no Litoral Paulista. **Instituto de economia agrícola**. Portal do Governo do estado de São Paulo, 2004b.

Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/OUT/verTexto.php?codTexto=1304>

Acesso em: 6/9/2006

FARIAS, L. A. **Avaliação do conteúdo de mercúrio, metilmercúrio e outros elementos de interesse em peixes e em amostras de cabelos e dietas de pré-escolares da região Amazônica.** São Paulo, 2006. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

FETT, M. S.; RODEL, N. **Criação de mariscos.** SBRT - SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS – SENAI-RS, 2006

Disponível em:

<http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt3404.pdf?PHPSESSID=78c42f0c1ee7f03eacdd809a8f6180ad>

Acesso em: 22/8/2006.

FRANCIONI, E.; WAGENER, A. L. R.; CALIXTO, R. C.; BASTOS, G. C. Evaluation of *Perna perna* (Linné, 1758) as a tool to monitoring trace metals contamination in estuarine and coastal waters of Rio de Janeiro, Brazil. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.15, n.1, São Paulo jan./fev., 2004.

FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**, 9^a ed., Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1992.

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. In: **5º ECOTOX - Encontro Brasileiro de Ecotoxicologia**, Itajaí-SC-Brasil, 05 a 08/10/98.

FURTADO, V. V.; BÍCEGO, M. C.; WEBER, R. R. Modelo de dispersão de óleo na região do Canal de São Sebastião. In: **Simpósio sobre ecossistemas da costa Sul e Sudeste brasileira - Síntese dos conhecimentos.** Cananéia, 1987. São Paulo, Academia de Ciências do Estado de São Paulo, n.2, p. 371-388. Publicação ACIESP, N54-II.

- GALVÃO, J. A. **Qualidade microbiológica da água de cultivo e de mexilhões *Perna perna* (Linnaeus,1758) comercializados em Ubatuba, SP.** Piracicaba – São Paulo, 2004. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- GAŠPIĆ, Z. K; ODŽAK, N.; UJEVIĆ, I.; ZVONARIĆ, T.; HORVAT, M; BARIĆ, A. Biomonitoring of mercury in polluted coastal areas using transplanted mussels. **Science of the total environment**, v. 368, n. 1, p. 199-209, 2006.
- GELLI, V. C.; MACHADO, I. C.; PEREIRA, O. Diagnóstico da criação de moluscos bivalves no litoral paulista. In: **Simpósio Brasileiro de Oceanografia**, 1., 2002, Anais. São Paulo: USP/Instituto Oceanográfico, 2002.
- GILLESPIE, S.; KEVANY, J.; MASON, J. **Controlling Iron Deficiency**. Geneva: United Nations/Administrative Committee on Coordinations/Subcommittee on Nutrition, 1991.
- GONTIJO, B.; BITTENCOURT, F. Arsênio - Uma revisão histórica. **An. Bras. Dermatol.**, v.80, n.1, Rio de Janeiro, Jan./Feb. 2005.
- GONZÁLEZ, F. H.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.
- GUM. **Guia para a expressão da incerteza de medição**, ABNT, INMETRO, 3^a Ed. Brasileira, Edição reservada, agosto de 2003.
- GUNDERSEN, P.; OLSVIK, P. A.; STEINNES, E. Variations in heavy metal concentrations and speciation two mining-polluted streams in central Norway. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 5, p. 978, 2001.
- HASWEEL, S. J. **Atomic Absorption Spectrometry - Theory, design and applications**. Amsterdam - Elsevier, 1991.

HEVESY, G.; LEVI, H. "The Action of Neutron on the Rare Earth Elements". **Det. Kgl. Danske Videnskabernes Selskab, Matematisk-fysiske Meddelelser XIV**, v. 5, p. 3-34, 1936

HiQ – PRODUTOS, EQUIPAMENTOS E SERVIÇOS DE GASES ESPECIAIS.
Espectrometria de absorção atômica.
Disponível em: <http://www.hiq.aga.com.br>
Acesso em 23/03/2007.

HORVAT, M. Mercury analysis and speciation. **In Environmental sample in global and regional mercury cycles: Sources, fluxes and mass balances**, p. 1-31. W. Baeyens et al (eds), 1996.

IAEA - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory**. Vienna: 1990, (IAEA-TECDOC-564).

IMW - INTERNATIONAL MUSSEL WATCH. **Initial implementation phase. Draft Final Report**. 1993.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia. Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Revisão 2, DOQ-CGCRE-008, 31p, junho/2007.

KEHRIG, H. D. A.; COSTA, M.; MOREIRA, I.; MALM, O. Methylmercury and total mercury in estuarine organisms from Rio de Janeiro, Brazil. **Environmental Science and Pollution research**, v.8, n. 4, p. 275-279, 2001.

KEITH, L.H.; CRUMMETT, W.; JR. DEEGAN, J.; LIBBY, R.A.; TAYLOR, J. K.; WENTLER, G. Principles of environmental analysis. **Anal. Chem.**, v. 55, p. 2210-2218, 1983.

KROSCWITZ, J.I. **Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology**. 4th ed., New York: John Wiley & Sons, v. 14, 1995.

LACERDA, L. D.; MARINS, V. R. Anthropogenic mercury emissions to the atmosphere in Brazil: The impact of gold mining. **J. Geochemical Exploration**, v.58, p.223-229, 1997.

LACERDA, L. D.; BIDONE, E. D.; GUIMARÃES, A. F.; PFEIFFER, W. C. **An. Acad. Bras. Cienc.** n. 66, p. 373, 1994.

LAMPARELLI, C. C.; MOURA, D. O.; VINCENT, R. C.; RODRIGUES, F. O.; LOPES, C. F.; MILANELLI, J. C. C. **Mapeamento dos ecossistemas costeiros do estado de São Paulo**. São Paulo, BR, SMA/CETESB, 1999.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 1985.

LIMA, I. V.; PEDROZO, M. F. M. **Ecotoxicologia do ferro e seus compostos** - Série cadernos de referência ambiental, v.4, Salvador, Centro de recursos ambientais, CRA, 2001. Disponível em:
<http://www.seia.ba.gov.br/v3/busca/index.cfm?criterio=ferro>
Acesso em 12/10/2006.

LITOTAL VIRTUAL. Notícias de Caraguatatuba - **Fazenda de Mexilhão atrai turistas**. Nº 1688, 2007. Disponível em:
<http://www.litoralvirtual.com.br/noticias/2007/01/18.html#Caraguatatuba>
Acesso em 12/11/2006.

LITOTAL VIRTUAL. Notícias de São Sebastião – **Tebar é multado em R\$ 100 mil por vazamento de óleo no mar**. Nº 1307, 2005. Disponível em:
<http://www.litoralvirtual.com.br/noticias/2005/06/24.html#SaoSebastiao>
Acesso em 15/8/2006

- LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection - A closer look at the IUPAC definition. *Anal. Chem.*, v.55, n.7, p.712A-24A, 1983.
- LUNETTA, J. E. Fisiologia da reprodução de mexilhões (*Mytilus perna* L. Molusca Lamellibranchia). *Bol. Zoo. Bio. Mar.*, v. 26, p. 33-111, 1969.
- MAGALHÃES A. R. M. **Teor de proteínas do mexilhão *Perna perna* (Linné, 1758) (Mollusca, Bivalvia) em função do ciclo sexual.** São Paulo, 1985. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia.** São Paulo: Roca, 1998.
- 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. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 1, n. 2, p. 195-198, 2006.
- MAIHARA, V. A. **Avaliação do conteúdo de alguns elementos essenciais e tóxicos em dietas de crianças e idosos, pelo método de análise por ativação com nêutrons.** São Paulo, 1996. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- MALM, O. Especificação de mercúrio metilmercúrio em matrizes biológicas. In: **X Encontro Nacional sobre contaminates inorgânicos**, Belo Horizonte-MG-Brasil, 25 a 27/10/2006. Livro de resumos expandidos, p.48 a 51, 2006.
- MARINHA DO BRASIL, 2006.
Disponível em: <http://www.mar.mil.br/8dn/deltiao.htm>
Acesso em 26/3/2007.

- MARKERT, B.; WAPPELHORST, O.; WECKERT, V.; HERPIN, U.; SIEWERS, U.; FRIESE, K.; BREULMANN, G. The use of bioindicators for monitoring the heavy-metal status of the environment. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 240, n.2, p. 425–429, 1999.
- MARQUES, H.L.A. **Criação Comercial de Mexilhões**. São Paulo: Ed. Nobel, 1998.
- MAURO, J. B. Metilação e incorporação de mercúrio pela biota da Baía de Guanabara (RJ), Brasil. In: **VII COLAC MAR - Congresso Latino Americano sobre Ciências do Mar**, 1997.
- MAVROPOULOS, E. **A hidroxiapatita como absorvedor de metais**. Rio de Janeiro, 1999. Dissertação (Mestrado) - Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Disponível em:
<http://portaldeses.cict.fiocruz.br/pdf/FIOCRUZ/1999/mavropoulem/capa.pdf>
Acesso em 11/12/2006.
- McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992.
- 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. In: **5º ECOTOX - Encontro Brasileiro de Ecotoxicologia**, Itajaí-SC-Brasil, 05 a 08/10/98.
- MIKAC, N.; KWOKAL, Ž.; MARTINČIĆ, D.; BRANICA, M. Uptake of mercury species by transplanted mussel *Mytilus galloprovincialis* under estuarine conditions (Krka river estuary). **The Science of the Total Environment**, v.184, p. 173-182, 1996.
- MONTEIRO, C. A. F. A dinâmica climática e as chuvas no Estado de São Paulo: estudo geográfico sob a forma de atlas. Laboratório de Climatologia, Instituto de Geografia. Universidade de São Paulo, São Paulo, p.130, 1973.

MORA, S.; FOWLER, S.W.; WYSE, E.; AZEMARD, S. Distribution of heavy metals in marine bivalves, fish and coastal sediments in the Gulf and Gulf of Oman. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, p. 410-424, 2004.

MOREIRA, E. G.; MAIHARA, V. A.; CATHARINO, M. G. M.; VASCONCELLOS, M. B. A.; **Report on NIST-CCHEN SIM 8.16P Pilot Study**. Elements in Seafood, 2005.

MOREIRA, E. G.; VASCONCELLOS, M. B. A.; SAIKI, M. Uncertainty assessment in instrumental neutron activation analysis of biological materials. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 269, n.2, p. 377–382, 2006.

NAS - NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. Washington: National Academy Press, p. 197, 290, 442 e 772, 2000a.

Disponível em:

<http://books.nap.edu/catalog/10026.html>

Acesso em 18/5/2007.

NAS - NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids**. Washington: National Academy Press, p. 284-324, 507-509 2000b.

Disponível em:

<http://www.nap.edu/catalog/9810.html>

Acesso em 18/5/2007.

NAS - NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. **Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline.** Washington: National Academy Press, p. 306, 1998.

Disponível em:

<http://www.nap.edu/catalog/6015.html>

Acesso em 18/5/2007.

NASCIMENTO, E. S.; CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do mercúrio e seus compostos** - Série cadernos de referência ambiental, v.1, Salvador, Centro de recursos ambientais, CRA, 2001. Disponível em:

<http://www.seia.ba.gov.br/v3/busca/index.cfm?criterio=mercúrio>

Acesso em 12/10/2006.

NIST – National Institute of Standards and Technology, NIST (1998). Certificate of analysis, Standard Reference Material 2976, **Mussel Tissue**, USA.

NIST – National Institute of Standards and Technology, NIST (2001). Certificate of analysis, Standard Reference Material 1566b, **Oyster Tissue**, USA.

ODŽAK, N.; ZVONARIĆ, T.; GAŠPIĆ, Z. K.; HORVAT, M.; BARIĆ, A. Biomonitoring of mercury in the Kaštela Bay using transplanted mussels. **The Science of the Total Environment**, v. 261, p. 61-68, 2000.

OKIGAMI, H.. **Selênio**. In: Henry's Corner - Artigos Pessoais: no ar desde 2000.

Disponível em:

http://www.science.com.br/henrys_corner/artigos_pessoais/selenio.pdf

Acesso em: 28/08/2001.

OLIVEIRA, P. V. **Curso - Espectrofotometria de absorção atômica: da teoria à prática (Apostila)**. Associação Brasileira de Química – Seção Regional de São Paulo, São Paulo, 2000.

O.M.S. Elementos traço na nutrição e saúde humanas. Roca, São Paulo, p. 297, 1998).

ORTOLANI, E.L. Macro e microelementos. In: **SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, p.641-651, 2002.

OLSZEWER, E.; SMITH, B.; LAGANÁ, S. **Manual de interpretação do mineralograma – Exame do cabelo**. Tecnopress: São Paulo, 1ª edição, 1998.

OSTAPCZUK, P.; BUROW, M.; MAY, K.; MOHL, C.; FRONING, M.; SÜBENBACH, B.; WAIDMANN, E.; EMONS, H. Mussel and algae as bioindicators for long-term tendencies of element pollution in marine ecosystems. **Chemosphere**, v. 34, n. 9/10, p. 2049-2058, 1997.

PAOLIELLO, M. M. B.; CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos** – Série cadernos de referência ambiental, v.3, Salvador, Centro de recursos ambientais, CRA, 2001. Disponível em:
<http://www.seia.ba.gov.br/v3/busca/index.cfm?criterio=chumbo>
Acesso em 12/10/2006.

PEREIRA, O. M.; HENRIQUES, M. B.; ZENEON, O.; SAKUMA, A.; KIRA, C.S. Determinação dos teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn em moluscos (*Crassostrea brasiliensis*, *Perna perna* e *Mytella falcata*). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 61, n. 1, p. 19-25, 2002.

PEREIRA, W. S.; FREIRE, R. S. Zero-valent iron: a new approach for treatment of waters contaminated with organic pollutants. **Quím. Nova**, v. 28, n.1, p.130-136, 2005.

PFEIFFER, W.C.; LACERDA, L. D.; FISZMAN, M.; LIMA, N. R.; Metais pesados no pescado do Baía de Sepitiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cien. Cult.**, v. 37, p. 297-302, 1985.

PICCOT, D. **Comunicação pessoal**, 1989.

PORTO, A.; OLIVEIRA, L. **Tabela da Composição de Alimentos**. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, p. 94-95, 2006.

Disponível em:

<http://www.nestle.pt/BemEstar/Presentation/Nutricao/Alimentos.aspx?id=119>

Acesso em 12/2/2006.

RIOS, E. **Sea Shells of Brazil**. Rio Grande, RS: Editora da FURG, 2nd Edition, 1984, p. 368.

ROCHA, A. A.; PEREIRA, D. N.; PÁDUA, H. B. Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da Represa Billings, São Paulo, (Brasil). **Rev. Saúde públ.**, São Paulo, v. 19, p. 401-410, 1985.

ROCZANSKI, M.; COSTA, S. W.; BOLL, M. G.; OLIVEIRA NETO, F. M. **Anais do XI Simpósio brasileiro de aqüicultura**, Florianópolis, Brasil, 2000.

RODITI, H. A.; FISHER, N. S. Rates and routes of trace element uptake in zebra mussels. **Limnology and Oceanography**, v. 44, n. 7, p. 1730-1749, 1999.

ROMAN, T. R. N.; LIMA, e. G.; AZOUBEL, R.; BATIGÁLIA, F. Toxicidade do cádmio no homem. **HB Científica**, v. 9, n. 1, p. 43 – 48, Janeiro – Abril, 2002.

R TEAM - R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria. ISBN 3-900051-07-0, 2006.

Disponível em: URL <http://www.R-project.org> .

Acesso em: 10/5/2006

SALÁN, E. O. **Tratamento térmico de mexilhões *Perna perna* como forma de assegurar a qualidade – Avaliação do cerscimento de *Bacillus cereus* e de *Staphylococcus aureus***. Piracicaba – São Paulo, 2005. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, São Paulo.

- SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Vulnerabilidade do litoral norte do Estado de São Paulo a vazamentos de petróleo e derivados. **Anais do II Simpósio de ecossistemas da costa Sul e Sudeste brasileira - Estrutura, função e manejo**, abril 6-11, 1990, Águas de Lindóia - SP. São Paulo: v. 2, p. 375-395, 1990.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5.ed., Porto Alegre, Bookman, 2002.
- SANT'ANNA NETO, J. L. **Ritmo climático e a gênese das chuvas na zona costeira paulista**. São Paulo, 1990. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Geografia, FFLCH-USP, São Paulo.
- SANTOS, E. O. Características climáticas. In: **A Baixada Santista: Aspectos Geográficos**. São Paulo: EDUSP, vol. 1, cap. 4, p. 95-150, 1965.
- SANTOS, E. C. O.; JESUS, I. M.; BRABO, E. S.; FAYAL, K. F.; FILHO, G. C. S.; LIMA, M. O.; MIRANDA, A. M. M.; MASCARENHAS, A. S.; SÁ, L. L. C.; SILVA, A. P.; CÂMARA, V. M. Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia: síntese dos estudos do Instituto Evandro Chagas/FUNASA. **Rev. Brasileira Epidemiologia**, v.6, n.2, p. 171-185, 2003.
- SILVEIRA, J. D. Baixadas litorâneas quentes e úmidas. **Publ. Geogr.**, n. 8, p. 224, 1952.
- SIQUEIRA, G.W. **Estudo dos teores de metais pesados e outros elementos em sedimentos superficiais do sistema estuarino de Santos (Baixada Santista-São Paulo) e da plataforma continental do Amazonas (Margem Continental Norte)**. São Paulo, 2003. Tese (Doutorado) – Instituto Oceanográfico – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- STUMM, W.; MORGAN, J. J. **Aquatic Chemistry**. New York. John Wiley & Sons, 779p., 1981.

- TAKEUCHI, T.; ETO, K. **The pathology of Minamata Disease - A tragic history of water pollution.** Fukuoka: Kyushu University Press, 1999.
- TOMMASI, L.R. **Considerações ecológicas sobre o sistema estuarino de Santos (SP).** São Paulo, 1979. Tese (Livre-Docência). Instituto Oceanográfico, USP, São Paulo.
- TOMMASI, L.R. Poluição marinha no Brasil, uma síntese. **Rev. Ciênc. Cult.**, v. 34, n. 3, p. 325-331, 1982.
- TRINDADE, C. E. P. Minerals in the nutrition of extremely low birth weight infants. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n.1 (Suppl), p. 43-51, 2005.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant.** 2nd. Ed., Ithaca, New York: Cornell University Press, 1994.
- VASCONCELLOS, M. B. A. ; SAIKI, MITIKO ; FAVARO, D.i.t. ; MAIHARA, V. A.; FIGUEIREDO, A. M. G. ; CATHARINO, M. G M . Neutron activation analysis at the research reactor of IPEN /CNEN-SP-biological and environmental applications. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 259, n. 3, p. 489-492, 2004.
- VIARENGO, A.; CANESI, I. Mussels as biological indicators of pollution. **Aquaculture**, v. 94, p. 225-243, 1991.
- VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística.** Rio de Janeiro: Campus, 1997. p.125-131.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health Criteria 18: Arsenic**, Geneva, 1981.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health Criteria 85: Lead**, Geneva, 1989a.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health Criteria 86:**

Mercury – environmental aspects, Geneva, 1989b.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health Criteria 101:**

Methylmercury, Geneva, 1990.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health Criteria 134:**

Cadmium, Geneva, 1992.

YUSOF, A. M.; YANTA, N. F.; WOOD, A. K. H. The use of bivalves as bio-indicators in the assessment of marine pollution along a coastal area. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.**, v. 259, n. 1, p. 119-127, 2004.

ZANARDI, E.; BÍCEGO, M. C.; MIRANDA, L. B.; WEBER, R. R. Distribution and origin of hydrocarbons in water and sediment in São Sebastião, SP, Brazil. **Mar. Pollut. Bull.**, vol. 38, n. 4, p. 261-267, 1999.

ZHANG, W.; CHATT, A. A quality assurance programme for the determination of selenium in foods by instrumental activation analysis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM HARMONIZATION OF HEALTH - RELATED ENVIRONMENTAL MEASUREMENTS USING NUCLEAR AND ISOTOPIC TECHNIQUES, November 4-7, 1996, Hyderabad, India. **Proceedings...** Vienna: IAEA, 1997, p. 421-433.

CAPÍTULO 10**10. ANEXOS**Tabela 24 – Resultados individuais ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) para o material de referência Oyster Tissue 1566b – NIST (peso seco).

| Alíquotas ^a | As | Ca | Cd | Co | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------|---------|--------|---------|-----------|--------|-------------|---------|-----------|---------|---------|
| 1 | 8,0±0,2 | 826±58 | 2,4±0,2 | 0,37±0,05 | 205±18 | 0,037±0,003 | 3261±62 | 0,32±0,02 | 2,2±0,2 | 1350±56 |
| 2 | 7,6±0,2 | 824±58 | 2,6±0,2 | 0,41±0,05 | 203±18 | 0,038±0,003 | 3383±64 | 0,31±0,02 | 2,2±0,2 | 1366±92 |
| 3 | 7,2±0,2 | 878±61 | 2,4±0,2 | 0,36±0,05 | 201±18 | 0,038±0,003 | 3288±62 | 0,32±0,02 | 2,1±0,2 | 1394±57 |
| 4 | 7,6±0,2 | 775±54 | 2,4±0,2 | 0,36±0,05 | 207±18 | 0,038±0,003 | 3270±62 | 0,32±0,02 | 2,0±0,2 | 1442±58 |
| 5 | 7,4±0,2 | --- | 2,4±0,2 | 0,38±0,05 | 206±18 | 0,038±0,003 | 3361±64 | --- | 2,1±0,2 | 1418±58 |
| 6 | 8,0±0,2 | --- | 2,4±0,2 | 0,34±0,04 | 199±17 | --- | --- | --- | 2,1±0,2 | 1332±53 |

^aincertezas são: incertezas expandidas k = 2

Tabela 25 – Resultados individuais ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) para o material de referência Mussel Tissue 2976 – NIST (peso seco).

| Alíquotas^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 13,1±0,4 | 7698±543 | 0,87±0,07 | 0,62±0,07 | 0,52±0,03 | 172±15 | 0,063±0,005 | 30636±582 | 1,3±0,1 | 1,9±0,2 | 137±3 |
| 2 | 14,4±0,4 | 7420±519 | 0,83±0,06 | 0,62±0,07 | 0,57±0,04 | 168±15 | 0,061±0,005 | 32572±619 | 1,09±0,09 | 2,0±0,2 | 141±6 |
| 3 | 12,5±0,3 | 7939±556 | 0,81±0,06 | 0,62±0,07 | 0,45±0,03 | 174±15 | 0,062±0,005 | 33041±628 | 1,3±0,1 | 2,1±0,2 | 139±6 |
| 4 | 12,4±0,3 | 7458±522 | 0,83±0,06 | 0,65±0,07 | 0,46±0,03 | 167±14 | 0,063±0,005 | 33518±637 | 1,17±0,09 | 1,9±0,2 | 144±6 |
| 5 | 12,6±0,3 | --- | 0,81±0,06 | 0,64±0,07 | 0,50±0,04 | 166±14 | 0,063±0,005 | 32331±614 | 1,18±0,09 | 1,9±0,2 | 140±6 |
| 6 | 13,1±0,4 | --- | 0,86±0,07 | 0,64±0,07 | 0,53±0,04 | --- | --- | 33344±634 | 1,07±0,08 | 1,9±0,2 | 138±3 |

^aincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$

Tabela 26 – Resultados individuais ($\mu\text{g.g}^{-1}$) para o cultivo da Praia da Cocanha (peso úmido) – Análise preliminar – 01/2005.

| Ponto de estudo^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------------|-----------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 1,68±0,05 | 547±38 | 0,064±0,005 | 0,10±0,01 | 0,119±0,008 | 17±1 | 0,018±0,001 | 6441±122 | <LD | 0,43±0,05 | 12,0±0,5 |
| <i>Cultivo</i> | 1,64±0,04 | 497±35 | 0,063±0,005 | 0,09±0,01 | 0,130±0,008 | 17±1 | 0,018±0,001 | 6317±120 | <LD | 0,41±0,05 | 11,2±0,4 |
| | 1,76±0,05 | 488±34 | 0,068±0,005 | 0,12±0,01 | 0,105±0,006 | 16±1 | 0,020±0,002 | 6476±123 | <LD | 0,36±0,04 | 12,8±0,5 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$

Tabela 27 – Resultados individuais das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS
Campanha de Outono 2005.

| Ponto de estudo ^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|--------|-------------|-----------|-------------|------|-------------|----------|-----|-----------|----------|
| | 2,34±0,06 | 746±52 | 0,078±0,006 | 0,13±0,02 | 0,085±0,005 | 52±2 | 0,027±0,002 | 6568±125 | <LD | 0,56±0,07 | 16,6±0,8 |
| <i>Cocanha(Controle)</i> | 2,01±0,05 | 700±49 | 0,078±0,006 | 0,13±0,02 | 0,087±0,005 | 49±2 | 0,025±0,002 | 6233±118 | <LD | 0,58±0,07 | 17,5±0,8 |
| | 1,86±0,05 | 727±51 | 0,076±0,006 | 0,13±0,02 | 0,094±0,005 | 51±2 | 0,026±0,002 | 6100±116 | <LD | 0,53±0,06 | 16,6±0,8 |
| | 1,74±0,05 | 387±27 | 0,11±0,01 | 0,13±0,02 | 0,185±0,008 | 41±4 | 0,022±0,002 | 5380±102 | <LD | 0,42±0,05 | 15,0±0,6 |
| <i>TEBAR</i> | 1,55±0,04 | 468±33 | 0,10±0,01 | 0,13±0,02 | 0,23±0,01 | 49±5 | 0,022±0,002 | 6735±128 | <LD | 0,47±0,06 | 15,8±0,6 |
| | 1,65±0,05 | 389±27 | 0,10±0,01 | 0,13±0,02 | 0,224±0,009 | 49±5 | 0,024±0,002 | 6354±121 | <LD | 0,52±0,06 | 16,1±0,6 |
| | 1,60±0,05 | 497±35 | 0,14±0,01 | 0,14±0,02 | 0,19±0,01 | 73±6 | 0,028±0,002 | 7058±134 | <LD | 0,48±0,05 | 16,0±0,6 |
| <i>Ilhabela</i> | 1,59±0,05 | 511±36 | 0,13±0,01 | 0,13±0,02 | 0,16±0,01 | 68±6 | 0,028±0,002 | 6737±128 | <LD | 0,45±0,05 | 14,7±0,6 |
| | 1,55±0,04 | 576±40 | 0,13±0,01 | 0,16±0,02 | 0,16±0,01 | 72±6 | 0,028±0,002 | 7303±139 | <LD | 0,41±0,04 | 15,5±0,6 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas k = 2

Tabela 28 – Resultados individuais das análises ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS
Campanha de Inverno 2005.

| Ponto de estudo ^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|--------|-------------|-----------|-------------|------|-------------|----------|-------------|-----------|----------|
| <i>Cocanha (Controle)</i> | 2,12±0,06 | 497±35 | 0,11±0,01 | 0,13±0,02 | <LD | 27±2 | 0,024±0,002 | 5445±103 | <LD | 0,9±0,1 | 20,0±0,9 |
| | 2,09±0,06 | 548±38 | 0,11±0,01 | 0,14±0,02 | <LD | 26±2 | 0,024±0,002 | 5513±105 | <LD | 0,85±0,10 | 20,2±0,8 |
| | 2,01±0,06 | 617±43 | 0,12±0,01 | 0,13±0,02 | <LD | 27±2 | 0,025±0,002 | 5348±102 | <LD | 0,9±0,1 | 18,7±0,8 |
| <i>TEBAR</i> | 1,81±0,05 | 511±36 | 0,10±0,01 | 0,11±0,01 | 0,103±0,006 | 44±4 | 0,026±0,002 | 6055±115 | <LD | 0,78±0,09 | 18,3±0,8 |
| | 1,79±0,05 | 531±37 | 0,11±0,01 | 0,12±0,01 | 0,096±0,006 | 43±4 | 0,025±0,002 | 5993±114 | <LD | 0,80±0,09 | 18,2±0,8 |
| | 2,02±0,05 | 558±39 | 0,11±0,01 | 0,12±0,01 | 0,119±0,008 | 42±4 | 0,025±0,002 | 5973±114 | <LD | 0,74±0,08 | 17,6±0,8 |
| <i>Ilhabela</i> | 1,45±0,04 | 559±39 | 0,16±0,01 | 0,13±0,02 | 0,118±0,008 | 25±2 | 0,041±0,003 | 6560±125 | <LD | 0,55±0,07 | 17,0±0,8 |
| | 1,46±0,04 | 605±42 | 0,15±0,01 | 0,11±0,01 | 0,136±0,008 | 24±2 | 0,041±0,003 | 6534±124 | <LD | 0,53±0,06 | 15,8±0,8 |
| | 1,57±0,04 | 536±38 | 0,15±0,01 | 0,12±0,01 | 0,136±0,008 | 23±2 | 0,042±0,003 | 6517±124 | <LD | 0,51±0,06 | 15,8±0,8 |
| <i>Ilha das Palmas</i> | 1,51±0,04 | 730±51 | 0,054±0,004 | 0,19±0,02 | 0,22±0,01 | 60±5 | 0,16±0,001 | 6334±120 | 0,052±0,004 | 0,46±0,06 | 16,5±0,8 |
| | 1,43±0,04 | 747±52 | 0,053±0,004 | 0,20±0,02 | 0,23±0,01 | 64±5 | 0,017±0,001 | 6590±125 | 0,062±0,005 | 0,47±0,06 | 17,2±0,8 |
| | 1,55±0,04 | 744±52 | 0,052±0,004 | 0,20±0,02 | 0,19±0,01 | 64±5 | 0,016±0,001 | 6794±129 | 0,059±0,005 | 0,52±0,06 | 17,8±0,8 |
| <i>Itaipu</i> | 1,28±0,04 | 703±49 | 0,12±0,01 | 0,18±0,02 | 0,31±0,02 | 83±7 | 0,027±0,002 | 5558±106 | 0,073±0,006 | 0,56±0,06 | 19,2±0,7 |
| | 1,28±0,04 | 692±48 | 0,11±0,01 | 0,18±0,02 | 0,38±0,02 | 78±7 | 0,024±0,002 | 5846±111 | 0,072±0,006 | 0,57±0,06 | 18,8±0,8 |
| | --- | 792±55 | 0,12±0,01 | 0,19±0,02 | 0,33±0,02 | 84±7 | 0,025±0,002 | 5587±106 | 0,066±0,005 | 0,56±0,06 | 19,6±0,8 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas k = 2

Tabela 29 – Resultados individuais das análises ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS
Campanha de Primavera 2005.

| Ponto de estudo ^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|----------|-------------|-------------|-------------|------|-------------|----------|-------------|-----------|----------|
| <i>Cocanha (Controle)</i> | 3,17±0,09 | 764±53 | 0,089±0,007 | 0,071±0,009 | 0,55±0,03 | 11±1 | 0,012±0,001 | 5764±110 | <LD | 0,45±0,05 | 11,2±0,5 |
| | 3,20±0,09 | 652±46 | 0,086±0,007 | 0,069±0,009 | 0,47±0,03 | 10±1 | 0,011±0,001 | 5750±109 | <LD | 0,44±0,05 | 11,3±0,5 |
| | 3,09±0,09 | 742±52 | 0,091±0,007 | 0,071±0,009 | 0,54±0,03 | 11±1 | 0,012±0,001 | 5751±109 | <LD | 0,45±0,05 | 11,3±0,5 |
| <i>TEBAR</i> | 3,7±0,1 | 555±39 | 0,14±0,01 | 0,10±0,01 | 0,19±0,01 | 36±3 | 0,014±0,001 | 6195±118 | 0,036±0,003 | 0,58±0,06 | 13,6±0,6 |
| | 3,5±0,1 | 529±37 | 0,15±0,01 | 0,10±0,01 | 0,17±0,01 | 34±3 | 0,014±0,001 | 6057±115 | 0,035±0,003 | 0,53±0,06 | 13,6±0,6 |
| | 3,4±0,1 | 526±37 | 0,16±0,01 | 0,09±0,01 | 0,18±0,01 | 33±3 | 0,013±0,001 | 5734±109 | 0,039±0,003 | 0,49±0,05 | 12,3±0,5 |
| <i>Ilhabela</i> | 4,5±0,1 | 372±26 | 0,12±0,01 | 0,08±0,01 | 0,056±0,004 | 20±1 | 0,011±0,001 | 5101±97 | 0,017±0,001 | 0,51±0,06 | 13,8±0,6 |
| | 4,4±0,1 | 410±29 | 0,12±0,01 | 0,08±0,01 | 0,047±0,004 | 19±1 | 0,012±0,001 | 5187±98 | 0,020±0,002 | 0,53±0,06 | 14,0±0,6 |
| | 4,9±0,1 | 401±28 | 0,11±0,01 | 0,09±0,01 | 0,058±0,004 | 20±1 | 0,012±0,001 | 5355±102 | --- | 0,58±0,06 | 14,6±0,6 |
| <i>Ilha das Palmas</i> | 2,21±0,06 | 1493±104 | 0,062±0,005 | 0,17±0,02 | 0,63±0,04 | 17±1 | 0,018±0,001 | 5387±102 | 0,035±0,003 | 0,42±0,05 | 22,4±0,9 |
| | 2,04±0,05 | 1324±93 | 0,070±0,005 | 0,16±0,02 | 0,77±0,05 | 17±1 | 0,017±0,001 | 5281±100 | 0,035±0,003 | 0,42±0,05 | 21,6±0,9 |
| | 1,92±0,05 | --- | 0,069±0,005 | 0,17±0,02 | 0,71±0,04 | 15±1 | 0,016±0,001 | 5139±98 | 0,037±0,003 | 0,44±0,05 | 21,8±0,9 |
| <i>Itaipu</i> | 2,71±0,07 | 504±35 | 0,065±0,005 | 0,12±0,01 | 0,21±0,01 | 14±1 | 0,013±0,001 | 5012±95 | 0,025±0,002 | 0,46±0,06 | 17,9±0,8 |
| | 2,70±0,07 | 471±33 | 0,066±0,005 | 0,11±0,01 | 0,22±0,01 | 14±1 | 0,011±0,001 | 4826±92 | 0,026±0,002 | 0,44±0,05 | 17,3±0,8 |
| | 2,96±0,08 | 427±30 | 0,067±0,005 | 0,11±0,01 | 0,24±0,01 | 13±1 | 0,012±0,001 | 4846±92 | 0,024±0,002 | 0,44±0,05 | 17,3±0,8 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$

Tabela 30 – Resultados individuais das análises ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos mexilhões transplantados, pelas técnicas AANI e AAS
Campanha de Verão 2006.

| Ponto de estudo ^a | As | Ca | Cd | Co | Cr | Fe | Hg | Na | Pb | Se | Zn |
|------------------------------|-----------|---------|-------------|-----------|-------------|------|-------------|----------|-------------|-----------|----------|
| <i>Cocanha (Controle)</i> | 2,65±0,07 | 443±31 | 0,10±0,01 | 0,14±0,02 | 0,2±0,01 | 47±4 | 0,016±0,001 | 6082±116 | <LD | 0,52±0,06 | 15,8±0,6 |
| | 2,78±0,07 | 472±33 | 0,10±0,01 | 0,14±0,02 | 0,16±0,01 | 48±4 | 0,014±0,001 | 6060±115 | <LD | 0,55±0,06 | 15,8±0,6 |
| | 2,78±0,07 | 386±27 | 0,10±0,01 | 0,15±0,02 | 0,25±0,01 | 48±4 | 0,014±0,001 | 6202±118 | <LD | 0,58±0,06 | 16,2±0,6 |
| <i>TEBAR</i> | 1,98±0,05 | 1201±83 | 0,12±0,01 | 0,10±0,01 | 0,20±0,01 | 11±1 | 0,015±0,001 | 5720±109 | <LD | 0,46±0,06 | 14,5±0,6 |
| | 1,92±0,05 | 964±67 | 0,12±0,01 | 0,11±0,01 | 0,16±0,01 | 11±1 | 0,016±0,001 | 5671±108 | <LD | 0,46±0,06 | 15,1±0,6 |
| | 1,95±0,05 | 950±66 | 0,14±0,01 | 0,11±0,01 | 0,19±0,01 | 12±1 | 0,015±0,001 | 5813±110 | <LD | 0,44±0,05 | 14,4±0,6 |
| <i>Ilhabela</i> | 1,81±0,04 | 486±34 | 0,10±0,01 | 0,11±0,01 | 0,078±0,005 | 21±2 | 0,013±0,001 | 5886±112 | <LD | 0,50±0,06 | 15,1±0,6 |
| | 1,86±0,05 | 606±42 | 0,11±0,01 | 0,11±0,01 | 0,093±0,005 | 22±2 | 0,013±0,001 | 6249±119 | <LD | 0,53±0,06 | 15,7±0,6 |
| | 1,98±0,05 | 561±39 | 0,12±0,01 | 0,11±0,01 | --- | 24±2 | 0,014±0,001 | 6114±116 | <LD | 0,53±0,06 | 15,4±0,6 |
| <i>Ilha das Palmas</i> | 1,93±0,05 | 509±36 | 0,057±0,004 | 0,14±0,02 | 0,19±0,01 | 15±1 | 0,017±0,001 | 4723±89 | 0,037±0,003 | 0,40±0,05 | 18,0±0,8 |
| | 1,67±0,05 | 426±30 | 0,066±0,005 | 0,14±0,02 | 0,21±0,01 | 14±1 | 0,017±0,001 | 4514±86 | 0,035±0,003 | 0,38±0,05 | 17,4±0,8 |
| | 1,61±0,05 | --- | 0,066±0,005 | 0,13±0,02 | --- | 16±1 | 0,019±0,001 | 4453±85 | 0,039±0,003 | 0,37±0,05 | 17,0±0,8 |

<LD = menor que o limite de detecção

^aincertezas são: incertezas expandidas $k = 2$