



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
NÚCLEO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO REGIONAL E
MEIO AMBIENTE**

**SELÊNIO E MERCÚRIO EM GILDAS TRÓFICAS DE PEIXES EM UM LAGO DA
AMAZÔNIA OCIDENTAL (PURUZINHO, HUMAITÁ-AM)**

CÁSSIO DA SILVA CABRAL

PORTO VELHO – RO

2023



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
NÚCLEO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO REGIONAL E
MEIO AMBIENTE**

**SELÊNIO E MERCÚRIO EM GUILDAS TRÓFICAS DE PEIXES EM UM LAGO DA
AMAZÔNIA OCIDENTAL (PURUZINHO, HUMAITÁ-AM)**

CÁSSIO DA SILVA CABRAL

Orientador: Prof. Dr. Wanderley Rodrigues Bastos
Coorientador: Prof. Dr. Ronaldo Almeida

Dissertação de Mestrado apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, Área de Concentração em Desenvolvimento Sustentável & Diagnóstico Ambiental, para obtenção do Título de Mestre em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente.

PORTO VELHO – RO

2023

Catalogação da Publicação na Fonte
Fundação Universidade Federal de Rondônia - UNIR

C117s Cabral, Cássio da Silva.

Selênio e mercúrio em guildas tróficas de peixes de um lago da Amazônia Ocidental (Puruzinho, Humaitá - AM) / Cássio da Silva Cabral. - Porto Velho, 2023.

87 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Wanderley Rodrigues Bastos.

Coorientador: Prof. Dr. Ronaldo de Almeida.

Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente. Núcleo de Ciências Exatas e da Terra. Fundação Universidade Federal de Rondônia.

1. Amazônia Ocidental. 2. Lago Puruzinho. 3. Metilmercúrio. 4. Razão molar. 5. Toxicidade. I. Bastos, Wanderley Rodrigues. II. Almeida, Ronaldo de. III. Título.


Biblioteca Central

CDU 502.51:504.5(043)


CÁSSIO DA SILVA CABRAL

SELÊNIO E MERCÚRIO EM GUILDAS TRÓFICAS DE PEIXES DE UM LAGO DA
AMAZÔNIA OCIDENTAL (PURUZINHO, HUMAITÁ-AM)


Comissão Examinadora

Documento assinado digitalmente
 WANDERLEY RODRIGUES BASTOS
Data: 24/05/2023 16:40:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Wanderley Rodrigues Bastos
Orientador
Fundação Universidade Federal de Rondônia

Documento assinado digitalmente
 RONALDO DE ALMEIDA
Data: 24/05/2023 16:52:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ronaldo de Almeida
Coorientador
Fundação Universidade Federal de Rondônia

Documento assinado digitalmente
 DANIELE KASPER
Data: 25/05/2023 07:55:16-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Daniele Kasper
Membro Titular
Universidade Federal de Minas Gerais

Documento assinado digitalmente
 INACIO ABREU PESTANA
Data: 25/05/2023 09:33:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Inácio Abreu Pestana
Membro Titular
Universidade Estadual do Norte Fluminense

Porto Velho, 24 de maio de 2023.

Resultado: APROVADO.

AGRADECIMENTOS

Na finalização deste ciclo que se encerra em minha carreira profissional deixo minha gratidão a todos aqueles que colaboraram para a realização, mesmo que indiretamente, deste trabalho:

Aos meus pais agradeço por terem mostrado o caminho da educação e por me fazerem compreender o quanto ela transforma vidas, como tem transformado a minha, filho de um singelo pedreiro e uma dona de casa.

Agradeço ao meu Orientador Professor Dr. Wanderley Rodrigues Bastos por seus incansáveis ensinamentos, conselhos, disponibilidade e humildade. Sou grato por sua paciência e por confiar em minhas mãos um trabalho tão importante.

Ao meu coorientador Professor Dr. Ronaldo Almeida pela disponibilidade.

À Dra. Daniele Kasper e ao Dr. Inácio Abreu Pestana pela disponibilidade e imensa colaboração para o melhoramento desta pesquisa.

Ao Laboratório de Biogeoquímica Ambiental Wolfgang Christian Pfeiffer pela estrutura e recursos investidos neste trabalho.

Ao meu amigo Me. Walkimar Aleixo, pois sua participação e esmero foi essencial para o sucesso deste trabalho.

Ao Me. Lucas Cabrera Monteiro, uma grata surpresa que a pesquisa me proporcionou, por toda paciência e disponibilidade em me ajudar.

Aos meus amigos Charllienne, Daniele, Ma. Iuri, Dra. Taíse, Thayson e Thiago por me incentivarem nos momentos de desânimo.

Muito Obrigado.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação.”

(Simone de Beauvoir)

RESUMO

O mercúrio (Hg) é um poluente altamente tóxico, especialmente em sua forma orgânica, o metilmercúrio, com capacidade de bioacumular e biomagnificar na cadeia trófica. No homem o Hg chega por meio da ingestão de pescado, principalmente de peixes predadores. Essa transferência via pescado é preocupante, em particular na Amazonia, onde muitas comunidades tradicionais têm no peixe a sua principal fonte de proteína animal. Diversos estudos realizados em comunidades ribeirinhas reportaram os altos níveis de Hg em cabelo e, conseqüentemente, a exposição a longo tempo ao Hg. A comunidade do Puruzinho é objeto de estudos há mais de vinte anos e com base nas pesquisas realizadas neste local identificou-se a problemática do Hg, tanto para os moradores como no ambiente aquático. Nessa comunidade os níveis de Hg em cabelo humano, peixe, plâncton e sedimento são considerados altos. Porém anos de exposição a esses níveis de Hg ainda não foram suficientes para que nessa localidade os moradores apresentassem sinais visíveis de toxicidade. Com isso, uma hipótese que vem sendo estudada há algumas décadas foi considerada para explicar essa falta de sinais de toxicidade: a relação de interação do Se com outros metais. Na literatura observou-se em diversos estudos que o Se se liga ao Hg, formando o seleneto de mercúrio, que limita sua toxicidade, em uma proporção molar 1:1. Com isso, esse trabalho buscou investigar as concentrações de Se e Hg nas espécies de peixes de maior consumo na comunidade do Puruzinho. Para isso implementou-se métodos de preparo de amostras para quantificação de Se em peixes utilizando Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) com geração de hidretos (HG). Com os resultados, observou-se a biomagnificação do Hg_{total} na cadeia trófica, com níveis acima do que é estabelecido pela OMS e ANVISA, majoritariamente para peixes predadores. Os níveis de MeHg nos peixes representam de 64 a 100% de todo Hg_{total} presente no peixe. Para Se os níveis foram maiores em planctívoros e predadores, e menores em herbívoros e detritívoros. A razão molar Se:Hg demonstrou uma relação negativa com o nível trófico e indicou que peixes não predadores, principalmente os herbívoros e detritívoros, possuem razão molar >1, conferindo assim proteção contra a toxicidade do Hg. Portanto, os peixes não predadores apresentam menores níveis de Hg_{total} em relação aos predadores, enquanto a maior concentração de Se foi que observada em planctívoros, e a menor em herbívoros. A razão molar diminuiu de acordo com o nível trófico, com médias >1 para herbívoros, detritívoros e planctívoros. Sugere-se para evitar quaisquer problemas toxicológicos, a ingestão de peixes não predadores, principalmente para mulheres gestantes e crianças em fase de desenvolvimento.

Palavras-chave: Amazônia Ocidental. Lago Puruzinho. Metilmercúrio. Razão Molar. Toxicidade.

ABSTRACT

Mercury (Hg) is a highly toxic pollutant, especially in its organic form, methylmercury, with the ability to bioaccumulate and biomagnify in the trophic chain. In humans, Hg arrives through the ingestion of fish, mainly predatory fish. This transfer via fish is worrying, particularly in the Amazon, where many traditional communities rely on fish as their main source of animal protein. Several studies carried out in riverside communities reported high levels of Hg in hair and, consequently, long-term exposure to Hg. The Puruzinho community has been the subject of studies for over twenty years and based on research carried out in this location, the problem of Hg was identified, both for residents and in the aquatic environment. In this community, Hg levels in human hair, fish, plankton and sediment are considered high. However, years of exposure to these Hg levels were still not enough for residents to show visible signs of toxicity in this location. With that, a hypothesis that has been studied for some decades was considered to explain this lack of signs of toxicity: the relationship of interaction of Se with other metals. In the literature, it has been observed in several studies that bind to Hg, forming mercury selenide, which limits its toxicity, in a 1:1 molar ratio. With this, this work sought to investigate the concentrations of Se and Hg in the most consumed fish species in the Puruzinho community. For this, sample preparation methods were implemented to quantify Se in fish using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) with hydride generation (HG). With the results, it was observed the biomagnification of Hg total in the trophic chain, with levels above what is established by WHO and ANVISA, mainly for predatory fish. MeHg levels in fish represent from 64 to 100% of all Hg total present in fish. For If the levels were higher in planktivores and predators, and lower in herbivores and detritivores. The Se:Hg molar ratio demonstrated a negative relationship with the trophic level and indicated that non-predatory fish, mainly herbivores and detritivores, have a molar ratio >1 , thus conferring protection against Hg toxicity. Therefore, non-predatory fish have lower Hg_{total} levels compared to predators, while the highest Se concentration was observed in planktivores, and the lowest in herbivores. The molar ratio decreased according to the trophic level, with means >1 for herbivores, detritivores and planktivores. It is suggested to avoid any toxicological problems, the ingestion of non-predatory fish, mainly for pregnant women and children in the development phase.

Keywords: Western Amazon. Puruzinho Lake. Methylmercury. Molar Ratio. Toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Mecanismo de sequestro do Se	20
Figura 2. Mapa da localização da comunidade do Puruzinho	29
Figura 3. Espectrofotometria de absorção atômica por geração de vapor frio (FIMS-400 Perkin Elmer®) equipado com um sistema de injeção de fluxo (FIAS) com amostrador automático (S10)	31
Figura 4. Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de fluorescência atômica (CG-AFS) (MERX-M - Brooks Rand®)	33
Figura 5. Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) com geração de hidretos (ICP-OES-HG)	34
Figura 6. Primeira calibração para quantificação de Se por meio do ICP-OES-HG....	38
Figura 7. Segunda calibração para quantificação de Se por meio do ICP-OES-HG....	39
Figura 8. Terceira calibração para quantificação de Se por meio do ICP-OES-HG	39
Figura 9. Gráfico geral Das concentrações de Hg _{total} por guilda trófica e limite ANVISA para predadores e não predadores	43
Figura 10. Comparação entre as concentrações de Hg _{total} no período de pré-enchimento (2009 a 2011) e o período de pós enchimento (2019 e 2020) para as guildas detritívoras e piscívoras.....	46
Figura 11. Gráfico geral da variação sazonal das concentrações de Hg _{total} em peixes do lago Puruzinho (AM)	47
Figura 12. Distribuição das concentrações de Hg _{total} por período sazonal nas diferentes guildas trófica	48
Figura 13. Distribuição do Hg _{total} por guildas tróficas nos diferentes períodos sazonais	51
Figura 14. Figura com os gráficos com as correlações positivas entre CP e PT e as concentrações de Hg _{total}	52
Figura 15. Figura com os gráficos com as correlações positivas entre CP e PT e as concentrações de Hg _{total} em peixes herbívoros	52
Figura 16. Figura com os gráficos com as correlações negativas entre CP e PT e as concentrações de Hg _{total} em peixes carnívoros	53
Figura 17. Gráfico com correlação negativa entre PT e as concentrações de Hg _{total} em peixes detritívoros.....	53

Figura 18. Gráfico geral da distribuição das concentrações de MeHg por guilda trófica	54
Figura 19. Gráfico evidenciado as diferenças significativas nos níveis de MeHg de <i>H. malabaricus</i> entre as espécies <i>C. pleiozona</i> , <i>P. castelnaeana</i> e <i>R. vulpinus</i>	55
Figura 20. Gráfico com a correlação negativa entre CP e as concentrações de MeHg em peixes planctívoros	55
Figura 21. Figura com os gráficos com as correlações negativas em peixes carnívoros para CP e PT e as concentrações de MeHg em peixes carnívoros	56
Figura 22. Gráfico comparativo entre as médias de Hg _{total} e MeHg nas diferentes guildas tróficas	56
Figura 23. Gráfico da concentração média do Se nas guildas tróficas estudadas	58
Figura 24. Gráfico da distribuição das concentrações de Se em peixes por período sazonal	59
Figura 25. Figura com os gráficos das distribuições sazonais de Se para as guildas herbívora e planctívora	60
Figura 26. Gráfico da correlação de Kendall entre a concentração de Se entre CP e PT em peixes herbívoros.....	61
Figura 27. Gráfico da correlação de Kendall entre a concentração de Se e PT de peixes carnívoros.....	61
Figura 28. Gráfico da correlação de Kendall entre a concentração de Se e CP de para <i>M. aureum</i>	62
Figura 29. Figura com os gráficos da correlação de Kendall entre a concentração de Se e CP, Se e PT para <i>P. nigricans</i>	62
Figura 30. Gráfico da correlação positiva entre as concentrações de todos os peixes estudados para Hg _{total} e Se.....	63
Figura 31. Gráfico da correlação positiva entre as concentrações de Hg _{total} e Se para as guildas de herbívoros e piscívoros	63
Figura 32. Gráfico da correlação positiva entre as concentrações de Hg _{total} e Se em <i>H. unimaculatus</i>	64
Figura 33. Gráfico da razão molar Se:Hg por guilda trófica evidenciando a razão >1.....	67
Figura 34. Gráfico da razão molar Se:Hg para peixes carnívoros (n=111) e não carnívoros (n=198) evidenciando a razão molar > 1	67

Figura 35. Figura com os gráficos com a distribuição das concentrações de Hg _{total} por período sazonal nas diferentes guildas tróficas.....	68
Figura 36. Figura com a correlação negativa entre Se:Hg e CP, e Se:Hg e PT para todos os espécimes estudados	69
Figura 37. Correlação positiva para peixes detritívoros (n=77) entre Se:Hg e PT	69
Figura 38. Correlações entre Se:Hg e CP para as espécies Se:Hg e CP para as espécies <i>M. aureum</i> , <i>H. unimaculatus</i> , <i>P. nigricans</i> , <i>P. castelnaeana</i> e <i>S. rhombeus</i>	71
Figura 39. Correlação de entre Se:Hg e PT para as espécies <i>S. fasciatus</i> (n=28), <i>P. nigricans</i> (n=34), <i>P. castelnaeana</i> (n=12) e <i>S. rhombeus</i> (n=38)	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Recuperações absolutas e percentuais das amostras certificadas utilizadas na validação analítica e os limites de detecção da técnica (LDT)	36
Tabela 2. Tabela de recuperação média e desvio padrão dos diferentes métodos utilizados na implementação e validação da quantificação de Se por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente com geração de hidretos (ICP-OES-HG)	41
Tabela 3. Tabela com as médias de Hg _{total} por guilda trófica, intervalo e desvio padrão (D.P.)	42
Tabela 4. Média geral das concentrações de Hg _{total} por espécie de peixe, desvio padrão	44
Tabela 5. Tabela comparativa das concentrações médias de Hg _{total} (médias) entre os estudos de Oliveira et al. (2010), Mussy (2018) e o presente estudo	45
Tabela 6. Tabela com valores de média geral de MeHg por guilda trófica, intervalo e desvio padrão	54
Tabela 7. Tabela com as concentrações médias de Se por guilda trófica, valores de mínimos e máximos, desvio padrão (D.P.) e coeficiente de variação	57
Tabela 8. Tabela com a razão molar Se:Hg média por guilda trófica	65
Tabela 9. Tabela com a razão molar Se:Hg média por guilda trófica	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Parâmetros e condições de operação do ICP-OES-HG	37
Quadro 2. Concentração dos pontos de calibração para Se utilizando o ICP-OES-HG	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 O mercúrio	13
2.1.2 Estudos sobre o Hg realizados no Lago Puruzinho.....	16
2.2 O selênio	18
2.2.1 Relação Selênio e Mercúrio.....	19
2.2.2 Estudos sobre a relação Se e Hg em animais.....	20
2.2.3 Histórico dos estudos sobre a relação Se e Hg em humanos.....	23
3 JUSTIFICATIVA.....	27
4 OBJETIVOS	28
4.1 Objetivo Geral	28
4.2 Objetivos Específicos	28
5 MATERIAL E MÉTODOS	29
5.1 Área de estudo.....	29
5.2 Amostragem	29
5.3 Análise química	30
5.3.1 Mercúrio Total (Hg_{total})	30
5.3.2 Metilmercúrio (MeHg).....	31
5.3.3 Selênio (Se).....	33
5.4 Garantia de qualidade analítica	34
5.5 Determinação da razão molar Se:Hg	35
5.6 Tratamento estatístico dos dados.....	35
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6.1 Controle de qualidade analítico.....	36
6.2 Implementação e validação do método de quantificação de Se por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES-HG).....	37
6.2.1 Calibração da Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente e geração de hidretos (ICP-OES-HG) para quantificação de Se.....	37
6.2.2 Preparo das amostras para a quantificação de Se.....	40
6.3 Mercúrio total (Hg_{total}) e metilmercúrio (MeHg)	42
6.3.1 Mercúrio total (Hg_{total}).....	42
6.3.2 Metilmercúrio (MeHg).....	53
6.3.3 Razão percentual.....	56

6.4 Selênio	57
6.5 Razão molar Se:Hg	64
7 CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS	76

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES

AM	Amazonas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
B	boro
Br	bromo
CA	Califórnia
CG-AFS	cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de fluorescência atômica
Cl	cloro
DA	Demarcação
EPA	Environmental Protection Agency
EUA	Estados Unidos da América
FIMS	Flow Injection Mercury System
g	grama
GPR	Gleba do Rio Preto
GPx	glutathione peroxidase
Hg	mercúrio
HgSe	seleneto de mercúrio
I	Iodo
ICP-OES-HG	espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente com geração de hidretos
LABIOGE	Laboratório de biogeoquímica Ambiental Wolfgang Christian Pfeiffer
OQLDT	limite de detecção da técnica
mL	mililitro
mg	miligrama
Nb	nióbio
ng	nanograma
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	fósforo
ppb	partes por bilhão
pH	potencial hidrogeniônico
RESEX	Reserva Extrativista
RO	Rondônia
S	enxofre
Se	selênio
U	urânio
UNEP	United Nations Environment Programme
W	tungstênio
WCP	Wolfgang Christian Pfeiffer
Zr	zircônio

1 INTRODUÇÃO

Os poluentes altamente tóxicos, dentre eles o mercúrio (Hg), são alvos de preocupação mundial devido a grandes lançamentos no meio ambiente, ao longo de décadas, por meio das atividades industriais e de garimpo de ouro (WHO, 1990). A Amazônia tornou-se, graças a atividade de garimpo de ouro e de desmatamento, um depósito de Hg de origem antropogênica (LACERDA et al., 2004; ROULET et al., 1998), muito embora, não se possa desconsiderar que os lançamentos de origem natural vulcânica por centena de milhares de anos também sejam contribuidores dos níveis elevados de Hg nos solos amazônicos (FADINI; JARDIM, 2001; BISINOTI, JARDIM; 2004). Tal fato é preocupante pois, assim como os outros metais pesados, o Hg tem efeito acumulativo na cadeia trófica (PEÁLEZ-RODRIGUEZ et al., 2002).

O peixe, principalmente os de guilda trófica carnívora e piscívora, além de ser a principal fonte de Hg na dieta humana, é também o responsável pelas maiores concentrações de selênio (Se) de origem animal (LALL, 1995; TENUTA-FILHO; NASCIMENTO, 2007). De acordo com Tenuta-Filho (2010), o Se tem sido um fator importante na atenuação contra a toxicidade do Hg, e essa interação se tornou objeto de estudos que ainda são insuficientes para o entendimento dessa relação (PEAKALL, 2003).

O Se é um micronutriente essencial com importante atuação no catabolismo hormonal, no sistema imunológico, na fertilidade, na reprodução e no metabolismo muscular, bem como na participação da redução de aterosclerose e câncer, por meio de enzimas antioxidantes, conhecidas como selenoproteínas (BROWN; ARTHUR, 2011; RAYMAN, 2000). Entanto de acordo com Lall (1995), altas concentrações de Se podem ser tóxicas. Tenuta Filho et al. (2010) relatam que no Brasil ainda há deficiência significativa na literatura científica com relação a ocorrência de Se em peixes, tanto de água doce quanto marinhos, sendo isso um dos empecilhos para a elucidação da interação Se e Hg.

Os solos ricos em Se produzem alimentos com grandes concentrações deste nutriente, como é caso da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*), o alimento mais rico em Se do qual se tem conhecimento e que tem influência direta da concentração de Se presente no solo. (MARTENS; COZZOLINO, 2002) Com isso, temos a castanha-do-brasil e o peixe como alimentos com a maior abundância de Se, sendo o peixe objeto de estudo desta pesquisa, entretanto, pouco se conhece ainda das concentrações de Se em relação aos alimentos consumidos na Amazônia.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O mercúrio

O Hg é um metal pesado, sem funções fisiológicas conhecidas, encontrado na forma líquida em condições normais de temperatura e pressão (AZEVEDO et al., 1994). Esse metal é utilizado há milhares de anos, segundo registros, como remédio para tratar enfermidades (AZEVEDO; RAMOS, 1993). Na indústria ainda é utilizado, mesmo que em pequena escala, além do uso no garimpo de ouro (BAIRD; CANN, 2011). O Brasil é signatário da Convenção de Minamata que propõe a diminuição e a extensão do uso de Hg em diversas atividades econômicas (BRASIL, 2018)

Por ser muito volátil, o Hg fica circulando no ambiente nas suas mais diversas formas químicas, podendo ser encontrado e extraído do solo, ser carregado pelo vento e pela chuva e atingir a cadeia trófica, sendo a sua emissão de difícil controle (CRESPO-LOPEZ et al., 2021).

A *World Health Organization* (2017) lista o Hg entre os dez principais produtos químicos de maiores riscos à saúde humana, sendo tóxico para os pulmões, rins, pele, olhos e os sistemas nervoso, digestivo e imunológico. O Hg, mesmo em quantidades pequenas, pode ser prejudicial ao desenvolvimento do feto e de crianças na fase inicial de suas vidas (WHO, 2017).

Segundo Pirrone e Mahaffey (2005), a nível global, 2.700 toneladas de Hg de fontes naturais são liberadas para a atmosfera. Comprovadamente as atividades antropogênicas podem contribuir com 2.250 toneladas anualmente. O Hg pode ser liberado por meio natural ou pelas atividades antropogênicas, como a mineração, queima de combustíveis fósseis como o carvão mineral e a incineração de lixo doméstico. Por outro lado, os incêndios florestais, liberações vulcânicas, lixiviação do solo, vegetação, águas superficiais, fontes geotérmicas estão entre os principais meios de liberação natural do Hg (SCHROEDER; MUNTHER, 1998).

No mundo, a mineração de ouro artesanal em pequena escala correspondeu a 37,7% de toda emissão antropogênica de Hg em 2015. Na América do Sul, as maiores emissões atmosféricas de Hg de origem antropogênica foram, respectivamente, da mineração de ouro artesanal em pequena escala (340 toneladas); do uso industrial (47,3 toneladas); o desperdício (13,5 toneladas) e da queima de combustível (8,25 toneladas). Em comparação com dados de 2010, as emissões antropogênicas tiveram um aumento de 20% em 2019. Os Estados Unidos e a União Europeia apresentaram diminuição na emissão, números que estão na contramão mundial (UNEP, 2019).

Estima-se que 19 milhões de indivíduos estejam sob forte risco de contaminação por Hg em todo o mundo e mais de 500 localidades estão sob alto risco à saúde humana devido a exposição ao Hg (PURE EARTH, 2015).

Um dos casos mais conhecidos relacionados à contaminação por Hg ocorreu no Japão, mais precisamente em Minamata. A contaminação deu-se por meio da descarga de resíduos industriais na água marinha desde 1930, causando a contaminação de peixes e frutos do mar que eram importantes fontes de alimento para a população daquela região. Primeiramente houve relatos de morte de peixes e aves marinhas. Em 1956 a doença de Minamata foi descoberta e desencadeou uma preocupação pública. Pacientes apresentaram sintomas severos como convulsões, surtos de psicose, perda de consciência e coma, e morreram após febre alta. Os rumores de uma nova doença epidêmica levaram o departamento de saúde pública japonês a realizar investigações que elucidassem a origem dessa nova doença. Com as investigações, descobriu-se a origem e que a doença afetava tanto adultos como crianças. Todavia já existira casos relatados dessa doença desde 1953 (HARADA, 1995).

As bactérias redutoras de sulfato estão entre os principais responsáveis pela metilação do Hg, transformando o Hg^{+2} em metilmercúrio (MeHg). Enquanto o dimetilmercúrio e etilmercúrio são consideravelmente voláteis - sendo transferidos para a atmosfera rapidamente - o monometilmercúrio, menos volátil, tem muita afinidade com tecidos biológicos e tende a se bioacumular (BISINOTI, 2002; BAIRD; CANN, 2011). O etilmercúrio é utilizado em vacinas para conservá-las e não apresenta riscos à saúde (WHO, 2017).

A ligação do MeHg à cisteína de proteínas, formando o complexo $\text{CH}_3\text{Hg}^+ \text{Cys}$, interfere nas funções biológicas. Os plânctons são considerados os organismos responsáveis pela entrada do Hg na cadeia trófica aquática, seguidos dos micros crustáceos, peixes e, por fim, o homem (BISINOTI; JARDIM, 2004; CELO et al., 2006).

O peixe é responsável por cerca de 94% da exposição humana por Hg (SPIRO; STIGLIANI, 2009) e estudos evidenciaram que o MeHg representa cerca de 70 a 100% de todo Hg encontrado em peixes (BASTOS et al., 2008; BASTOS et al., 2015; KASPER, 2008; KEHRIG et al., 2008), um potencial risco para a saúde humana e que traz a questão da exposição ao Hg para o âmbito da saúde pública.

Mergler et al. (2007) ressaltam que esse MeHg acumulado não é eliminado da carne do peixe durante o cozimento, que proporciona uma perda insignificante do MeHg. Outros estudos relataram perda significativa de Hg relacionada à fritura (SCHMIDT et al., 2015). Outros registraram perda em todas as formas de preparo, tendo como variável para essa perda a espécie de peixe (MIEIRO et al., 2016).

Mikryakov e Lairova (1997) enfatizam que altas concentrações de MeHg em peixes podem levar à morte, sendo os sintomas mais comuns à toxicidade nesta classe os danos neurológicos, a reprodução (reduzindo a fecundidade), a locomoção, as atividades hepáticas, as brânquias e as atividades renais.

2.1.1 O garimpo de ouro e os reservatórios na Amazônia

Na segunda metade do século XX o Hg foi inserido na mineração de prata na América do Sul. O amálgama de Au-Pt, visto como uma tecnologia nova e barata, aumentou a produção de prata, colaborando com a contaminação dos ecossistemas aquáticos (NRIAGU, 1993). Segundo Nriagu (1994), cerca de 60-65% do Hg teria sido perdido e liberado para a atmosfera, colaborando significativamente para a poluição atmosférica na América do Sul.

A Amazônia é responsável por 80% de todo o Hg emitido no sul do continente americano, tendo como agravantes para essa realidade a queima de biomassa e a construção de megabarragens para a produção de energia que contribuem para o aumento do nível de metilação (CRESPO-LOPEZ et al.; 2021; GALVIS, 2020). A mineração de ouro artesanal e em pequena escala na Amazônia contribui na emissão de 200 toneladas anuais de Hg (GALVIS, 2020).

Recentemente, no final do ano de 2021, foram avistadas e noticiadas nacionalmente e internacionalmente, frotas de jangadas e dragas de extração de ouro no Rio Madeira. A quantidade significativa dessas embarcações foi suficiente para formar verdadeiras vilas flutuantes de garimpeiros (PESTANA et al., 2022). Algumas dragas encontradas tiveram o custo avaliado em até dois milhões de reais, ou seja, atualmente, o garimpo de ouro na Amazônia têm dimensões industriais e não mais artesanal, utilizando os ribeirinhos apenas como “laranjas” (PONTES, 2021). A crise econômica causada pela pandemia de Covid-19, bem como o incentivo às atividades de mineração por parte do governo brasileiro, contribuiu para proliferação dessa atividade na Amazônia, em especial no Rio Madeira (PONTES, 2021; PESTANA et al, 2022).

A bacia Amazônica cobre cerca de 4.000.000 km² do território brasileiro e detém uma das maiores reservas de água doce do mundo, tendo como principal rio o Amazonas, o mais extenso do planeta (AGOSTINHO et al., 2007). Nas últimas décadas houve a construção de grandes barragens na bacia amazônica e outras estão em construção para geração de energia elétrica e essas construções modificam a dinâmica dos rios, descaracterizando os ambientes aquáticos, retendo sedimento e nutrientes. Esses empreendimentos impedem as rotas

migratórias de peixes, sendo que os maiores impactos do represamento incidem sobre a ictiofauna, bem como os impactos dos reservatórios à jusante são mais acentuados que à montante (AGOSTINHO et al., 2007).

Em alguns casos, como o de Balbina (AM) e Samuel (RO), mesmo com um potencial hídrico significativo, estes reservatórios demonstraram uma produção de energia relativamente baixa levando em consideração os danos e custos ambientais, bem como o baixo retorno financeiro (AGOSTINHO et al., 2007).

Deste modo, sendo a contaminação por Hg uma temática que permeia as questões de saúde pública, principalmente de povos tradicionais e ribeirinhos, como a Comunidade do lago do Puruzinho (Humaitá – AM), que está em uma área de influência de dois grandes reservatórios, é imprescindível que a redução da exposição por esse elemento ocorra através da diminuição do uso de fontes energéticas de queima de carvão e a promoção de fontes limpas de energia; a eliminação do uso do mercúrio tanto em atividades de mineração com industriais; a eliminação do uso de quaisquer produtos que contenham mercúrio, bem como manuseio, uso e descarte correto do mercúrio contidos neles, como as baterias, lâmpadas, amalgamas odontológicas; e os acordos políticos, como a Convenção de Minamata sobre o mercúrio (WHO, 2017).

2.1.2 Estudos sobre o Hg realizados no Lago Puruzinho

Objeto de estudos por parte do LABGEOQ desde o início dos anos 2000, a comunidade do Lago do Puruzinho foi uma das comunidades estudadas por Bastos et al. (2006), que encontraram em média a concentração de $14,83 \text{ mg kg}^{-1}$ de Hg no cabelo humano dos moradores, chegando a encontrar em uma das amostras de um dos residentes da comunidade $28,27 \text{ mg kg}^{-1}$. Oliveira et al. (2010) realizaram um estudo nesta mesma comunidade em que foram avaliados peixes que fazem parte da dieta local e, também, o cabelo de residentes. Com os resultados, puderam observar que o peixe é a principal fonte de proteína animal, tendo um consumo médio na comunidade de 406 g por dia, e a principal via de exposição de MeHg à comunidade, refletindo na alta concentração de mercúrio nos cabelos analisados. Nesta localidade, cerca de 45 espécies de peixes são capturadas para o consumo local, sendo que 8 delas apresentaram valores acima do limite definido pela legislação brasileira, embora não fossem as mais consumidas. As espécies que predominam na dieta desta comunidade apresentaram níveis de Hg inferiores aos limites definidos pela legislação, que são de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ para não predadores e $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$ para predadores (ANVISA, 2013).

Nascimento et al. (2006) realizaram um estudo com plânctons coletados no lago Puruzinho, encontrando no período chuvoso as maiores concentrações de mercúrio ($337 \mu\text{g.kg}^{-1}$), equiparado aos ambientes considerados impactados, indicando que o ambiente possui uma contaminação significativa por mercúrio total. Os autores ressaltam que esses valores podem estar relacionados às inundações do solo no período chuvoso, adicionando no lago mercúrio de origem terrestre, por meio da lixiviação, e da ressuspensão do Hg do sedimento de fundo, disponibilizando assim esse elemento para os plânctons do lago.

A sazonalidade demonstrou ser uma variável importante que modula níveis de Hg total encontrados em peixes de diferentes hábitos alimentares do lago Puruzinho. Nos períodos de águas baixas (AB) os peixes carnívoros que forrageiam em ambientes próximos ao sedimento de fundo apresentaram diferenças na concentração de Hg (AZEVEDO et al., 2019)

Recentemente, Mendes et al. (2021) utilizaram esta comunidade como um de seus objetos de pesquisa, analisando o cabelo, fezes e sangue. Em seus achados observou-se que o sangue e cabelo das mulheres da comunidade Puruzinho apresentaram concentrações de mercúrio superior ao das mulheres da comunidade de São Sebastião do Tapuru (AM). O consumo de peixe apresentou diferença significativa entre as duas comunidades com base no mercúrio do cabelo dos adultos. Os homens do Puruzinho apresentaram maior concentração de mercúrio nas fezes, se comparado com as mulheres e crianças, bem como as crianças apresentaram concentrações de mercúrio no cabelo inferiores aos adultos. A ingestão de peixes para as duas comunidades variou de 94,5 a 212,3 gramas por dia, sendo os homens do Puruzinho o grupo com a maior taxa de consumo diário de peixe (212 g/dia). Os moradores do Puruzinho apresentaram maior ingestão de peixe e concentração de mercúrio no sangue e cabelo que a comunidade São Sebastião do Tapuru.

Azevedo et al. (2021) avaliaram a influência da sazonalidade na biomagnificação do mercúrio no lago Puruzinho e, também, utilizaram peixes como o *Mylossoma duriventri*, *Prochilodus nigricans*, *Cichla pleiozona* e *Serrasalmus rhombeus* para avaliar as concentrações de mercúrio e assinatura de isótopos de carbono e nitrogênio. Seus resultados demonstraram não haver variação sazonal significativa da biomagnificação entre os períodos hidrológicos analisados.

Mesmo com altas concentrações de Hg que ultrapassam os limites estabelecidos pela ANVISA, principalmente em sua principal fonte de proteína animal (o peixe), observa-se que a comunidade do lago do Puruzinho não apresenta os sintomas neurotoxicológicos clássicos por contaminação de mercúrio, levando-nos, de maneira hipotética, a acreditar que há um fator de proteção natural, podendo ser esta a interação Se e Hg, que será abordada a seguir.

2.2 O selênio

O selênio (Se) é micronutriente essencial para as atividades fisiológicas humana e animal, tendo como principais funções as atividades antioxidantes, regulação do metabolismo do hormônio tireoideo e no crescimento celular (PATCHING; GARDINER, 1999). Em altas concentrações, o Se é considerado um elemento tóxico (CABAÑERO et al., 2006).

Diversas atividades econômicas têm o Se como subproduto, como a geração de eletricidade por meio de carvão; o processo de refino do petróleo bruto; as atividades de mineração de carvão, fosfato, cobre e urânio; e a agricultura irrigada. Ou seja, o Se é um potencial contaminante de ambientes aquáticos, uma vez que as atividades anteriormente citadas têm uma projeção de crescimento a cada ano (ATSDR, 2003; YOUNG et al.; 2010; TEMMERMAN et al., 2014).

O Se está muito associado a característica geológica de cada região, uma vez que sua integração à superfície da terra deu-se por meio de erupções vulcânicas, liberando esse elemento no magma e gases, que após os períodos de degelo da terra passou a ter um espalhamento pouco homogêneo. Com isso, muitas regiões apresentam concentrações variadas de Se em seu solo, sendo muitas ricas em Se enquanto outras são deficientes (KOHRLER, 1999; SILVA et al., 1993).

Muitas pesquisas demonstraram que solos ricos em Se produzem alimentos igualmente ricos desse elemento. Da mesma forma, alimentos ricos em Se refletem a riqueza deste elemento no local onde foi cultivado (MARTENS; COZZOLINO, 2002; COZZOLINO, 2002). Embora ainda haja poucos dados com relação a distribuição em grande escala das concentrações de Se nos solos brasileiros, levando em consideração a sua área continental, (NASCIMENTO et al., 2021), foi observado por Martens e Cozzolino (2002) que as regiões norte e nordeste do Brasil apresentam maior riqueza de Se em seus solos que o resto país.

O trabalho de Silva Junior et al. (2017) corrobora com a afirmação acima, uma vez que com resultados obtidos se pôde observar a variação da concentração de Se em castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*) relacionada ao solo. Dos solos analisados, o solo amazonense apresentou maiores concentrações e o mato-grossense as menores, sendo que as concentrações de Se nas castanhas apresentaram essa mesma variação: 68,15 mg kg⁻¹ nas castanhas do Amazonas e 2,07 mg kg⁻¹ nas castanhas do Mato Grosso. No entanto, os autores identificaram que a acidez é uma variável importante no acúmulo de Se nas castanhas, uma vez que em solos ácidos, esse acúmulo diminuiu. O pH dos solos, juntamente com outros fatores como potencial redox, a matéria orgânica, argila e o óxido de ferro são determinantes e afetam as concentrações de Se

nos solos (SAHA et al., 2017). Tal afirmação tem como base estudos realizados em diferentes locais do mundo, como na China (XING et al., 2015), Escócia (FORDYCE et al., 2010; SHAND et al., 2010) e Espanha (ROVIRA et al., 2008).

O Se nos peixes é encontrado na forma inorgânica, uma vez que é incorporado nestes organismos por meio das brânquias e pelo intestino, sendo direcionados aos tecidos, principalmente o hepático (WATANABE; SATOH, 1997). Embora o peixe seja a principal fonte de contaminação por MeHg, é considerado um alimento nutracêutico, uma vez que ele é tido como principal fonte de Se, vitamina D e ômega-3. Sendo assim, várias espécies de peixes, principalmente as espécies marinhas, possuem uma proteção natural contra os efeitos tóxicos do metilmercúrio (RALSTON; RAYMOND, 2010).

Em vegetais, o Se está intrinsecamente relacionado à quantidade deste elemento disponível para absorção dos vegetais no solo e na água, como dito anteriormente, sendo isto um fator relevante para a saúde indígena, pois solos com baixo teor de Se são comuns em muitas áreas do mundo, e os povos indígenas consomem, preferencialmente, alimentos cultivados localmente (RALSTON; RAYMOND, 2010).

A *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR) (1996) recomenda a ingestão dietética de Se de 0,055 mg por dia, sendo o limite tolerável de 0,4 mg por dia em indivíduos adultos nos Estados Unidos. No Brasil, o indicado é a ingestão de 0,034 mg por dia (ANVISA, 2005). A Instrução Normativa nº 46, de 22 de novembro de 2016, do Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento inseriu o Se como micronutriente, autorizando e regulamentando a comercialização de produtos fertilizantes que possuem adição de Se (BRASIL, 2016). Essa instrução pode ser de grande-valia, uma vez que o Se, além de ser comprovadamente um micronutriente essencial para as atividades fisiológicas humanas, pode ser, de maneira indireta, uma proteção contra a toxicidade de metais pesados como o Hg.

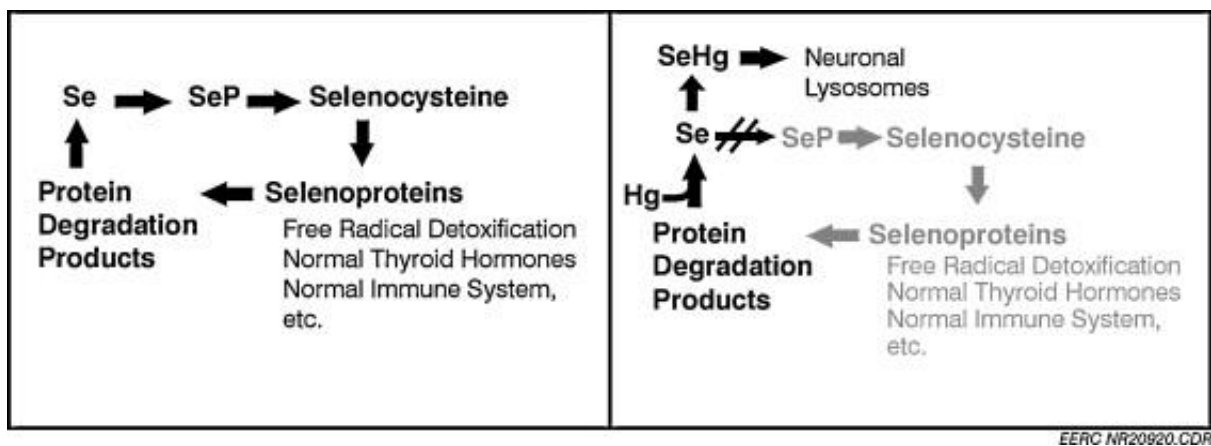
2.2.1 Relação Selênio e Mercúrio

Desde meados do século passado a relação Se e Hg tem sido investigada e atribuída à proteção contra a toxicidade do mercúrio, embora ainda não se tenha uma elucidação de como isso ocorre integralmente, quer seja pela concentração desses elementos, por uma espécie química de Se ou o tempo de exposição.

Ralston e Raymond (2010) explicam que a alta afinidade entre o mercúrio e o Se proporciona uma ligação entre esses dois elementos, resultando no comprometimento de funções biológicas pela indisponibilidade do Se. O MeHg tem a capacidade bioquímica de

ultrapassar barreiras placentárias e hematoencefálica e sua ação inibitória e irreversível sobre as selenoenzimas faz com que ocorra o sequestro do Se dessas enzimas, prejudicando tecidos neuroendócrinos, formando o seleneto de mercúrio (HgSe) (Figura 1). Nesta etapa que o Se suplementar demonstra sua importância, pois a administração exógena desse elemento supre as concentrações de Se sequestrado pelo MeHg, disponibilizando este elemento essencial para a síntese de selenoproteína. Ou seja, o Se dietético impede os potenciais efeitos que surgiriam da ausência das atividades enzimáticas das selenoenzimas (RALSTON; RAYMOND, 2010).

Figura 1. Mecanismo de sequestro do Se.



Fonte: Ralston e Raymond (2010).

Já foram encontradas em órgãos (fígado e rim) de mamíferos e aves marinhas concentrações consideráveis de mercúrio inorgânico, podendo este ser de origem da desmetilação proveniente de exposição aguda ao MeHg. O seleneto de mercúrio encontrado no fígado de cetáceos pode ser uma evidência do efeito de proteção do Se em relação ao mercúrio (PALMISANO et al., 1995).

Mais recentemente, Manceau et al. (2021) sugeriram que a desmetilação de $\text{CH}_3\text{Hg}^+\text{HgCys}$ para Hg pode ser considerada comum no processo de desintoxicação do mercúrio e a formação de seleneto de mercúrio também pode ocorrer em humanos (MARUMOTO et al., 2020), como veremos mais adiante.

2.2.2 Estudos sobre a relação Se e Hg em animais

Na segunda metade do século XX, os primeiros estudos utilizaram camundongos (STILLINGS et al., 1974; GANTHER et al., 1972; PAŘÍZEK; OŠTÁDALOVÁ, 1967) e, mais

recentemente, já podemos encontrar estudos com suplementação de Se em humanos como desintoxicante e/ou retardante da intoxicação por Hg (LI et al., 2012).

Os primeiros experimentos que relataram a redução da toxicidade do Hg relacionada ao Se foram realizados por Pařízek e Oštádalová (1967), onde foram utilizados camundongos alimentados com dietas ricas em cloreto de mercúrio e seleneto que apresentaram mortalidade reduzida em comparação com ratos com dieta enriquecida apenas com Hg_2Cl_2 . A partir deste achado, vários outros estudos foram realizados com objetivo de compreender o papel mitigador do Se sobre os efeitos da toxicidade do Hg (GERSON et al, 2020). Estudos utilizando crustáceos, peixes, aves, mamíferos entre outros, foram desenvolvidos para uma melhor compreensão desse fenômeno, como é explicitado a seguir.

Ganther et al. (1972), em sua pesquisa, afirmaram que uma dieta rica em Se oriundo do atum proporcionou a diminuição da toxicidade do metilmercúrio em ratos e que, para o homem, o Se pode ser um fator importante com relação aos perigos da exposição ao mercúrio. Utilizando-se de mamíferos marinhos (focas e golfinhos), Koeman et al. (1973), observaram que havia uma forte correlação entre a concentração de mercúrio nos fígados destes animais com a presença do Se. Este estudo sugeriu que a razão molar Se:Hg acima de 1 apresenta uma proteção do Se contra a toxicidade do Hg.

O Se presente no atum diminuiu a mortalidade de aves e os sinais de toxicidade no trabalho de Ganther e Suber (1974). Os autores chegaram à conclusão de que a dieta com Se do atum diminuiu a toxicidade do Hg. Chang e Suber (1982) demonstraram em seus estudos que a coadministração de Se e MeHg proporcionou uma diminuição da ação inibitória do MeHg sob a Glutathione Peroxidase (GPx), bem como que a exposição a ele suprimiu a atividade desta enzima como já foi relatado por outros autores.

Em 12 localidades diferentes da Bacia do Rio Madeira, Dórea et al. (1998), realizaram a determinação de Hg e Se, além da razão molar Se:Hg, em 7 espécies de peixes de diferentes guildas tróficas (piscívoros, onívoros e herbívoros). Seus dados demonstraram que os peixes de topo de cadeia apresentaram a menor razão molar que os herbívoros, mostrando a diminuição da razão molar conforme o nível trófico aumenta.

Watanabe et al. (1999) realizaram um estudo com camundongos para verificar os efeitos neurocomportamentais do MeHg no útero com relação à deficiência de Se. Os resultados obtidos evidenciaram que o grupo mais afetado com o aumento da toxicidade do metilmercúrio foi o que recebeu altas doses de MeHg com deficiência de Se. Com essa pesquisa, foi demonstrado que o suprimento do Se para as mães foi determinante para surgimento de problemas neurocomportamentais da exposição pré-natal ao MeHg. Com os resultados obtidos

foi observado que o metabolismo do Se no cérebro fetal foi afetado pelo MeHg e que este havia diminuído a concentração de Se na atividade da GPx no cérebro fetal, com maior eficiência no grupo onde a dieta de Se era mais limitada. O fígado fetal demonstrou maior resistência aos efeitos do MeHg que o cérebro, onde a atividade foi diminuída.

O trabalho de Seixas et al. (2008) com golfinhos do sul e sudeste brasileiro demonstrou uma relação Se:Hg próxima de 4, ou seja, relação de proteção. As concentrações de Se no fígado foram duas vezes maiores que as concentrações dos rins nos golfinhos do sudeste. Para esses mesmos indivíduos houve uma relação positiva com relação ao comprimento e concentração de Se, ou seja, a concentração de Se nos rins e fígado aumentava conforme o comprimento dos animais também aumentava.

Burguer et al. (2012) determinaram os níveis de Hg e Se em peixes e aves marinhos de uma região do Alasca (EUA), bem como a razão entre estes dois elementos. Em todas as espécies de peixes e aves estudadas houve a razão molar Se:Hg média superior a 1, ou seja, havia Se em excesso com relação ao Hg. Com seus dados, os autores observaram uma relação negativa entre a razão molar Se:Hg e o comprimento, portanto, conforme o peixe cresce os níveis de Hg aumentam e o papel protetor do Se diminui. Outro dado importante foi a razão molar em espécies de maiores níveis tróficos, que diminuía. Em contrapartida, as espécies de níveis tróficos mais baixos tinham razões molares maiores.

O trabalho de Kehrig et al. (2013), utilizando frutos do mar de amplo consumo no Atlântico Sul, demonstrou que os peixes predadores tendem a ser a principal fonte de Se dietético para o homem. O aumento do comprimento do peixe – geralmente utilizando como determinante na idade dos peixes – foi relacionado negativamente com as concentrações de Se determinadas. De modo geral, cerca de 98,9% de todos os indivíduos utilizados neste estudo apresentaram uma relação Se:Hg > 1:1, ou seja, havia uma relação de proteção do Se em relação à toxicidade do Hg.

Em anchovas (*Pomatomus saltatrix*), Burguer et al. (2013), realizaram um estudo com cérebro, músculo e outros tecidos, para obterem os níveis de Se e Hg e razão molar Se:Hg. Em seus achados, observou-se que em todos os tecidos estudados houve correlação positiva entre Se e Hg, mas principalmente para indivíduos acima de 50 cm de comprimento. No entanto, observou-se também que a razão molar Se:Hg diminui com o aumento do tamanho do peixe.

O trabalho realizado por Lino et al. (2018) em peixes da bacia do rio Tapajós identificou que 80% das amostras analisadas apresentou mercúrio total abaixo do limite estabelecido pela OMS para o consumo humano, no entanto, o valor da ingestão diária estimada ultrapassou os limites da *United States Environmental Protection Agency*. Enquanto as maiores concentrações

de Hg_{total} foram encontradas em espécimes de nível tróficos mais alto, os valores mais significativos de Se foram encontrados em indivíduos de nível trófico mais baixo, como os iliófagos e herbívoros, que apresentaram razões molares Se:Hg maiores que os demais. Ou seja, para a redução dos efeitos tóxicos por contaminação de Hg, sugeriu-se o consumo de pescado, preferencialmente, de hábitos alimentares herbívoros e iliófagos.

Recentemente foi demonstrado por Pantoja-Echevarría et al. (2021) uma relação positiva de proteção do Se na toxicidade do mercúrio nos tecidos hepáticos de tubarão marrom (*Mustelus henlei*), baseados nos resultados obtidos da razão molar Se:Hg. Os níveis de Hg nos músculos foram superiores aos do fígado, porém todos dentro dos limites permitidos.

Em atum (*Thunnus thynnus*), Belmont et al. (2021), avaliaram as concentrações de Hg e Se não somente no músculo, mas também no fígado, rim, cérebro, brânquia e osso. Seus resultados apontaram novamente para relação antagônica de proteção do Se (Se:Hg) fígado, rim, cérebro e brânquia.

Utilizando peixe de água doce (*Oncorhynchus mykiss*), Ribeiro et al. (2022) avaliaram a relação antagônica do Hg e Se por meio de exposição via dieta, resultando em dados que apontaram o Se como desintoxicante do Hg. A relação de proteção Se:Hg acima de 1 também observada em golfinhos do Atlântico Sul (DURANTE et al., 2020).

2.2.3 Histórico dos estudos sobre a relação Se e Hg em humanos

A partir dos achados dos trabalhos realizados em animais com relação interação Se e Hg, foram devolvidos estudos em humanos, visando identificar se neles essa relação de proteção pode existir também como nos demais animais já estudados. Neste tópico, iremos relatar sucintamente os mais diversos estudos realizados em humanos, como no estudo a seguir.

Drasch et al. (1996) observaram a formação de seleneto de mercúrio. Este estudo utilizou-se de amostras humanas de córtex renal (n=195) e encontrou a razão molar Se:Hg acima de 1, porém diminuindo conforme os níveis de Hg aumentavam. Os autores relatam que o seleneto de mercúrio encontrado é um resultado do aprisionamento do Se disponível pelo Hg, sendo este uma consequência da desintoxicação.

Indígenas do Parque Nacional de Pacaás Novos (RO), da aldeia Doutor Tanajura, tiveram seus cabelos analisados para quantificar mercúrio e Se para que fosse possível avaliar a existência de relação entre ambos. As concentrações de mercúrio equivaleram às de pessoas que estão expostas à contaminação ambiental por Hg, tendo como forte explicação para esses

níveis de Hg o consumo de pescado (cabe lembrar que na região não havia, por parte dos indígenas, a prática de atividades de extração do ouro). Embora o Se encontrado estivesse dentro dos valores aceitáveis, ainda são considerados altos em relação a outros trabalhos realizados na Amazônia, sendo a dieta o principal fator explicativo para esses níveis de Se. Foi encontrada uma relação de proteção do Se, sendo a razão molar próxima de 1, relacionada com a atividade da selenoproteína, que pode diminuir a biodisponibilidade do Hg no organismo (SOARES et al., 2002).

Mulheres ribeirinhas em idade fértil de três comunidades da bacia do Tapajós foram objeto de estudo de Pinheiro et al. (2005). Um total de 40 mulheres (19 gestantes e 21 não gestantes), comprovadamente expostas ao Hg, com idade entre 13 e 45 anos, tiveram seus cabelos coletados para esta pesquisa. Não houve diferença significativa entre as mulheres gestantes e não gestantes, com relação à concentração de Hg. No terceiro trimestre, as gestantes apresentaram níveis mais altos de mercúrio ($9,39 \text{ mg kg}^{-1}$) que as demais. Com relação ao Se, houve uma diferença significativa entre os grupos: as gestantes apresentaram $0,61 \text{ mg kg}^{-1}$ e as não gestantes $2,46 \text{ mg kg}^{-1}$. Em 68% das gestantes o Se ficou abaixo do limite de detecção. De acordo com os autores, a baixa concentração de Se em mulheres grávidas pode indicar a absorção de Se pelo feto para o seu desenvolvimento e necessidades metabólicas, ou até mesmo como mecanismo de proteção contra a toxicidade do Hg.

Lemire et al. (2006) identificaram níveis altos de exposição ao Hg nas comunidades ribeirinhas do Tapajós, sendo que o Se, também em níveis altos, pode estar sendo um fator natural de proteção com relação à toxicidade do Hg. Neste trabalho, envolvendo um total de 236 indivíduos, não houve a presença de pessoas com deficiência de Se no sangue, sendo 34% apresentaram níveis de Se acima do normal e nenhum indício de contaminação por Se de origem antropogênica. Relatos dos moradores dessas comunidades apontaram a castanha do Brasil como uma provável fonte natural deste elemento, uma vez que a castanha está presente em muitos pratos da alimentação deles. Os agricultores apresentaram níveis mais altos de Se que os que não desempenhavam atividade agrícola. Embora o consumo de peixe seja alto nessas comunidades, não houve relação entre o pescado de modo geral e o Se, mas somente com o consumo de uma espécie de *Cichla* sp. e coco (*Cocos nucifera*) que foram correlacionados com a concentração de Se no sangue.

Vieira Rocha et al. (2014), tiveram como objeto de pesquisas duas comunidades rurais do município de Porto Velho (RO) – Demarcação (DA) e Gleba do Rio Preto (GRP) - onde crianças residentes nessas comunidades foram participantes dessa pesquisa por meio de análises no sangue. De acordo com dados do estudo, as crianças da GRP apresentaram um consumo de

Se maior que a de DA, porém a ingestão para as duas comunidades, em média, encontrava-se dentro dos padrões recomendados de ingestão de Se (0,055 mg por dia). Todas as crianças da GRP tiveram níveis de Se no plasma elevados, acima do valor de referência de $> 84-100 \mu\text{g/L}$. As crianças de DA apresentaram 84% de deficiência de Se no plasma. O valor de referência para Se nos eritrócitos é de $90-100 \mu\text{g/L}$, porém, cerca de 45% de DA demonstraram deficiência, enquanto 55% das crianças da GRP ultrapassaram o limite. Neste estudo também foram analisados os níveis de Hg no cabelo das crianças e espécies de peixes consumidas, sendo que na GRP os níveis de mercúrio no cabelo foram significativamente maiores que em DA, encontrando uma correlação positiva de Se do eritrócito e o Hg nos cabelos das crianças da GRP.

Na China, voluntários expostos à contaminação por Hg da região de Wanshan foram suplementados com levedura enriquecida com Se (0,1 mg por dia). Durante os 90 dias de suplementação, observou-se uma excreção significativa de Hg pela urina no grupo de suplementado com Se ($n=53$), enquanto o grupo placebo ($n=50$) permaneceu com os níveis de Hg excretado inalterados. Após 30 dias os níveis de Hg na urina do grupo suplementado com Se aumentaram de $18,3 \pm 0,5 \text{ ng mL}$ para $31,8 \pm 1,5 \text{ ng mL}$, e após 90 dias, $50,4 \pm 3,1 \text{ ng mL}$ (LI et al., 2012).

Ainda na China, Li et al. (2016) afirmaram que o Se dietético foi o principal fator de proteção contra a toxicidade do Hg em moradores ($n=101$) na localidade de Wanshan, área mineração deste metal. Os níveis de Se no sangue estiveram dentro do limite seguro. O sangue de mais de 80% destes moradores ultrapassou os $5,8 \mu\text{g/L}$, ou seja, acima do limite de mercúrio seguro. No entanto, as razões molares, tanto para Se:Hg quanto para Se:MeHg, foram superiores a 1. Em seus achados, observou-se que a principal fonte de Se para aquela população era o arroz (72,6%).

Vega et al. (2016) também utilizaram duas comunidades rurais do município de Porto Velho, a RESEX Cuniã - mais distante da área urbana - e a Comunidade Belmont – mais próxima à área urbana – para determinar os níveis de Se total em crianças dessas localidades. Neste estudo foi observado a diferença dos níveis de Se no sangue entre as duas comunidades, relacionados aos diferentes estilos de vida, uma vez que a RESEX Cuniã está mais isolada, apresentando um consumo maior de peixes e outros alimentos locais que a do Belmont, que possui uma maior influência da área urbana.

Hu et al. (2017) realizaram um estudo com uma população indígena esquimó que vive nas regiões árticas do Canadá, os *Inuit*, que são expostos ao Hg e Se. Com essa pesquisa foi observado que as doenças cardiovasculares (excetuando-se o acidente vascular cerebral)

apareciam com menor frequência em grupos com alto teor de Se e baixo de Hg no sangue, sendo o efeito inverso em grupos com Hg alto e Se baixo, evidenciando que o Se pode exercer uma função de proteção contra os efeitos do Hg relacionadas às doenças cardiovasculares.

Diversos estudos com a razão molar Se:Hg, seja em humanos ou animais, como demonstrado anteriormente, têm afirmado que o valor acima de 1 sinaliza uma relação antagônica de proteção, embora essa relação ainda não esteja completamente estabelecida e seja questionável por outros pesquisadores, como Gerson et al. (2020). Na região amazônica estudos sobre essa interação têm sido de grande importância, principalmente com relação ao peixe, uma vez que a Amazônia possui uma ictiofauna rica e diversa (OHARA et al., 2015; QUEIROZ et al.; 2013). Cabe lembrar novamente que o peixe é a principal fonte de proteína animal de comunidades indígenas, povos tradicionais e ribeirinhos, e tendem a ter níveis consideráveis de Hg (BASTOS et al., 2008; BASTOS et al., 2015; SPIRO; STIGLIANI, 2009).

Neste sentido, compreende-se que o peixe poderia estar desenvolvendo uma função importantíssima para a proteção contra a intoxicação, pois embora apresente níveis altos de Hg, pode ser uma fonte importante de Se para as comunidades e povos vulneráveis e/ou expostos à contaminação por Hg.

Estima-se na bacia Amazônica, a existência de 3.000 a 5.000 espécies de peixes. No Rio Madeira, o principal afluente do rio Amazonas em vazão, drenagem e descarga de sedimentos, foram registradas 920 espécies de peixes. Isso torna o Rio Madeira o rio com a maior diversidade de peixes do mundo. A coleção ictiológica do Rio Madeira encontra-se depositada na Fundação Universidade Federal de Rondônia, no prédio de Coleções Biológicas, com 80% de acervo revisado por especialistas nacionais e internacionais e com 99% das localidades georreferenciadas (OHARA et al., 2015; QUEIROZ et al.; 2013).

3 JUSTIFICATIVA

Desde meados dos anos 60 do século passado quando foi descoberta a relação antagônica entre Se e Hg diversos estudos foram desenvolvidos, tanto em animais como em humanos, buscando entender e comprovar essa hipótese. Na Amazônia, bioma com um histórico recente de contaminação antropogênica do ecossistema aquático por Hg devido ao garimpo de ouro e desmatamento, estudos nesta linha se fazem necessário, uma vez que inúmeras comunidades tradicionais isoladas ou semi isoladas como as ribeirinhas e indígenas têm no pescado a sua principal fonte de proteína animal. Esse mesmo pescado é responsável pela entrada de Hg em sua forma orgânica, que é a mais preocupante do ponto de vista neurotoxicológicos, no homem. A comunidade objeto deste estudo há anos tem sido alvo de pesquisas nos mais diversos compartimentos, tanto bióticos quanto abióticos, em humanos, vegetais e animais, no ambiente aquático e terrestre. De modo geral, observou-se que as concentrações de Hg, principalmente nos peixes e nos moradores dessa comunidade, são altas e muitos ultrapassam os limites considerados seguros por agências nacionais e internacionais. O fato que intriga pesquisadores é a ausência de sinais toxicidade nessa comunidade e que poderia estar relacionado ao Se. Essa comunidade amazônica, que vive em uma região de forte influência de garimpo de ouro e que tem no peixe sua fonte de proteína animal, serve de modelo para estudos que verificam a relação de interação entre Se e Hg. Acredita-se que o peixe possa ser, além de fonte de Hg, uma importante fonte de Se e proporcionar proteção contra a toxicidade do Hg. Essas informações são de grande valia no ponto vista ambiental e de saúde pública, uma vez que o Hg é considerado um dos poluentes mais nocivos à saúde humana. Sendo assim, a importância deste estudo consiste na investigação das concentrações de Se e Hg nas espécies de peixes de maior consumo na comunidade do Puruzinho, e estabelecer a razão molar Se:Hg. Para isso implementou-se métodos de preparo de amostras para quantificação de Se em peixes utilizando Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) com geração de hidretos (HG). A obtenção de dados inéditos para as concentrações de Se nas principais espécies de peixes consumidas na referida comunidade poderá subsidiar o entendimento de quais fatores estão contribuindo para que a saúde dessa população permaneça sem sinais visíveis de toxicidade, colaborar com a compreensão da relação de interação Se e Hg e a manutenção da saúde de comunidades ribeirinhas na Amazônia.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Determinar as concentrações de mercúrio total, metilmercúrio e selênio nas espécies de peixes de maior consumo de uma comunidade lacustre da Amazônia Ocidental de forma a avaliar o consumo desses elementos químicos e a razão Se:Hg.

4.2 Objetivos Específicos

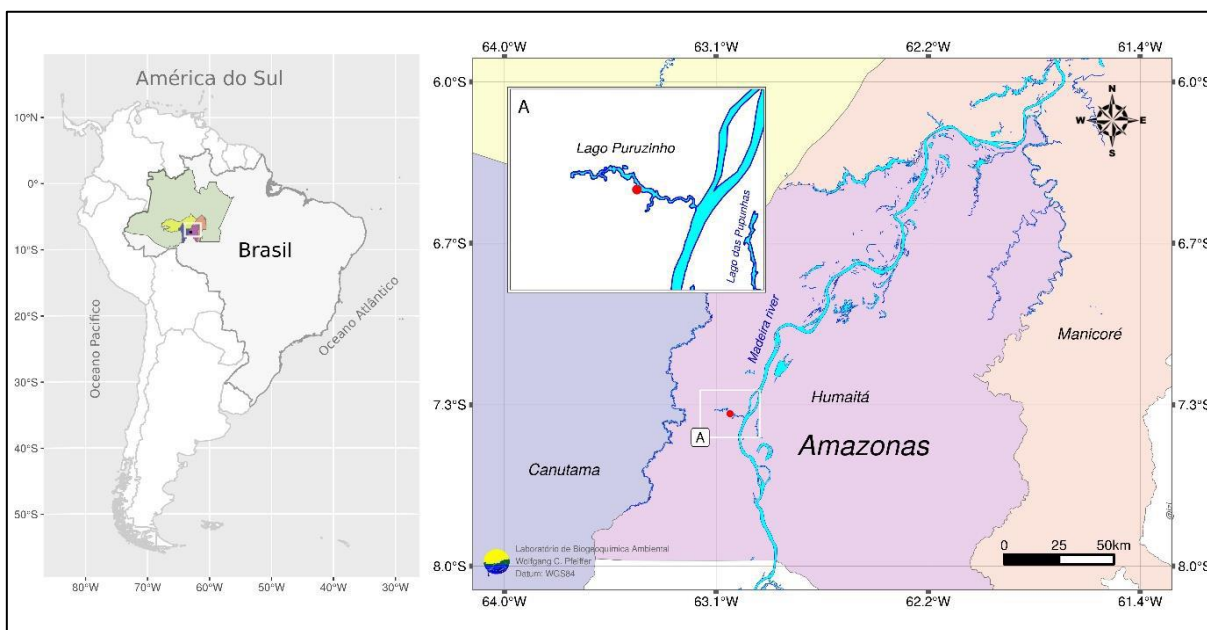
1. Implementar metodologia de preparo de amostras e determinação de selênio por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) com geração de hidretos (HG) no laboratório de Biogeoquímica Ambiental Wolfgang Christian Pfeiffer;
2. Identificar quais guildas tróficas possuem maiores concentrações de Se, bem como correlacioná-las com as concentrações de Hg e MeHg.
3. Avaliar a razão molar Se:Hg nas guildas tróficas estudadas.
4. Correlacionar a razão molar Se:Hg com comprimento padrão, peso total e sazonalidade.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Área de estudo

O Lago do Puruzinho (Figura 2) (latitude $7^{\circ}22'14,31''S$, longitude $63^{\circ}03'32,71''W$) - SIRGAS 2000, está localizado a 13 km a jusante da cidade de Humaitá-AM, afluente da margem esquerda do Rio Madeira. O lago de águas pretas, que sofre influência das águas brancas do Rio Madeira sazonalmente, há mais de 20 anos tem sido objeto de estudo, tanto na avaliação ambiental quanto humana, do Grupo do Laboratório de Biogeoquímica Ambiental Wolfgang Christian Pfeiffer (LABGEOQ). Em 2018, lá viviam cerca de 26 famílias, totalizando 123 indivíduos (MENDES, 2018), porém é bastante dinâmico o entra e sai nas residências dessa comunidade.

Figura 2. Mapa da localização da comunidade do Puruzinho.



Fonte: Laboratório de Biogeoquímica Ambiental WCP.

5.2 Amostragem

A amostragem de peixes foi realizada nos diferentes períodos sazonais característicos da região amazônica: enchente, águas altas, vazante e águas baixas. As espécies utilizadas para a execução deste estudo tiveram como critério de inclusão o trabalho de Mendes (2018), onde foram identificadas as espécies que fazem parte da dieta daquela comunidade e as espécies que possuem importância econômica comercializadas pelos pescadores da comunidade.

As coletas dos peixes foram realizadas entre dezembro de 2019 e novembro de 2020, um ciclo hidrológico completo, com um total de 796 espécimes coletadas pela comunidade que possui treinamento para este tipo de atividade. Os membros da comunidade foram treinados pela equipe do LABIOGEOQ na identificação, biometria e registro fotográfico dos espécimes de peixes capturados para que haja a validação da identificação pela equipe do Laboratório de Biogeoquímica Ambiental Wolfgang Christian Pfeiffer (LABIOGEOQ). Todos os espécimes tiveram sua identificação e biometrias realizadas *in loco*. Após esse processo, foi retirado parte do músculo dos peixes da região dorsal, armazenado em sacos plásticos com identificação e congelados, posteriormente transportados trimestralmente ao LABIOGEOQ para os procedimentos analíticos. Cabe salientar que todo o processo de captura foi realizado legalmente, com autorização SISBIO (Número: 65585-6).

5.3 Análise química

5.3.1 Mercúrio Total (Hg_{total})

Os procedimentos das análises das amostras de peixes para a quantificação de mercúrio total foram realizados conforme Bastos et al. (1998), com algumas adaptações.

1. Pesaram-se em tubos de ensaio de 100 mL (balança analítica Shimadzu® AY-220) cerca de 200 mg (peso úmido) de músculo de peixe de hábito carnívoro e piscívoro, e cerca de 400 mg (peso úmido) de músculo de peixe de hábito não-carnívoro (detritívoro, herbívoro, onívoro e planctívoro). Além disso, pesaram-se cerca de 20 mg de *Certified Reference Material* BCR®-463 (*tuna fish*) (peso seco) e separaram-se dois tubos de ensaio para os brancos.
2. Pipetou-se 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30% (m/m) (Merck®) e esperou-se reagir com a amostra.
3. Adicionou-se 4,0 mL de uma solução-mista dos ácidos nítrico (HNO_3) 65% (m/m) (Merck®) e sulfúrico (H_2SO_4) 97% (m/m) (Merck®) na proporção 1:1 (solução sulfonítrica) e transferiu-se as amostras ao bloco digestor (Tecnal TE-007MP) à 70° C por 30 minutos.
4. Em seguida, aguardou-se as amostras esfriarem até temperatura ambiente e foram adicionados 5 mL de permanganato de potássio ($KMnO_4$) 5% (m/v) (Merck®) e novamente foram levadas ao bloco digestor (Tecnal TE-007MP) à 70° C por 20 minutos. Após esta etapa, as amostras foram reservadas e ficaram em *overnight*.

5. Após o período de *overnight*, as amostras foram tituladas com 0,5 mL de cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) 12% (m/v) (Merck®) para a eliminação do excesso de KMnO_4 e levadas para o agitador de tubos do tipo vórtex (Fisatom® 772) para acelerar a reação química.
6. As amostras foram transferidas para tubos Falcon (15mL), e completou-se com água ultrapura até o volume final de 14 mL.
7. As determinações de Hg_{total} foram realizadas pela técnica de espectrofotometria de absorção atômica por geração de vapor frio (FIMS-400 Perkin Elmer®) (Figura 3) equipado com um sistema de injeção de fluxo (FIAS) com amostrador automático (S10) utilizando *software* (Winlab32™ for AA) usando como agente redutor uma solução mista de borohidreto de sódio (NaBH_4) 0,2% (m/v) (Sigma-Aldrich®) e hidróxido de sódio (NaOH) 0,05% (m/v) (Vetec®) e como agente oxidante, uma solução de HCl 3% (v/v) (Merck®).

Figura 3. Espectrofotometria de absorção atômica por geração de vapor frio (FIMS-400 Perkin Elmer®) equipado com um sistema de injeção de fluxo (FIAS) com amostrador automático (S10).



5.3.2 Metilmercúrio (MeHg)

Os procedimentos das análises das amostras de peixes para MeHg foram realizados conforme o método EPA 1631 (EPA, 2001).

1. Em tubos *Falcon* de 15 mL, pesou-se cerca de 100 mg (peso úmido) de músculo de peixe de hábito carnívoro e piscívoro, e cerca de 200 mg de músculo de peixe de hábito não-carnívoro. Além disso, pesou-se cerca de 100 mg de *Certified Reference Material* BCR®-463 (*Tuna Fish*) (peso seco) e separou-se dois tubos *Falcon* para os brancos.
2. Pipetou-se 3,0 mL da solução metanólica de hidróxido de potássio (KOH/CH₃OH) 25% (m/v) (Merck®, grau HPLC) nas amostras.
3. Utilizando o agitador de tubos do tipo vórtex (Fisatom® 772), as amostras foram homogeneizadas e levadas à estufa à 70° C (Nova Instruments NI 1511 D), por um período de seis horas, sendo agitadas em intervalos de uma hora em ambiente com pouca luminosidade. Ao fim desta etapa, as amostras foram envoltas de papel alumínio para evitar o contato com a luz e foram reservadas.
4. Após 48 horas, essas amostras sofreram diluição de 10x, adicionando-se 300 µL da amostra digerida em tubos Falcon (15 mL), completando com água ultrapura até atingir o volume de 3 mL.
5. Em *vials* âmbar (40 mL) são adicionados 30 µL da amostra diluída, 300 µL de solução tampão de ácido acético (Merck®) e acetato de sódio (Sigma-Aldrich®) para ajustar o pH (4,5 a 4,9).
6. Em seguida, fez-se a etilação aquosa das amostras, com adição de 50 µL do agente derivatizante tetraetilborato de sódio (NaBEt₄) 1% (m/v) (Brooks Rand®). Por fim, completou-se com água ultrapura até atingir o volume total do *vial* evitando a formação de bolhas de ar. A determinação de metilmercúrio foi realizada por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de fluorescência atômica (MERX-M - Brooks Rand®) (figura 4).

Figura 4. Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de fluorescência atômica (CG-AFS) (MERX-M - Brooks Rand®).



5.3.3 Selênio (Se)

Os procedimentos das análises das amostras de peixes para Se são realizados conforme o método adaptado de Neubauer e Magarini (2021):

1. Pesou-se em tubos de ensaio de 100 mL (balança analítica Shimadzu® AY-220), cerca de 400 mg (peso úmido) de músculo de peixe. Da amostra DORM-2 (*National Research Council-Canadá* certificada) (peso seco), pesou-se cerca de 200 mg em duplicata, além de utilizar 2 tubos para os brancos dos reagentes.
2. Adicionou-se 0,5 mL de H₂O₂ 30% (m/m) (Merck®).
3. Após reagir, adicionou-se 4 mL HNO₃ concentrado. Posteriormente, os tubos têm sua abertura levemente fechadas e foram levados ao bloco digestor (Tecnal TE-007MP) pré-aquecido por 30 minutos a 85 °C.
4. Em seguida, após o esfriamento, os tubos foram descobertos e foram adicionados 1,5 mL de água ultrapura e 4,0 mL de HCl (Merck®) concentrado (5 mol L⁻¹) e foram levados o bloco digestor (Tecnal TE-007MP) por mais 30 minutos a 85° C.
5. Após as amostras atingirem a temperatura ambiente, as amostras foram filtradas e foram transferidas para um tubo Falcon de 15 mL e o volume foi aferido para 10 mL com água ultrapura. A determinação de Se foi realizada por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) com geração de hidretos (HG) (Figura 5).

Figura 5. Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) com geração de hidretos (ICP-OES-HG).



5.4 Garantia de qualidade analítica

O uso de réplicas nas análises serve para verificar o quão próximos estão os resultados que foram obtidos da mesma maneira (precisão), ou seja, que tiveram o mesmo tipo de tratamento durante as análises. Normalmente é expressa em termos de desvio-padrão. A precisão pode ser basicamente de dois tipos: a) repetitividade: quando as condições que auxiliaram na obtenção dos resultados são as mesmas, como mesmo método, material, operador, laboratório, e dentro de um curto espaço de tempo, e b) reprodutibilidade: quando todas as condições citadas anteriormente são diferentes, exceto o método, além de ser realizado em um espaço de tempo maior (ANVISA, 2005; SKOOG et al., 2008).

O uso de materiais de referência certificados é uma das práticas mais usadas para se avaliar a exatidão de um método ou análise, assim como a comparação de métodos, ensaios de recuperação e adição padrão (RIBANI et al., 2004). Para este estudo foram utilizados os seguintes materiais de referência certificado: *Certified Reference Material BCR®-463 (Tuna Fish)* para validação analítica de Hg_{total} e MeHg, bem como DORM-2 (*National Research Council-Canadá*) para Se.

Ambos os procedimentos para obtenção da precisão e exatidão foram utilizados nesse estudo, assim como uso de “brancos controles” e descontaminação prévia de toda a vidrarias com HNO₃ a 5% com rinsagem com H₂O ultrapura (Milli-Q, Millipore).

5.5 Determinação da razão molar Se:Hg

Para calcular a razão molar, utilizou-se a equação abaixo de Golzadeh et al. (2020). Não foi realizada a razão molar Se:MeHg pois os números de amostras para ambos os elementos foram baixo e somente os espécimes que ultrapassaram os limites nacionais de Hg foram analisados para MeHg.

$$\text{Razão Molar} = \frac{[\text{Se mg kg}^{-1}] / (78,90 \text{ g mol}^{-1})}{[\text{Hg mg kg}^{-1}] / (200,59 \text{ g mol}^{-1})}$$

5.6 Tratamento estatístico dos dados

Para o tratamento estatístico foi utilizado o *software* GraphPad Prism® 8.1.0. (GraphPad Software, San Diego CA). A normalidade da distribuição dos dados foi avaliada pelos testes de Shapiro-Wilk ($N < 50$) e Kolmogorov-Smirnov ($N \geq 50$) (ZAR, 2010). Considerando que em nenhum dos grupos houve a normalidade de todas as variáveis, testes não paramétricos foram utilizados. As diferenças de Hg_{total}, MeHg, Se e Se:Hg entre as espécies e os hábitos alimentares foram avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis.

Para as correlações utilizou-se Kendall pois é indicada quando o n é mais baixo (EIKENBERRY et al., 2015), neste caso, o valor de corte foi $n > 10$. De modo geral, a correlação de Kendall é mais robusta e eficiente que a correlação de Spearman, sendo mais recomendável quando é necessário escolher um teste não paramétrico (CROUX; DEHON, 2010). Quando todos os dados apresentaram distribuição normal, foram avaliados pela correlação de Pearson (**r**). As correlações, positivas ou negativas, foram avaliadas em fraca (1 a 3), moderada (4 a 6) e forte (acima de 7) (AKOGLU, 2018). O valor de significância para todas as análises foi de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Controle de qualidade analítico

Encontram-se na tabela 1 os respectivos valores de média, recuperação e limite de detecção da técnica dos materiais de referência certificados utilizados na validação das determinações de Hg_{total} , MeHg e Se.

Tabela 1. Recuperações absolutas e percentuais das amostras certificadas utilizadas na validação analítica e os limites de detecção da técnica (LDT).

Material de Referência Certificado		n	Elemento	V.R (mg kg ⁻¹)	Média±D.P. (mg kg ⁻¹)	R.M. (%)	LDT Médio (mg kg ⁻¹)
BCR®-463	16	Hg	2,85	2,78±0,036	97,7	0,018	
BCR®-463	6	MeHg	3,04	2,61±0,01	86	0,000005	
DORM-2	10	Se	1,40	1,43±0,077	102,5	0,0050	

V.R: valor de recuperação; D.P.: desvio padrão; LDT: Limite de detecção da técnica;

A confiabilidade dos resultados obtidos neste trabalho está garantida a partir dos valores de recuperação média dos materiais de referência certificados, levando em consideração que todas as amostras obtiveram o mesmo tratamento analítico, de acordo com a técnica utilizada. São substâncias adquiridas a partir de fontes governamentais ou industriais e que contêm um ou mais analitos cujas concentrações são conhecidas e que serão submetidas aos mesmos procedimentos analíticos que as amostras de rotina do laboratório.

Os valores obtidos nas análises foram comparados com os fornecidos pelas fabricantes, e indicaram uma exatidão confiável uma vez estiveram dentro de uma faixa percentual de desvio, esses valores obtidos são denominados como valores de recuperação. Esses valores “reais” dos materiais certificados são apenas resultados consensuais de laboratórios acreditados e considerados como os que mais se aproximam da realidade (JARDIM e SODRÉ, 2009; SKOOG et al, 2008).

6.2 Implementação e validação do método de quantificação de Se por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES-HG)

6.2.1 Calibração da Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente e geração de hidretos (ICP-OES-HG) para quantificação de Se

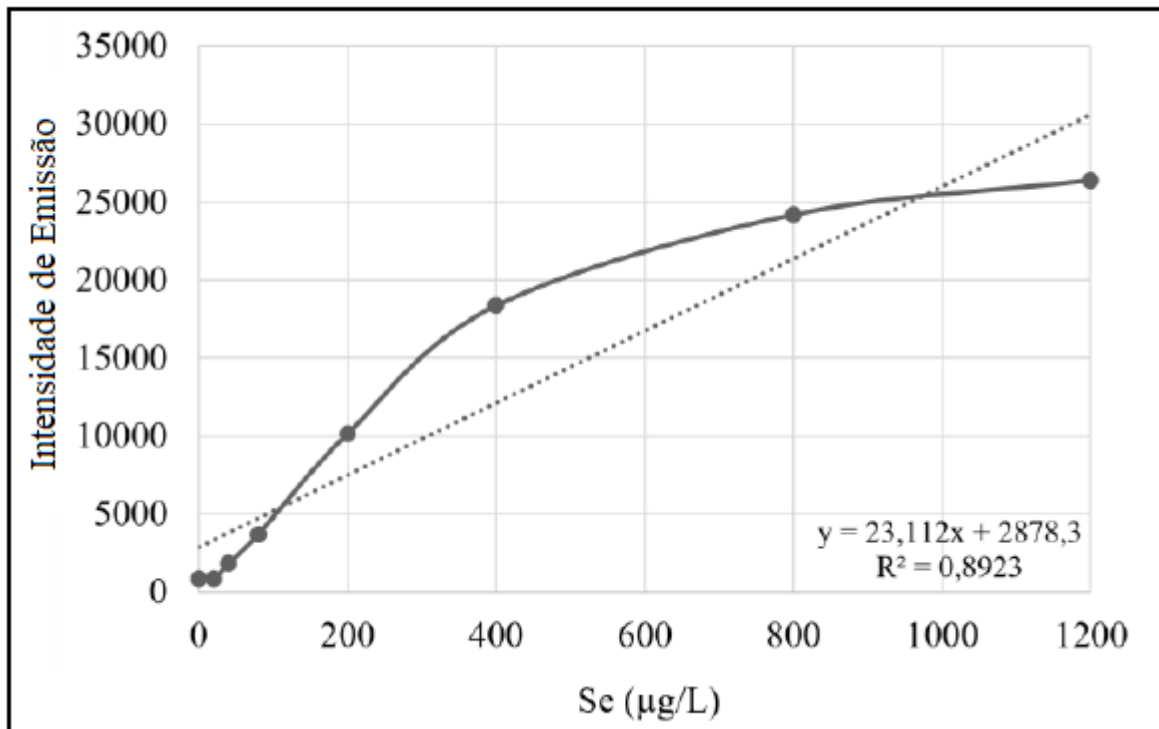
Para a calibração do ICP-OES-HG foi utilizada a solução padrão de Se (50 mg/L) Perkin Elmer®. Os pontos da curva de calibração foram feitos no dia da análise e foram aquecidos em banho-maria (Biopar Modelo BMD03) a 85° C por 30 minutos para que ocorresse a reação de pré-redução do Se. Para a redução utilizou-se uma solução mista de borohidreto de sódio (NaBH₄) 0,2% (m/v) (Sigma-Aldrich®) e hidróxido de sódio (NaOH) 0,05% (m/v) (Vetec®) e como agente oxidante, uma solução de HCl 3% (v/v) (Merck®).

No primeiro momento utilizou-se a mesma amplitude concentrações para quantificação de elementos-traço já realizadas no LABGEOQ, como ferro, cobre entre outros. Alguns parâmetros e condições de operação instrumental do ICP-OES foram modificadas (Quadro 1), uma vez que para esta nova análise foi integrada geração de hidretos. As concentrações foram de 20, 40, 80, 200, 400, 800, 1200 µg L (ppb), além do zero da calibração. No entanto, como é demonstrado na figura 6, nos pontos de maiores concentrações o analito saturou e nos levou a diminuir as concentrações utilizadas para a calibração.

Quadro 1. Parâmetros e condições de operação do ICP-OES-HG.

Parâmetros	Valor Estabelecido
Potência da radio frequência	1500 w
Vazão do plasma	8 L/min
Vazão do gás auxiliar	0,2 L/min
Vazão do gás nebulizador	0,5 L/min
Tipo de visão	Axial
Tempo de leitura	2 a 10 segundos
Tempo de atraso da leitura	30 segundos
Replicatas	3
Vazão da amostra	0,5 mL/min
Tempo de enxágue	15 segundos
Vazão de água de enxágue	1,5 mL/min

Figura 6. Primeira calibração para quantificação de Se por meio do ICP-OES-HG.



Após os ajustes de concentrações (Quadro 2), seguindo os mesmos métodos de preparo dos pontos da curva e os mesmos parâmetros, já obtivemos um resultado mais significativo do ponto de vista analítico, com um $R^2 = 0,9979$ (Figura 7). Após o primeiro resultado positivo da curva, foram realizadas outras calibrações e a partir delas, utilizando as mesmas concentrações da curva de calibração do Quadro 2, parâmetros e condições, obtivemos sucesso em todas, obtendo um R^2 sempre próximo de 1, como podemos observar na figura 8.

Quadro 2. Concentração dos pontos de calibração para Se utilizando o ICP-OES-HG.

Ponto da Curva	Concentração (µg/L)
P0	0 (branco da calibração)
P1	10
P2	30
P3	50
P4	70
P5	90
P6	110
P7	130

Figura 7. Segunda calibração para quantificação de Se por meio do ICP-OES-HG.

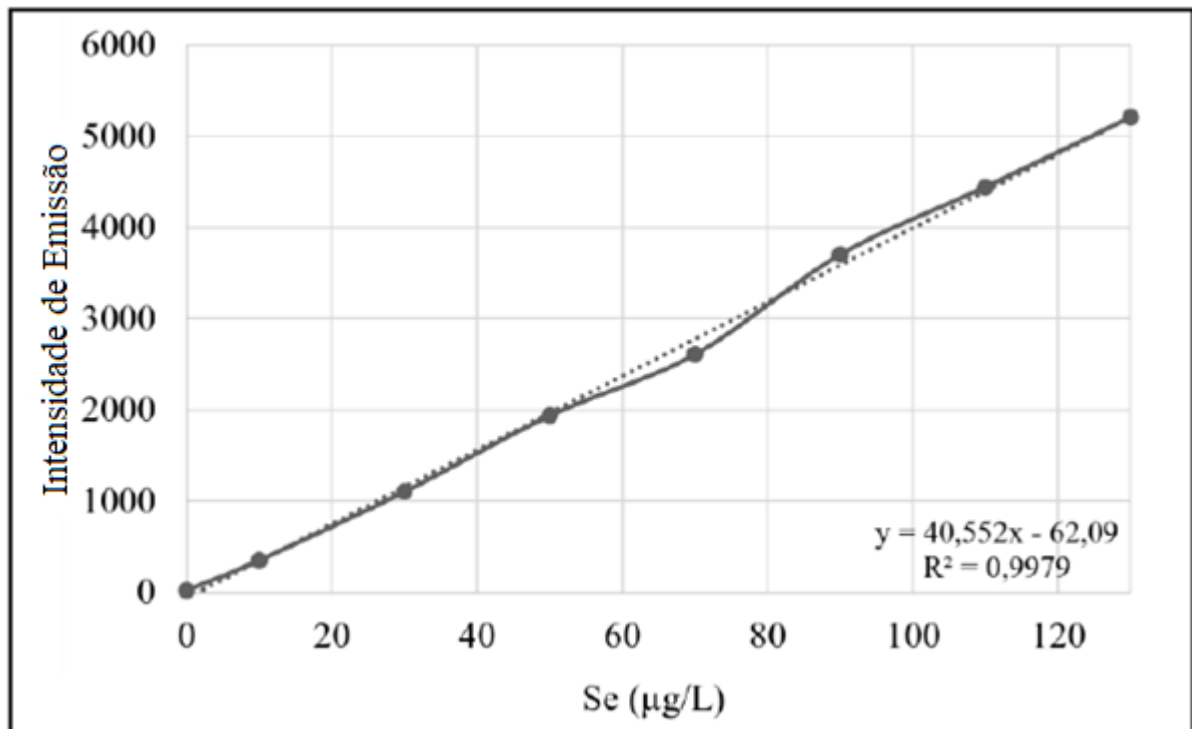
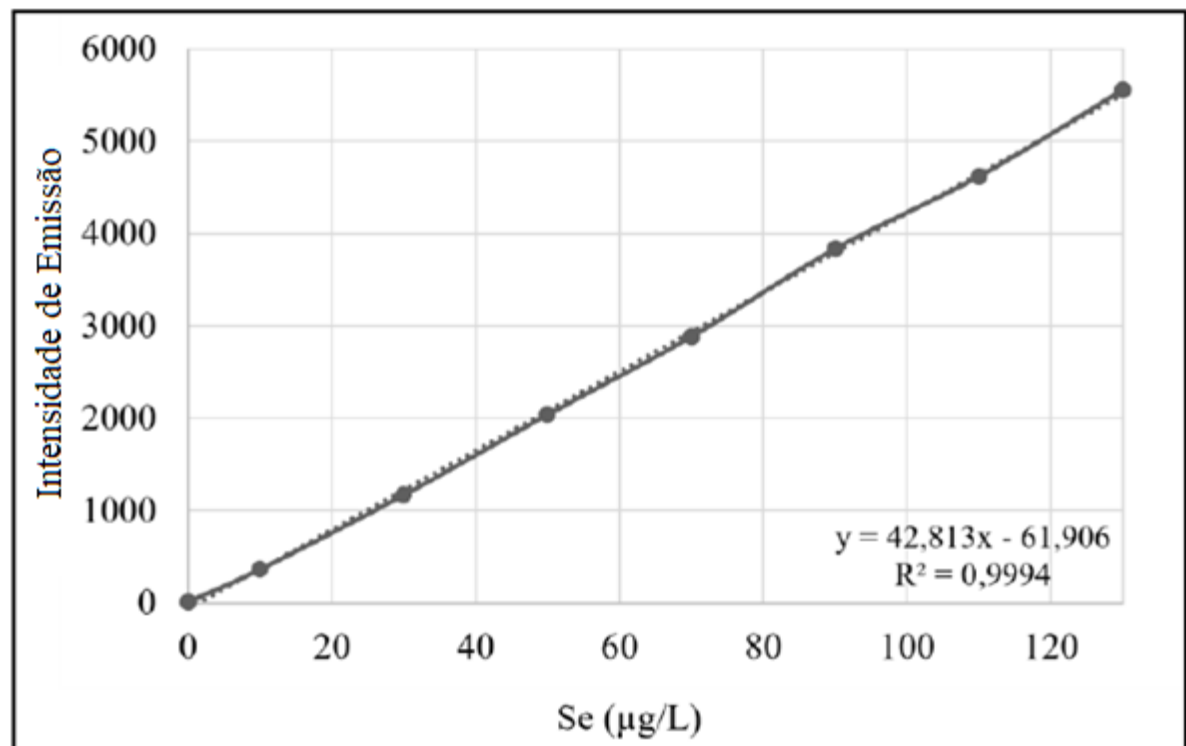


Figura 8. Terceira calibração para quantificação de Se por meio do ICP-OES-HG.



Este trabalho teve como principal desafio a implantação do preparo e determinação de Se no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental WCP utilizando o ICP-OES-HG, uma vez que as determinações de Hg_{total} e de MeHg possuem suas determinações consolidadas. Com isso, um trabalho em equipe e de revisão foi desenvolvido, buscando inserir protocolos, levando em consideração a realidade do ambiente de pesquisa, para calibração, preparo de amostras biológicas e a determinação de Se.

6.2.2 Preparo das amostras para a quantificação de Se

Para a implementação da quantificação de Se utilizando a Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente por geração de hidretos (ICP-OES-HG), foram realizados 3 pilotos, utilizando amostras animais e vegetais, e para validação utilizou-se o material de referência certificado DORM-2 (*National Research Council, Canadá*). Para cada piloto seguimos os seguintes métodos:

- Método I: para a solubilização química das amostras utilizou-se 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30% (m/m) (Merck®) e esperou-se reagir com a amostra. Em seguida adicionou-se 4,0 mL de uma solução-mista dos ácidos nítrico (HNO_3) 65% (m/m) (Merck®) e sulfúrico (H_2SO_4) 97% (m/m) (Merck®) na proporção 1:1 (solução sulfonítrica). Posteriormente, as amostras foram levadas ao bloco digestor à 85 °C por 30 minutos. Depois de esfriarem, foram adicionados 5 mL de permanganato de potássio ($KMnO_4$) 5% (m/v) (Merck®) (figura 17) e novamente foram levadas ao bloco digestor (Tecnal TE-007MP) à 70° C por 20 minutos. Após esta etapa, as amostras foram reservadas e ficaram em *overnight*. Após o período de *overnight*, as amostras foram tituladas com 0,5 mL de cloridrato de hidroxilamina ($NH_2OH.HCl$) 12% (m/v) (Merck®) para a eliminação do excesso de $KmnO_4$ e levadas para o agitador de tubos do tipo vórtex (Fisatom® 772) para acelerar a reação química.
- Método II: Este piloto foi realizado utilizando dois tipos de equipamento para aquecimento das amostras à temperatura de 85 °C, contudo foram utilizadas as mesmas amostras nos diferentes equipamentos: bloco digestor (Tecnal TE-007MP) e o banho-maria (Biopar Modelo BMD03). Adicionou-se 0,5 mL de H_2O_2 30% (m/m) (Merck®). Após reagir, adicionou-se 4 mL HNO_3 concentrado. Posteriormente, os tubos têm sua abertura levemente fechadas e foram levados ao bloco digestor/banho-maria pré-aquecidos por 30 minutos a 85 °C. Em seguida, após o esfriamento, os tubos foram descobertos e foram

adicionados 1,5 mL de água ultrapura e 4,0 mL de HCl (Merck®) 15 mol L⁻¹ concentrado e foram levados o bloco digestor/banho-maria por mais 30 minutos a 85° C. Após as amostras atingirem a temperatura ambiente, foram transferidas para um tubo Falcon de 15 mL e o volume foi aferido para 10 mL com água ultrapura.

- Método III: Adicionou-se 1 mL de H₂O₂ 30% (m/m) (Merck®). Após reagir, adicionou-se 4 mL HNO₃ concentrado. Posteriormente, os tubos têm sua abertura levemente fechadas e foram levados ao bloco digestor (Tecnal TE-007MP) pré-aquecido por 30 minutos a 85 °C. Em seguida, após o esfriamento, os tubos foram descobertos e foram adicionados 1,5 mL de água ultrapura e 4,0 mL de HCl (Merck®) 5 mol L⁻¹ e foram levados o bloco digestor por mais 30 minutos a 85° C. Após as amostras atingirem a temperatura ambiente, foram filtradas e transferidas para um tubo Falcon de 15 mL e o volume foi aferido para 10 mL com água ultrapura.

Na tabela 2 temos os resultados de recuperação dos três pilotos realizados. Com os piloto II observou que a acidez era um fator importante com relação a quantificação do Se, com isso, no piloto III foi utilizado o HCl (Merck®) 5 mol L⁻¹ e obtivemos a recuperação do material de referência certificado dentro dos limites aceitáveis.

Tabela 2. Tabela de recuperação média e desvio padrão dos diferentes métodos utilizados na implementação e validação da quantificação de Se por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente com geração de hidretos (ICP-OES-HG).

Método	Material de Referência Certificado	n	Valor de Referência (mg kg ⁻¹)	Média±D.P. (mg kg ⁻¹)	R. M. (%)
I	DORM-2 (<i>National Research Council, Canadá</i>)	4	1,4	0,65±0,0210	46%
II	DORM-2 (<i>National Research Council, Canadá</i>) (bloco digestor)	4	1,4	0,73±0,079	53%
	DORM-2 (<i>National Research Council, Canadá</i>) (banho-maria)	4	1,4	0,31±0,016	22%
III	DORM-2 (<i>National Research Council, Canadá</i>)	4	1,4	1,43±0,024	106%

D.P.: desvio padrão; n: número amostral; R.M.: recuperação média.

Observou-se que a acidez foi o principal fator de insucesso dos dois primeiros métodos para determinação de Se. Ao diminuir a acidez, obteve-se sucesso nos demais testes. Sendo assim, o pH foi um fator limitante na quantificação do Se. Com relação à isso, Silva Junior et al. (2017) relata que solos com pH ácido tendem a ter baixas concentrações de Se e Paikaray (2016) sugere a acidificação de solos alcalinos como prevenção contra a toxicidade causada pelo excesso de Se no solo selenífero em uma região da Índia, ou seja, acredita-se que assim como nos solos, o pH ácido também interfira no preparo de amostras animais e vegetais para determinação de Se.

6.3 Mercúrio total (Hg_{total}) e metilmercúrio (MeHg)

6.3.1 Mercúrio total (Hg_{total})

O Hg_{total} foi determinado em 797 espécimes, distribuídas taxonomicamente em 4 ordens. Characiformes representou 63% do total de amostras, seguidas de Perciformes (18%), Siluriformes (16%) e Clupeiformes (3%). Foram identificadas de 21 espécies, distribuídas em 14 famílias (QUEIROZ et al., 2013).

O menor valor encontrado foi de 0,009 mg kg⁻¹ (*M. duriventri*) e maior de 3,00 mg kg⁻¹ (*C. pleiozona*). Com relação ao nível trófico, os carnívoros e piscívoros representam 26,65 e 27,35% do total de espécies analisadas, respectivamente, seguidas dos detritívoros (23%), planctívoros (13%) e herbívoros (10%). Os peixes de maior nível trófico, como os carnívoros e piscívoros, apresentaram as maiores médias de Hg_{total} , acima de 1,00 mg kg⁻¹. Dos não predadores, somente os planctívoros estiveram acima de 0,50 mg kg⁻¹ limite máximo permitido (ANVISA, 2013) (Tabela 3).

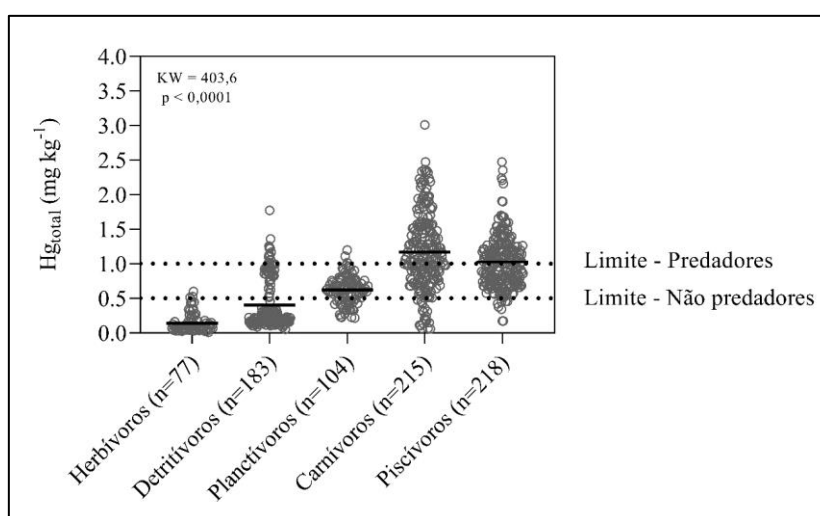
Tabela 3. Tabela com as médias de Hg_{total} por guilda trófica, intervalo e desvio padrão (D.P.).

Guilda	n	Média Hg_{total} (mg kg⁻¹)	Intervalo (min – max)
Herbívoros	77	0,139±0,13	(0,009-0,599)
Detritívoros	183	0,403±0,35	(0,051-1,719)
Planctívoros	104	0,620±0,20	(0,214-1,200)
Carnívoros	215	1,169±0,54	(0,059-3,009)
Piscívoros	218	1,025±0,37	(0,170-2,302)

n: número amostral; min.: mínimo; max: máximo; D.P.: desvio padrão.

Das cinco guildas estudadas, três apresentaram níveis acima do que é estabelecido para o consumo de acordo com a legislação nacional (ANVISA, 2013) (Figura 9). Os dados obtidos estão em concordância com o que foi descrito na literatura para a localidade (AZEVEDO et al., 2021; AZEVEDO et al., 2020; MUSSY, 2018; BASTOS et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2010) Os peixes planctívoros, considerados não predadores, apresentaram média maior que 0,50 mg kg⁻¹.

Figura 9. Gráfico geral as concentrações de Hg_{total} por guilda trófica e limite ANVISA para predadores e não predadores.



Esses valores podem estar relacionados ao fato de que o lago Puruzinho recebe influência sazonal do Rio Madeira (NASCIMENTO et al., 2007). Nascimento et al. (2007) demonstraram que os níveis de Hg_{total} nos plânctons do lago Puruzinho já eram considerados altos e característicos de ambientes contaminados, muito antes da construção dos reservatórios no Rio Madeira. Os valores obtidos de Hg_{total} para a guilda planctívora podem estar associados também à produção e exportação de MeHg característicos em ambientes que sofrem represamento e que exercem influência no aumento, assim como foi observado por Kasper et al. (2012), para o grupo de plânctons e peixes predadores.

No entanto, é necessário evidenciar que muitas espécies podem mudar seus hábitos alimentares periodicamente de acordo com a quantidade de recursos disponíveis no meio, ou seja, por razões adaptativas (BASTOS et al, 2007). Portanto, vários fatores podem ter influenciado a bioacumulação de Hg_{total} nessa guilda.

Quanto às espécies, das 21 estudadas, 9 apresentaram médias acima do que define a ANVISA (2013), sendo elas: *A. falcistrostris*, *A. elongatus*, *C. macropterus*, *C. pleiozona*, *H.*

unimaculatus, *H. marginatus*, *P. castelnaeana*, *P. hemioliopterus* e *R. vulpinus* (Tabela 4). Por espécie, *M. aureum* apresentou a menor média (0,053 mg kg⁻¹) e a espécie *C. pleiozona* a maior média (1,388 mg kg⁻¹).

Tabela 4. Média geral das concentrações de Hg_{total} por espécie de peixe, desvio padrão intervalo.

Espécie	n	Média±D.P. Hg_{total} (mg kg⁻¹)	Intervalo (min – max)	Limite ANVISA
<i>A. falcistrostris</i> ^e	44	1,215±0,382	0,512 – 2,239	Acima
<i>A. inermis</i> ^d	8	0,846±0,342	0,424 – 1,277	Abaixo
<i>A. elongatus</i> ^c	39	0,621±0,243	0,213 – 1,200	Acima
<i>C. macropterus</i> ^d	5	1,238±0,403	0,843 – 1,900	Acima
<i>C. pleiozona</i> ^d	127	1,388±0,483	0,564 – 3,009	Acima
<i>H. unimaculatus</i> ^b	54	0,853±0,267	0,131 – 1,360	Acima
<i>H. malabaricus</i> ^d	55	0,875±0,512	0,104 – 2,227	Abaixo
<i>H. marginatus</i> ^c	65	0,619±0,174	0,329 – 1,109	Acima
<i>M. aureum</i> ^a	44	0,053±0,021	0,021 – 0,116	Abaixo
<i>M. duriventri</i> ^a	3	0,090±0,07	0,009 – 0,146	Abaixo
<i>P. castelnaeana</i> ^e	27	1,289±0,513	0,455 – 2,473	Acima
<i>P. hemioliopterus</i> ^e	8	0,804±0,275	0,542 – 1,249	Acima
<i>P. pirinampu</i> ^e	39	0,808±0,285	0,170 – 1,398	Abaixo
<i>P. squamosissimus</i> ^d	20	0,703±0,423	0,059 – 1,481	Abaixo
<i>P. altamazonica</i> ^b	22	0,246±0,344	0,104 – 1,771	Abaixo
<i>P. latior</i> ^b	15	0,237±0,077	0,087 – 0,342	Abaixo
<i>P. amazônica</i> ^b	1	0,113	-	Abaixo
<i>R. vulpinus</i> ^e	46	1,074±0,289	0,549 – 1,603	Acima
<i>S. fasciatus</i> ^a	30	0,368±0,562	0,071 – 3,248	Abaixo
<i>S. rhombeus</i> ^e	54	0,887±0,262	0,341 – 1,337	Abaixo

a: herbívoro; b: detritívoro; c: planctívoro; d: carnívoros; e: piscívoro; Max.; máximo; Min.; mínimo; n: número amostral;

Somente essas 9 espécies têm uma representatividade de 51% do total de amostras analisadas para Hg_{total}. Apesar desses níveis, convém ressaltar que de acordo com Oliveira et al. (2010) os táxons que fazem parte da dieta local da comunidade da área de estudo são

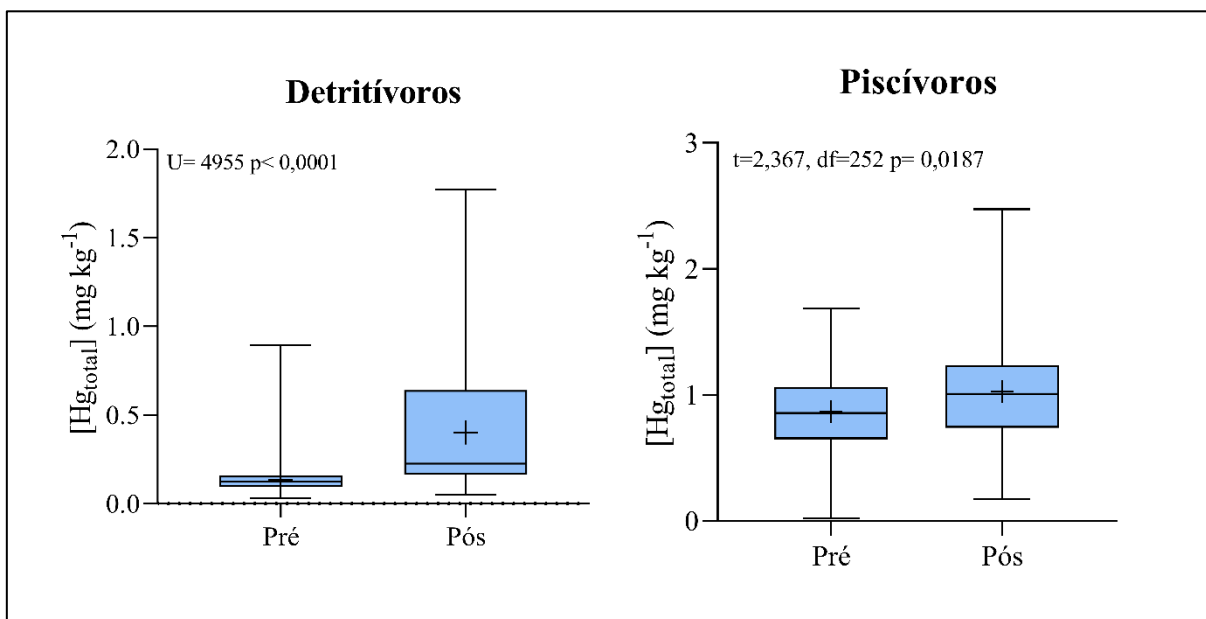
compostos por peixes com baixos níveis de Hg_{total}. Porém, ao comparar os níveis dos peixes desta pesquisa com o estudo de Oliveira et al. (2010) e de Mussy (2018) (período de coleta entre 2009 e 2011, no pré-enchimento do reservatório da Santo Antônio Energia - SAE), que foram realizados no mesmo local de estudo, observa-se uma tendência de aumento nas concentrações de Hg_{total} em algumas espécies em comum, como podemos observar na tabela 5.

Tabela 5. Tabela comparativa das concentrações médias de Hg_{total} (médias) entre os estudos de Oliveira et al. (2010), Mussy (2018) e o presente estudo.

Espécie	Oliveira et al (2010) Hg_{total} (mg kg⁻¹)	Mussy (2018) Hg_{total} (mg kg⁻¹)	Presente Estudo Hg_{total} (mg kg⁻¹)
<i>A. falcistrostris</i>	0,211	0,979	1,215
<i>A. inermis</i>	-	-	0,846
<i>A. elongatus</i>	-	0,466	0,621
<i>C. macropterus</i>	-	0,781	1,238
<i>C. pleiozona</i>	-	1,047	1,388
<i>H. unimaculatus</i>	0,284	-	0,853
<i>H. malabaricus</i>	0,608	-	0,875
<i>H. marginatus</i>	0,457	0,735	0,619
<i>M. aureum</i>	-	-	0,053
<i>M. duriventri</i>	-	0,006	0,090
<i>P. castelnaeana</i>	1,148	0,710	1,289
<i>P. hemioliopterus</i>	-	-	0,804
<i>P. pirinampu</i>	-	-	0,808
<i>P. squamosissimus</i>	0,628	-	0,703
<i>P. altamazonica</i>	-	-	0,246
<i>P. latior</i>	0,131	0,126	0,237
<i>P. nigricans</i>	-	0,224	0,203
<i>P. amazonica</i>	-	0,144	0,113

Estatisticamente comprovou-se o aumento do Hg_{total} nos peixes do Puruzinho entre pré-enchimento e pós-enchimento à nível trófico. De modo geral a diferença foi significativa (U = 53231; p < 0,0001). Apenas para planctívoros e carnívoros não houve diferença significativa, porém a guilda detritívora apresentou aproximadamente o triplo da média do pré-enchimento (Figura 10).

Figura 10. Comparação entre as contrações de Hg_{total} no período de pré-enchimento (2009 a 2011) e o período de pós enchimento (2019 e 2020) para as guildas detritívoras e piscívoras.



Algo que deveria ser positivo é a diminuição da quantidade de peixe ingerida ao longo do tempo pela comunidade do Puruzinho, relatada por Mendes et al. (2021). Este fato, intrinsecamente relacionado aos programas de distribuição de renda do governo federal, tem proporcionado uma diversificação na alimentação por meio da inserção de outras fontes de proteína animal, como frango, carne vermelha, embutidos e produtos enlatados (MENDES et al., 2021). No entanto, observou-se o aumento nos níveis de Hg_{total} em diversas espécies, inclusive nas de baixo nível trófico que são preferencialmente consumidas pela comunidade (OLIVEIRA et al., 2010) (Figura 10, Tabela 5).

Alguns eventos podem ter colaborado para o aumento desse Hg nos últimos anos, como o das queimadas, do garimpo de ouro na bacia do Rio Madeira (PESTANA et al., 2022), a construção de duas usinas hidrelétricas no Rio Madeira, aumento do desmatamento na região da BR-319 que está sob obras de pavimentação podem ter favorecido as condições que levam a metilação do Hg, como a anoxia, acidez, aumento da matéria orgânica dissolvida e aumento da atividade microbiológica, ao modificar o ambiente (LACERDA; MALM, 2008).

O aumento dos níveis de Hg em peixes à jusante de reservatórios, assim como neste trabalho, foi observado em outros estudos realizados na Amazônia (KASPER et al., 2012). Schetagne e Verdon (1999) identificaram níveis de Hg a 300 km de distância à jusante de um reservatório no Canadá e que se assemelharam aos níveis de peixes próximos ao reservatório.

Kasper et al. (2014) identificou o mesmo evento em uma distância menor no reservatório de Balbina (AM).

Os níveis de Hg nos peixes do Puruzinho podem estar sofrendo influência da exportação do MeHg de montante dos reservatórios de Jirau e Santo Antônio, localizados no Rio Madeira, e das condições ambientais favoráveis de produção local de MeHg no lago, assim como sugere Brito et al. (2017) em seu estudo. Convém lembrar que sazonalmente o lago Puruzinho apresenta na coluna d'água baixos níveis de pH, oxigênio dissolvido e grande carga de matéria orgânica (NASCIMENTO et al., 2007), características favoráveis à metilação, e possivelmente os eventos ocorridos nos últimos anos tenham potencializado esse processo, resultando no aumento dos níveis de Hg nos peixes desse lago.

Sazonalmente, de modo geral, o período de águas altas (AA) mostrou-se diferente de águas baixas (AB), bem como AB apresentou diferença significativa com relação a vazante (V) (KW = 16,88; p = 0,0007) (Figura 11). Houve diferença significativa com relação às guildas tróficas (KW = 403; p < 0,0001) (Figura 12).

Figura 11. Gráfico geral da variação sazonal das concentrações de Hg_{total} em peixes do lago Puruzinho (AM).

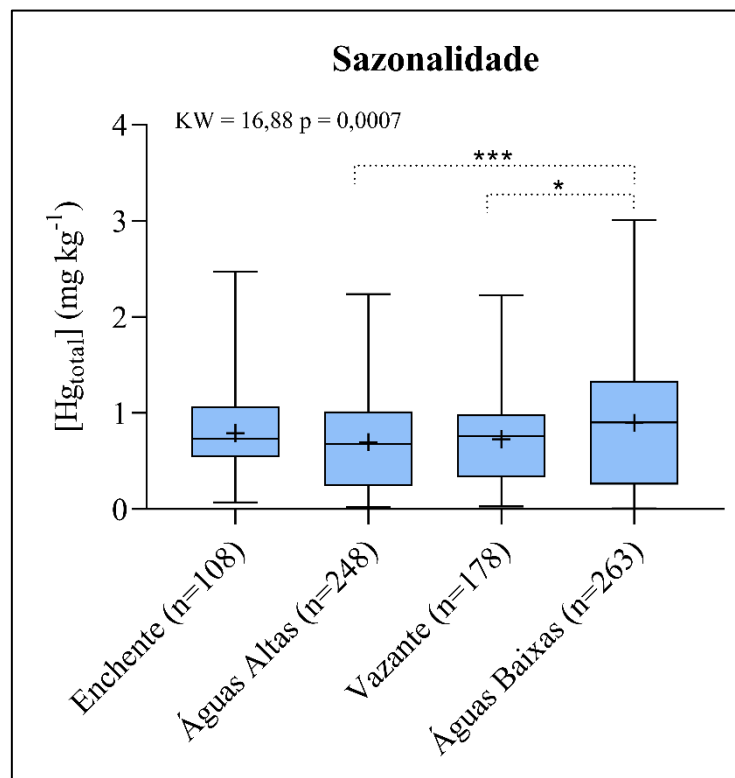
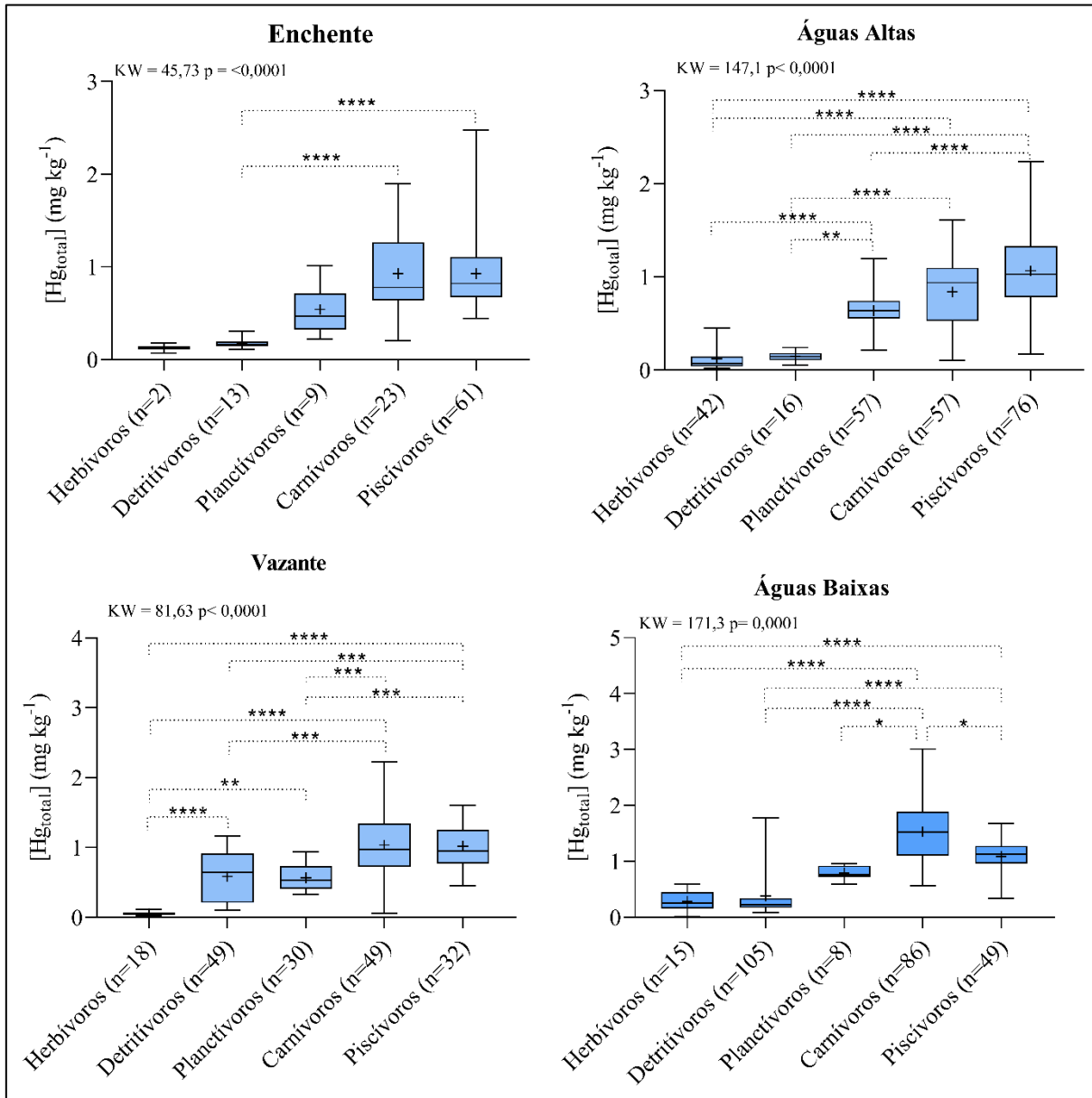


Figura 12. Distribuição das concentrações de Hg_{total} por período sazonal nas diferentes guildas tróficas.



Nas comparações entre os períodos sazonais observou-se que na E os detritívoros apresentaram diferença em relação aos carnívoros e piscívoros (KW = 45,73; p < 0,0001) (Figura 12). Nas AA os herbívoros não apresentaram diferença significativa apenas para os detritívoros e vice-versa (Figura 12). Na V somente detritívoros e planctívoros e carnívoros e piscívoros não apresentaram diferenças significativa (Figura 12). Nas AB herbívoros e detritívoros apresentaram diferença para os topos de cadeia (carnívoros e piscívoros), no

entanto entre peixes de guildas não predadoras não houve diferença. No mesmo período os carnívoros e piscívoros foram diferentes ($p = 0,0291$) (Figura 12).

De modo geral, o período de AA apresentou a menor concentração média de Hg_{total} em relação à V e à AB. Esses dados são coerentes com os encontrados por Azevedo et al. (2022), e foram atribuídos à influência das águas brancas do Rio Madeira com as águas pretas do Lago Puruzinho nas AA. Essa relação entre sazonalidade e disponibilidade de Hg pode explicar as menores concentrações no período de AA para herbívoros, planctívoros e carnívoros (BISINOTI et al., 2007; AZEVEDO et al., 2020).

Nas AB a acidez do pH no lago Puruzinho diminui, como observado por Almeida et al. (2014), enquanto nas AA aumenta e interfere nas condições de metilação (AZEVEDO-SILVA et al., 2019). O sedimento de fundo também sofre maior remobilização nesse período (ALMEIDA et al., 2014) e esse fato pode explicar os níveis de Hg_{total} em peixes predadores demersais (*C. macropterus*, *C. pleiozona*, *H. malabaricus* e *P. squamosissimus*), que por característica de forrageio possuem maior contato com o sedimento de fundo.

A sazonalidade é uma variável importante com a relação dinâmica de bioacumulação e biomagnificação (AZEVEDO et al., 2020), pois alguns peixes mudam de hábito alimentar periodicamente (BASTOS et al., 2007), bem como no período de AA as áreas alagadas tornam-se ambientes propícios à metilação (KASPER et al., 2017). Ou seja, toda a dinâmica ambiental muda sazonalmente e influencia o acúmulo de Hg na cadeia trófica.

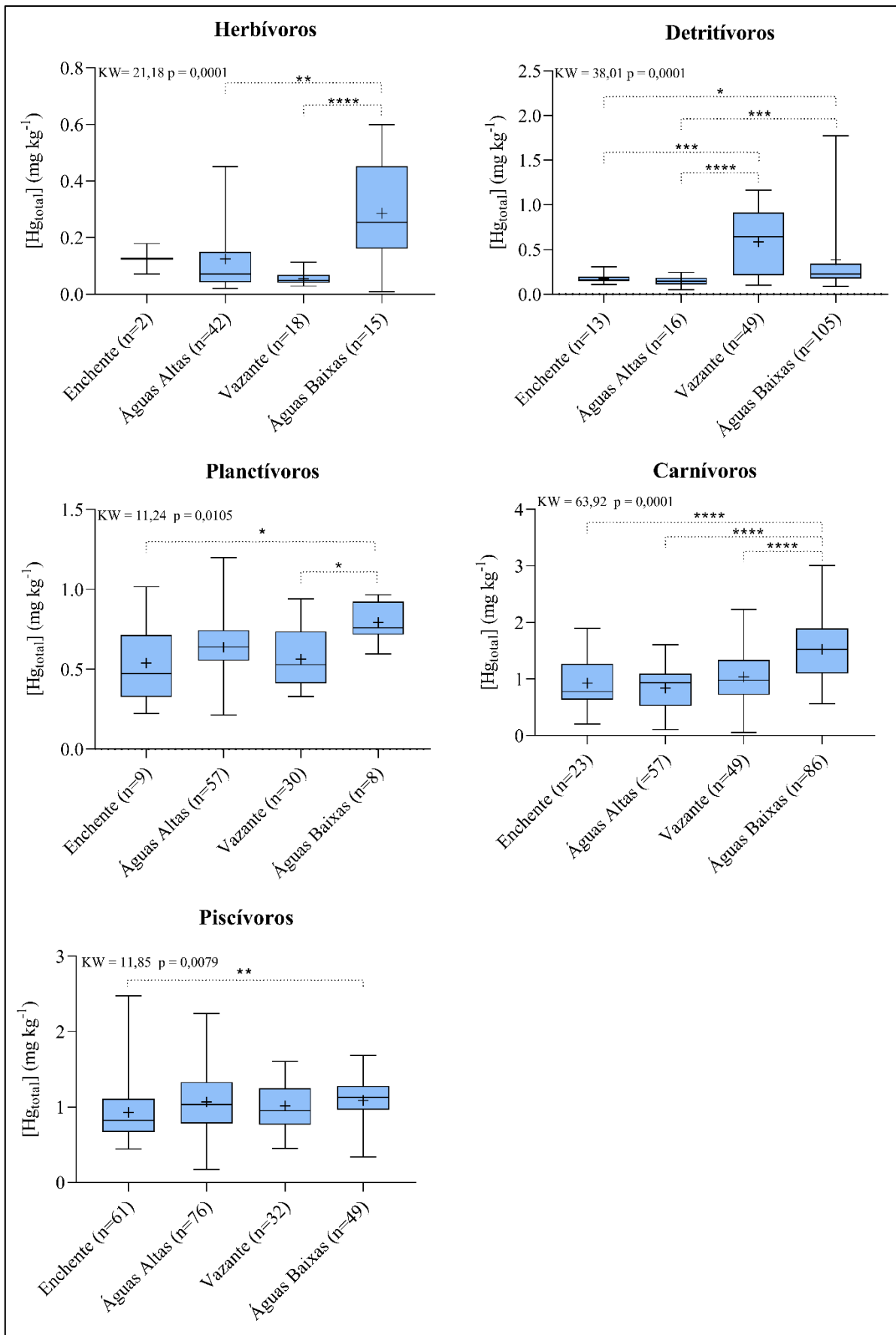
Foram realizadas comparações das guildas tróficas nos diferentes períodos sazonais, com isso observou-se que no período de AA demonstrou diferente que AB ($p = 0,0033$) e V ($p < 0,0001$) para os peixes herbívoros (Figura 13). Para os detritívoros houve diferenças significativas entre todos os períodos sazonais (Figura 13). O período de AB foi diferente com relação enchente (E) ($p = 0,0349$) e V ($p = 0,0143$) para os peixes planctívoros (Figura 13). Para os carnívoros houve diferença entre todos os períodos sazonais, enquanto nas AB as concentrações de Hg_{total} foram superiores que E para os peixes piscívoros ($p = 0,0054$) (Figura 13).

As diferenças entre as mesmas guildas tróficas nos quatro períodos sazonais podem estar relacionadas às mudanças adaptativas do hábito alimentar (BASTOS et al., 2007), à lixiviação resultante dos períodos de cheias que carregam o Hg para os ecossistemas aquáticos (LACERDA et al., 1990; VAN DERVEER et al., 1997; CARVALHO et al., 2018; LINO et al., 2020) e às mudanças físico-química que ocorrem e que podem favorecer o processo de metilação (NASCIMENTO et al. 2007). O habitat de forrageamento e a sazonalidade interagem entre si e influenciam a concentração de Hg. Essa variação nos níveis tem relação com a

diminuição e aumento da competição interespecífica, com fatores ecológicos e características geoquímicas, como aspectos limnológicos, ressuspensão de sedimentos de fundo e taxa de metilação (AZEVEDO-SILVA, 2019).

O pulso de inundação sazonal nos ambientes amazônicos é um processo natural e característico para a região, responsável por transformações ambientais que exercem influência sobre a mudança nas concentrações de Hg nos alimentos que fazem parte da dieta dos peixes e na quantidade e qualidade desse alimento (PAIVA et al., 2022).

Figura 13. Distribuição do Hg_{total} por guildas tróficas nos diferentes períodos sazonais.



O CP e PT, de modo geral apresentaram correlações positivas com as concentrações do Hg_{total} (Figura 14). Os herbívoros apresentaram correlação entre Hg_{total} e CP ($\tau = 0,5528$; $p = 0,0001$) e Hg_{total} e PT ($\tau = 0,4294$; $p = 0,0001$) (Figura 15), os carnívoros idem para CP ($\tau = 0,100$; $p = 0,035$) e PT ($\tau = 0,096$; $p = 0,045$) (Figura 16) e os detritívoros somente para PT ($\tau = 0,188$; $p = 0,0004$) (Figura 17).

A correlação de Kendall entre Hg_{total} e CP indicou correlações para cinco espécies: *C. pleiozona* ($\tau = -0,1759$; $p = 0,0057$), *H. malabaricus* ($\tau = 0,31238$; $p = 0,0010$), *M. duriventri* ($\tau = 0,2721$; $p = 0,0158$), *P. squamosissimus* ($\tau = 0,3872$; $p = 0,0202$) e *S. rhombeus* ($\tau = 0,2670$; $p = 0,0066$).

Figura 14. Figura com os gráficos com as correlações positivas entre CP e PT e as concentrações de Hg_{total} ($n=797$).

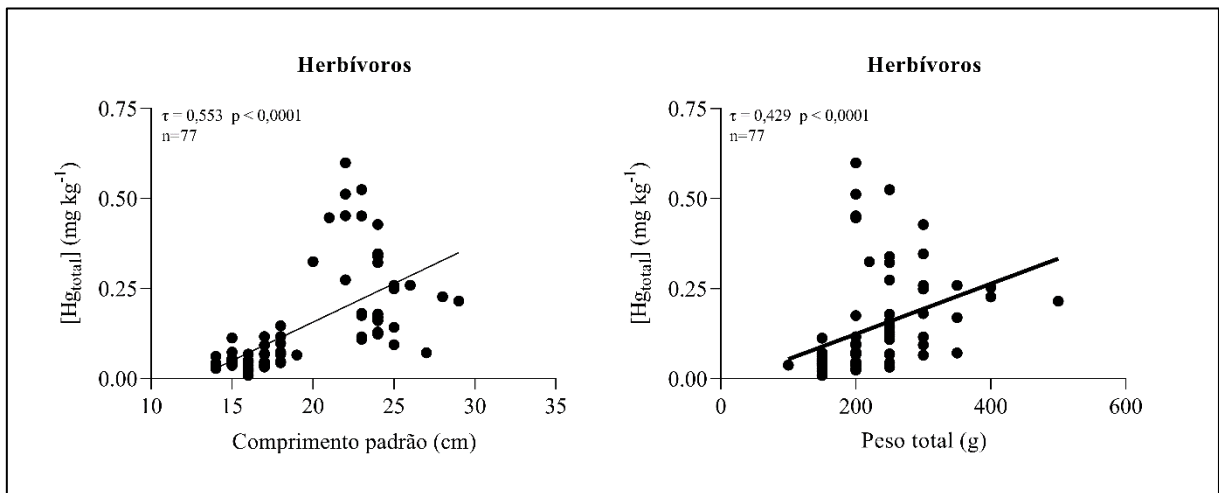


Figura 15. Figura com os gráficos com as correlações positivas entre CP e PT e as concentrações de Hg_{total} em peixes herbívoros ($n=77$).

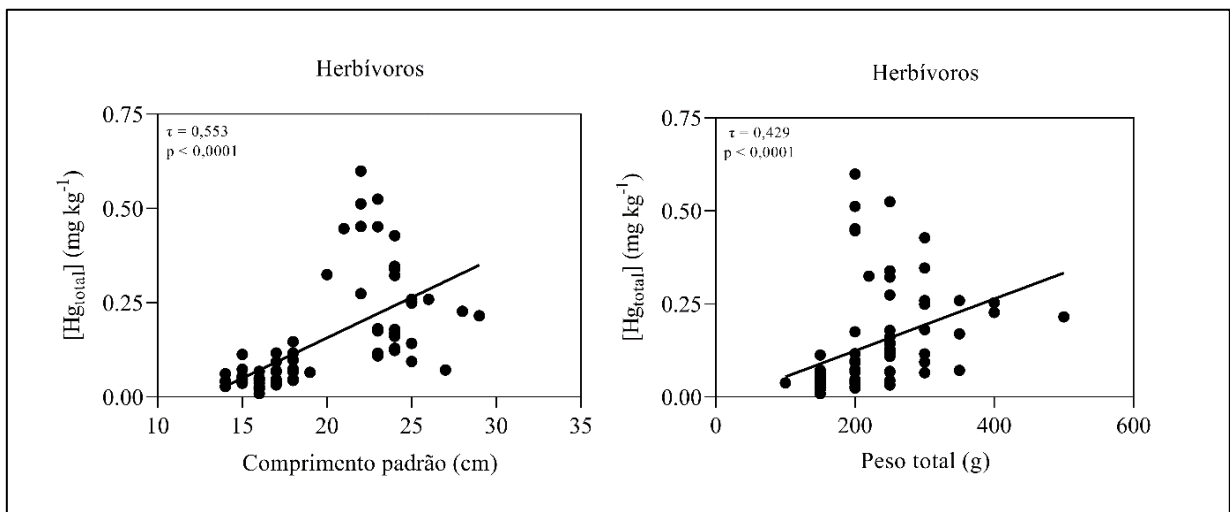


Figura 16. Figura com os gráficos com as correlações negativas entre CP e PT e as concentrações de Hg_{total} em peixes carnívoros (n=215).

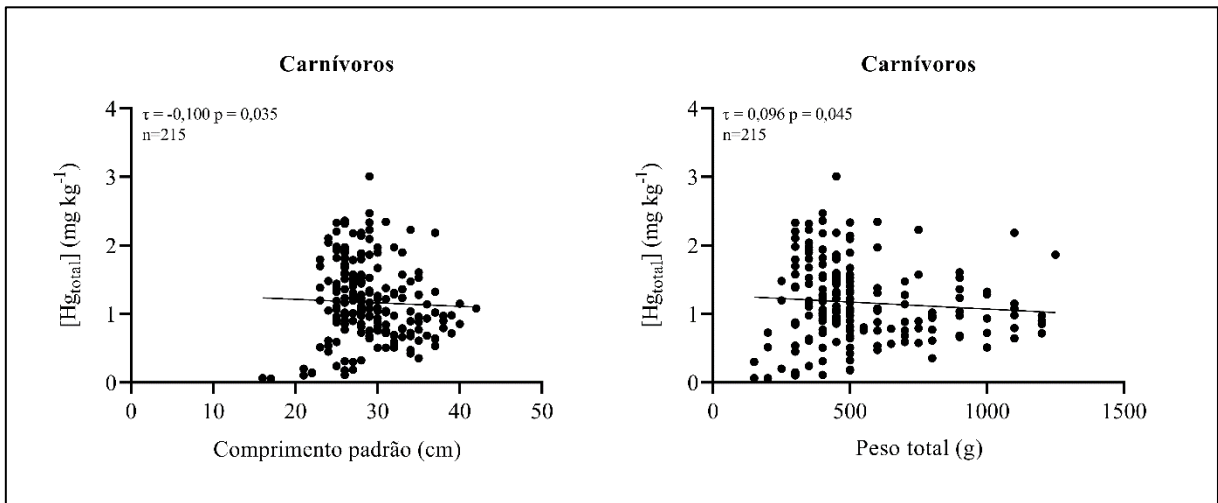
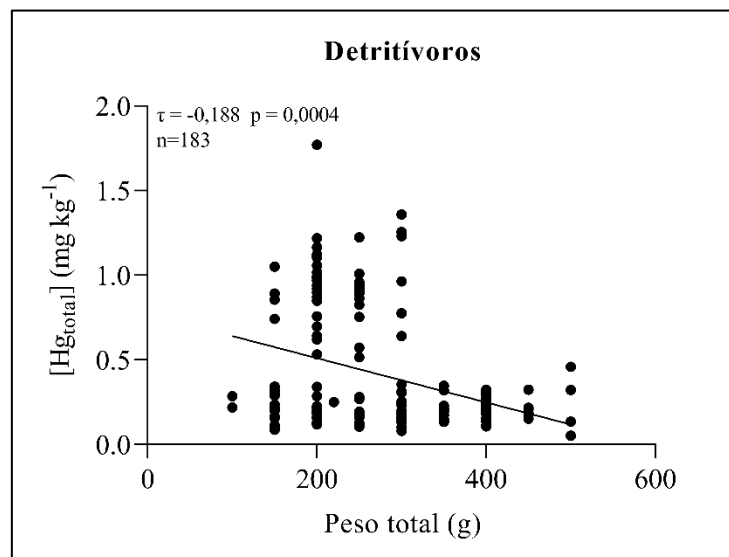


Figura 17. Gráfico com correlação negativa entre PT e as concentrações de Hg_{total} em peixes detritívoros (n=183).



6.3.2 Metilmercúrio (MeHg)

Para MeHg foram analisados 154 espécimes de indivíduos que apresentaram níveis acima do limite recomendado pela ANVISA (2013) para Hg_{total} . O menor valor encontrado $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ (*C. pleiozona* e *H. malabaricus*) e o maior de $2,00 \text{ mg kg}^{-1}$ (*A. falcirostris*). A guilda com a maior média geral foi a piscívora e a menor foi a planctívora (Tabela 6). Como nenhum

indivíduo da guilda herbívora apresentou níveis acima de $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$, não foram quantificados os níveis de MeHg para esse grupo.

Tabela 6. Tabela com valores de média geral de MeHg por guilda trófica, intervalo e desvio padrão.

Guilda	n	MeHg (mg kg^{-1})	Intervalo (min-max)
Detritívoros	11	$0,909 \pm 0,17$	(0,700-1,100)
Planctívoros	19	$0,726 \pm 0,26$	(0,500-1,200)
Carnívoros	84	$0,964 \pm 0,55$	(0,100-2,000)
Piscívoros	40	$1,228 \pm 0,36$	(0,500-2,000)

n.: número amostral; min.: mínimo; max.: máximo.

De modo geral, a guilda trófica planctívora apresentou diferença significativa em relação à carnívora ($p = 0,0218$) e piscívora ($p < 0,0001$) (Figura 18). Por espécie *H. malabaricus* apresentou diferenças significativas com *C. pleiozona*, *P. castelnaeana* e *R. vulpinus* (Figura 19). Houve somente correlações negativas para PT em planctívoros ($\tau = -0,402$; $p = 0,022$) e CP ($\tau = -0,206$; $p = 0,007$) (Figura 20) e PT ($\tau = -0,218$; $p = 0,005$) para carnívoros (Figura 21). A única correlação significativa encontrada foi entre CP e MeHg à nível de espécie foi para *S. rhombeus* ($\tau = -0,8889$; $p = 0,0374$).

Figura 18. Gráfico geral da distribuição das concentrações de MeHg por guilda trófica.

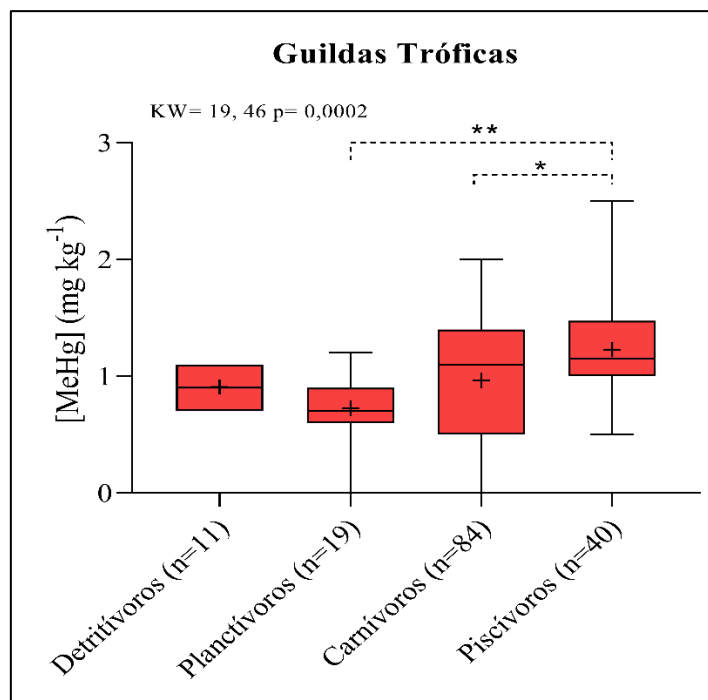


Figura 19. Gráfico evidenciado as diferenças significativas nos níveis de MeHg de *H. malabaricus* entre as espécies *C. pleiozona*, *P. castelnaeana* e *R. vulpinus*.

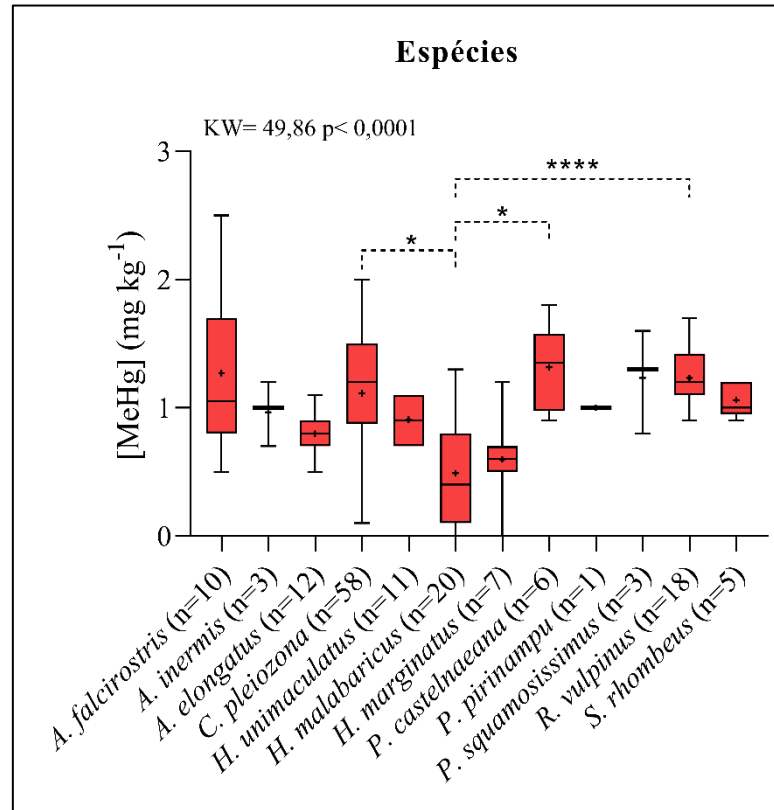


Figura 20. Gráfico com a correlação negativa entre CP e as concentrações de MeHg em peixes planctívoros (n=19).

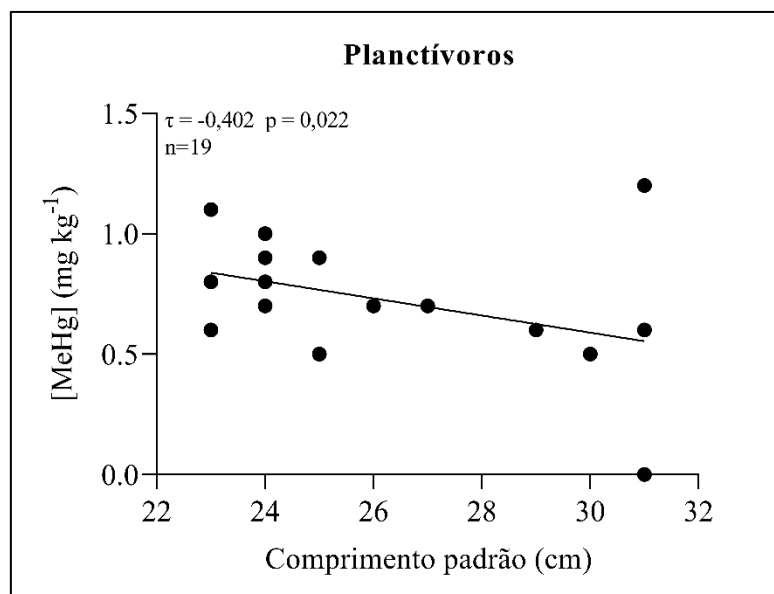
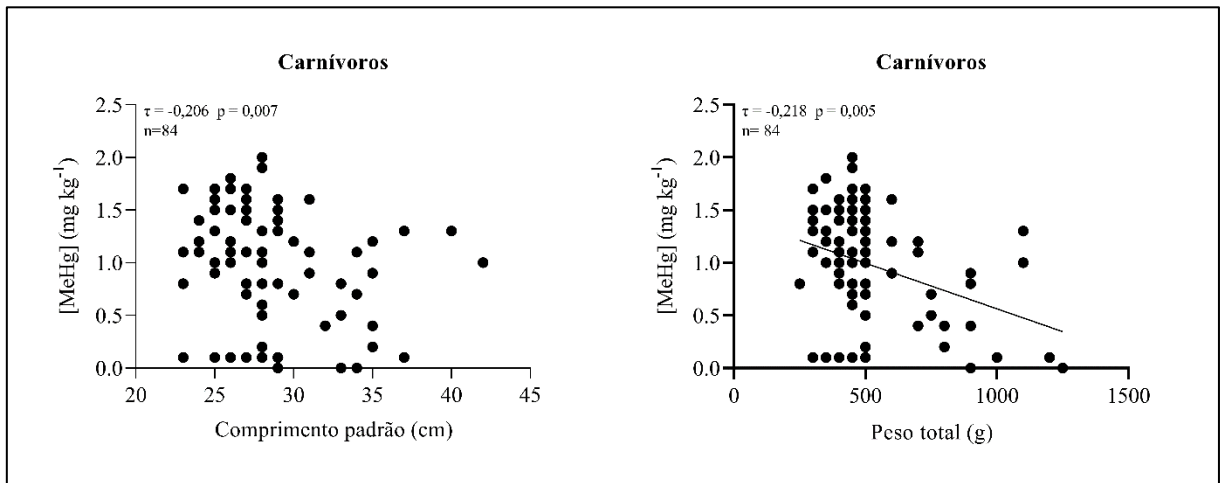


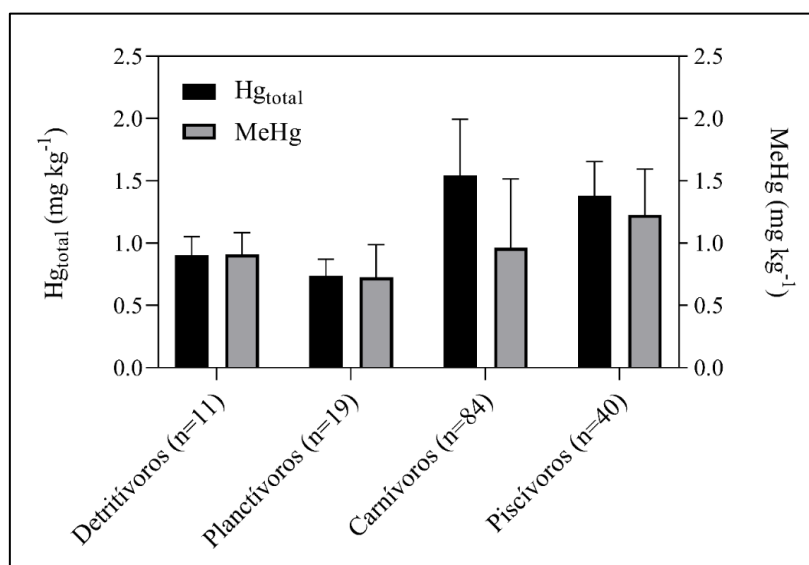
Figura 21. Figura com os gráficos com as correlações negativas em peixes carnívoros para CP e PT e as concentrações de MeHg em peixes carnívoros (n=84).



6.3.3 Razão percentual

A média percentual de MeHg variou entre 64,8% e 100% com relação às guildas tróficas. Respectivamente, os percentuais encontrados em detritívoros foi 100%±16, em planctívoros foi 94,6%±25, em piscívoros foi 88,7%±36 e carnívoros 64,8 %±17. Na figura 22 observamos a comparação dos níveis de Hg_{total} e MeHg.

Figura 22. Gráfico comparativo entre as médias de Hg_{total} e MeHg nas diferentes guildas tróficas.



A razão percentual encontrada com relação ao MeHg esteve dentro dos valores encontrados na Amazônia, na faixa entre 70 e 100%. Os resultados obtidos por Kehrig et al

(2008), Bastos et al. (2015) e Kasper et al. (2018) em estudos realizados na região amazônica, endossam, juntamente com os dados deste estudo, que maior parte do Hg ingerido por meio do pescado está sob a forma mais tóxica, o MeHg. Essas informações são importantes e preocupantes na perspectiva da saúde pública, pois todas as guildas tróficas analisadas neste estudo apresentam níveis altos de MeHg.

6.4 Selênio

As concentrações variaram de 0,0134 mg kg⁻¹ (*A. falcirostris*) a 0,5504 mg kg⁻¹ (*P. castelnaeana*). A maior concentração média de Se por guilda trófica foi encontrada em planctívoros (0,2716 mg kg⁻¹) e menor em herbívoros (0,0992 mg kg⁻¹) (Tabela 7). O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e post hoc de Dunn (KW = 110; p < 0,0001) indicaram na guilda trófica herbívora, de modo geral, diferença significativa (p < 0,0001) com as demais guildas tróficas (Figura 23). Não houve diferença significativa entre detritívoros e carnívoros, e carnívoros e piscívoros. Não houve diferença significativa entre peixes carnívoros e não carnívoros (U = 9576; p = 0,0608) assim como no trabalho Souza et al. (2005).

As concentrações de Se apresentaram um comportamento diferente do que é observado na literatura, pois geralmente as guildas tróficas mais basais apresentam as maiores concentrações (PETERSON et al., 2009; KEHRIG et al., 2008). Essas concentrações tendem a diminuir conforme o nível trófico aumenta. Essa relação foi encontrada por Lino et al. (2018) no Rio Tapajós (PA). No presente trabalho, os herbívoros apresentaram as menores concentrações e os níveis aumentaram conforme o nível trófico aumentou e chegou à sua maior concentração média em planctívoros e foi diminuindo em carnívoros e piscívoros, respectivamente. Os peixes predadores tiveram médias maiores que os não predadores, exceto planctívoros, assim como o trabalho de Dórea et al. (1998) na bacia do Rio Madeira.

Tabela 7. Tabela com as concentrações médias de Se por guilda trófica, valores de mínimos e máximos, desvio padrão e coeficiente de variação.

Hábito Alimentar	n	Média±D.P. (mg kg ⁻¹)	(min-max)
Herbívoro	60	0,0992±0,09	(0,0150-0,3720)
Detritívoro	77	0,1927±0,038	(0,1260-0,2930)
Planctívoro	61	0,2716±0,093	(0,1110-0,5280)
Carnívoro	47	0,1878±0,060	(0,0522-0,3650)

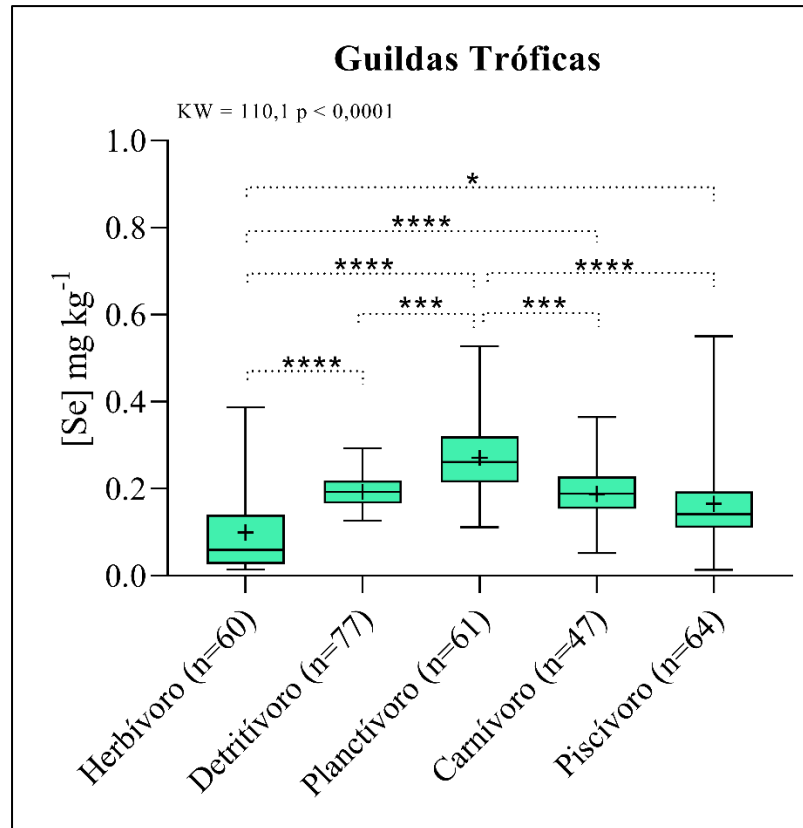
Piscívoro

64

0,1658±0,011

(0,0133-0,5371)

n.: número amostral; D.P.: desvio padrão; min.: mínimo; max.: máximo.

Figura 23. Gráfico da concentração média do Se nas guildas tróficas estudadas.

Zhang et al. (2014) observaram que cereais cultivados em solos com concentrações altas de Hg influenciam na absorção do Se e pode estar correlacionado à formação do complexo SeHg, além também da diminuição da transferência de Hg do cereal para o solo quando os níveis de Se aumentam (XU et al., 2019; ZHANG et al., 2012). A baixa concentração de Se nos herbívoros pode correlacionada com os níveis de Hg nos solos, em especial na Amazônia, onde os níveis são naturalmente consideráveis.

No trabalho de Lino et al. (2020), observou-se na análise de diferentes matrizes que os plânctons, com destaque para os fitoplânctons, apresentam níveis de Se superiores aos peixes. Tal fato pode explicar a maior média geral de Se para a guilda planctívora (Tabela 7). Muito provavelmente a fonte deste Se para os plânctons é o material particulado presente na água que é absorvida por este grupo (LINO et al., 2020).

Sazonalmente, por meio dos testes de diferença ANOVA e post hoc de Tukey HSD, Kruskal-Wallis e post hoc de Dunn e teste t, observou-se diferenças entre todos os períodos

sazonais, ($F_{3,305} = 3,778$; $p = 0,011$), sendo AA e AB superiores a V. Com relação à sazonalidade e as guildas tróficas, o período de E não apresentou diferença. O período de AA apresentou diferenças significativas ($KW = 28,76$; $p < 0,0001$), com maiores concentrações em planctívoros. No período de V houve diferença significativa ($KW = 28,76$; $p < 0,0001$), exceto em detritívoros e piscívoros. A diferença ocorreu também em AB ($KW = 58,52$; $p < 0,0001$), excetuando os peixes herbívoros e piscívoros, e os detritívoros e carnívoros (Figura 24).

A comparação de uma mesma guilda trófica nos diferentes períodos sazonais demonstrou diferença significativa para os herbívoros, uma vez que as concentrações de Se foram superiores em AB em relação a V ($KW = 6,316$; $p = 0,0425$) (Figura 25). Para os detritívoros houve a mesma diferença ($t = 5,145$, $df = 75$; $p < 0,0001$). O Se em AA teve concentrações superior à E para planctívoros ($KW = 12,29$; $p = 0,0064$) (Figura 25). Os peixes de hábito carnívoro e piscívoro não apresentaram diferenças significativas.

A sazonalidade pode influenciar com relação a concentração de Se no sedimento, uma vez que na Amazônia periodicamente grandes áreas sofrem inundações (CANTON; VAN DERVEER, 1997). Nos períodos de intensas chuvas, os solos (entre eles os ricos em Se) estão mais propensos à erosão e lixiviação para o sistema aquático. Esses processos enriquecem o sedimento que é, indiretamente, responsável pela transferência do Se para o material particulado, e finalmente para os peixes (LINO et al., 2020).

Figura 24. Gráfico da distribuição das concentrações de Se em peixes por período sazonal.

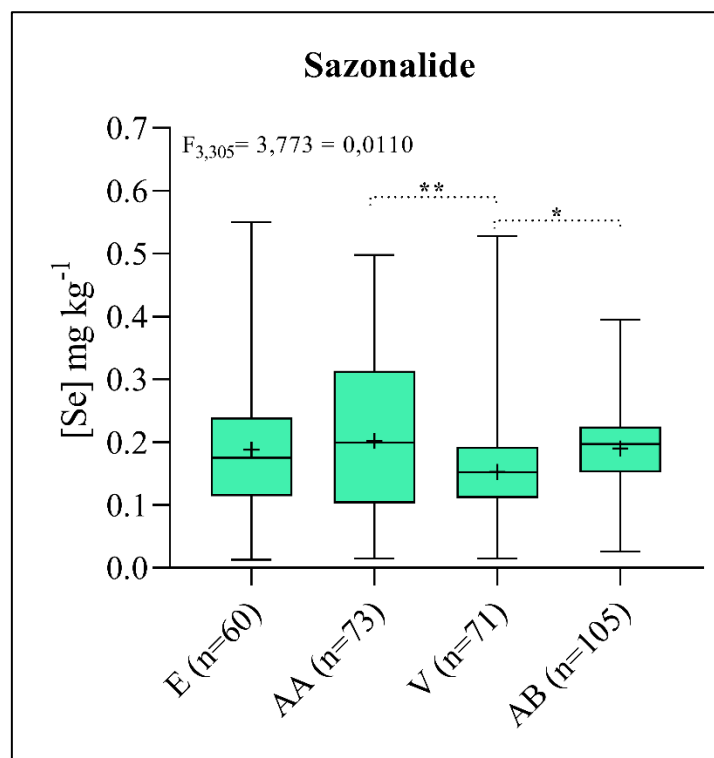
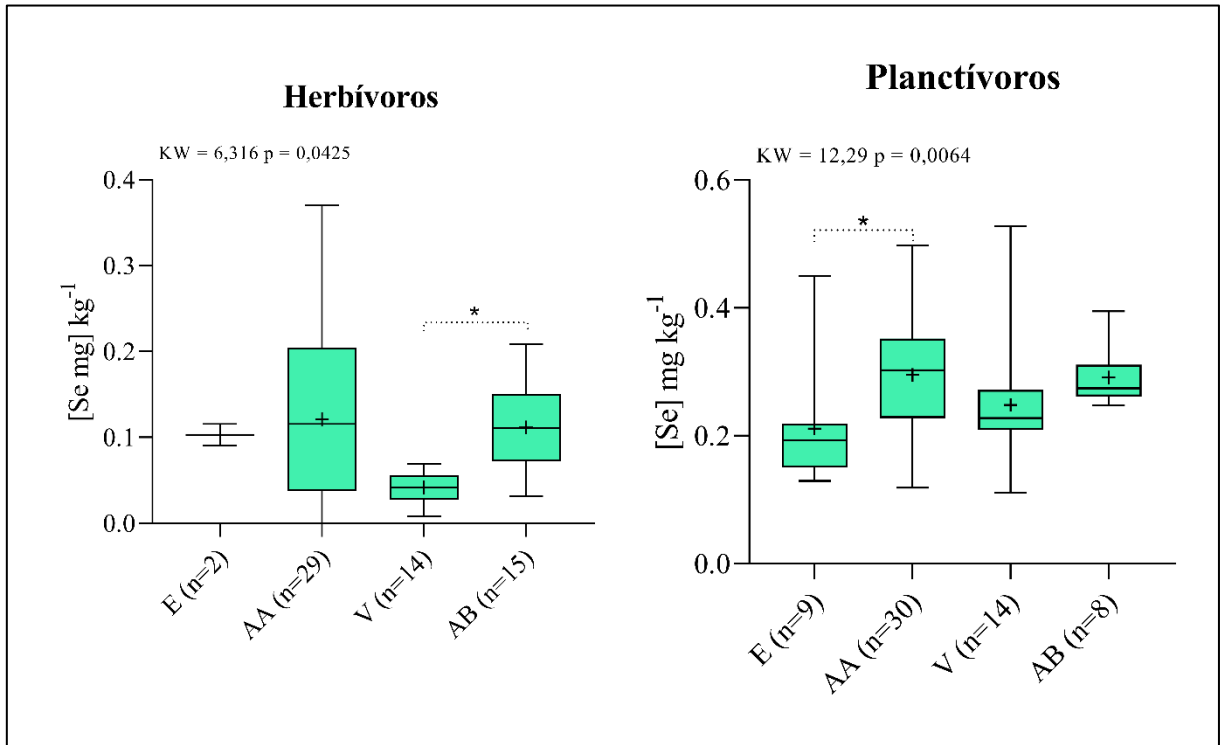


Figura 25. Figura com os gráficos das distribuições sazonais de Se para as guildas herbívora e planctívora.



As concentrações de Se demonstraram diferenças entre todos os períodos sazonais e entre períodos sazonais de uma mesma guilda trófica. Fato que poderia estar relacionado à essas diferenças é a erosão e lixiviação dos solos que ocorrem na Amazônia nos períodos de intensas chuvas nas águas altas. Grandes áreas sofrem alagamentos e os nutrientes, entre eles o Se, são carregados para os ecossistemas aquáticos (LACERDA et al., 1990; ANTON; VAN DERVEER, 1997; LINO et al., 2020;). Do sedimento esse Se é transferido para água e material particulado e conseqüentemente, para a cadeia trófica, tendo como principal meio de entrada os plânctons. Lino et al., (2020) em seus achados, obtiverem a maiores concentrações de Se em plânctons e relatam que essa concentração diminuiu conforme ocorre a mudança de nível trófico.

A correlação de Kendall entre CP e Se foi positivamente significativa para a guilda herbívora ($\tau = 0,4525$; $p < 0,0001$) (Figura 26). A correlação de Kendall entre PT e Se foi significativa e positiva para herbívoros ($\tau = 0,4850$; $p < 0,0001$) (Figura 26) e significativa, porém, negativa para os carnívoros ($\tau = -0,2412$; $p < 0,0001$) (Figura 27). A correlação utilizando as concentrações de Se e CP demonstrou relação negativa para a espécie *M. duriventri* ($\tau = -0,2865$; $p = 0,0447$) (Figura 28) e *P. nigricans* ($r = -0,3738$; $p = 0,0294$) (Figura

29). Quando utilizado o PT somente *P. nigricans* apresentou correlação positiva ($r = -0,4321$; $p = 0,0107$) (Figura 29).

Figura 26. Gráfico da correlação de Kendall entre a concentração de Se entre CP e PT em peixes herbívoros (n=60).

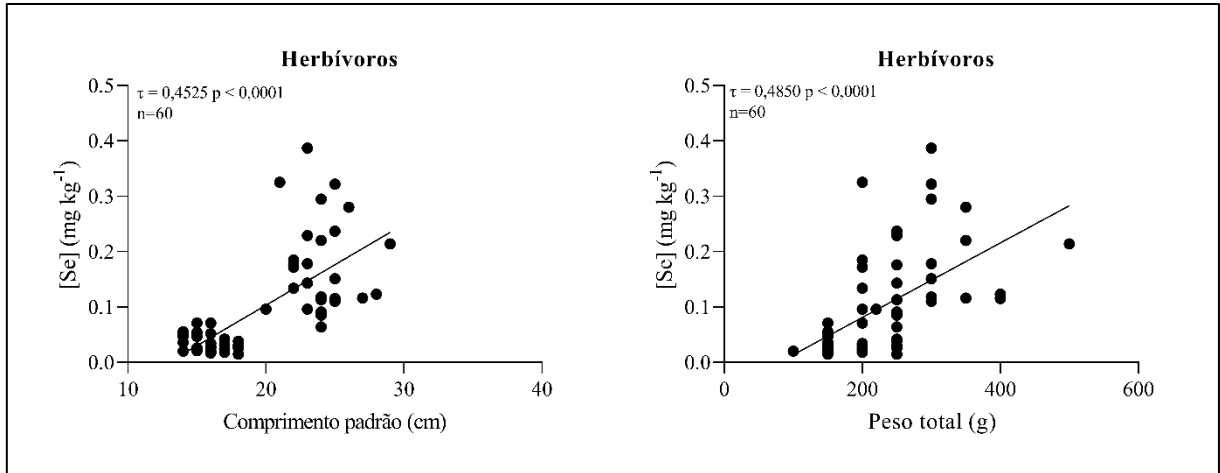


Figura 27. Gráfico da correlação de Kendall entre a concentração de Se e PT de peixes carnívoros (n=47).

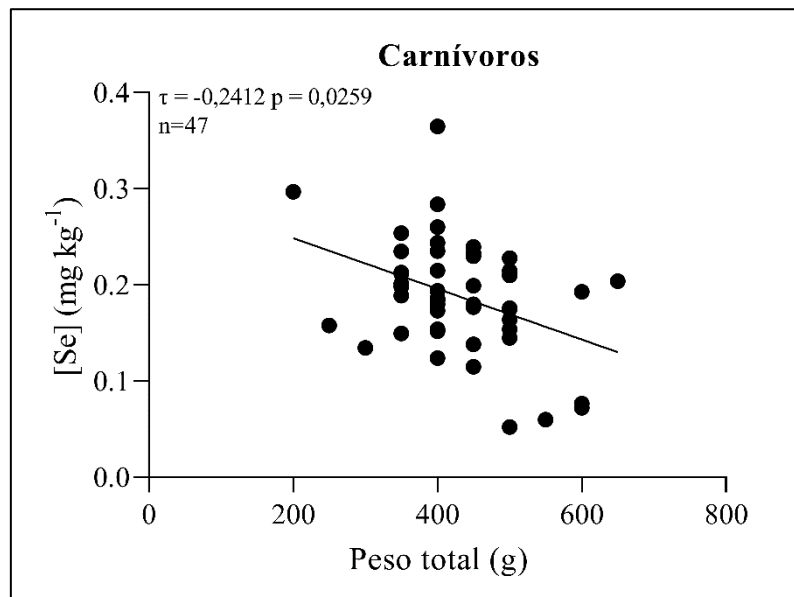


Figura 28. Gráfico da correlação de Kendall entre a concentração de Se e CP de para *M. aureum* (n= 29).

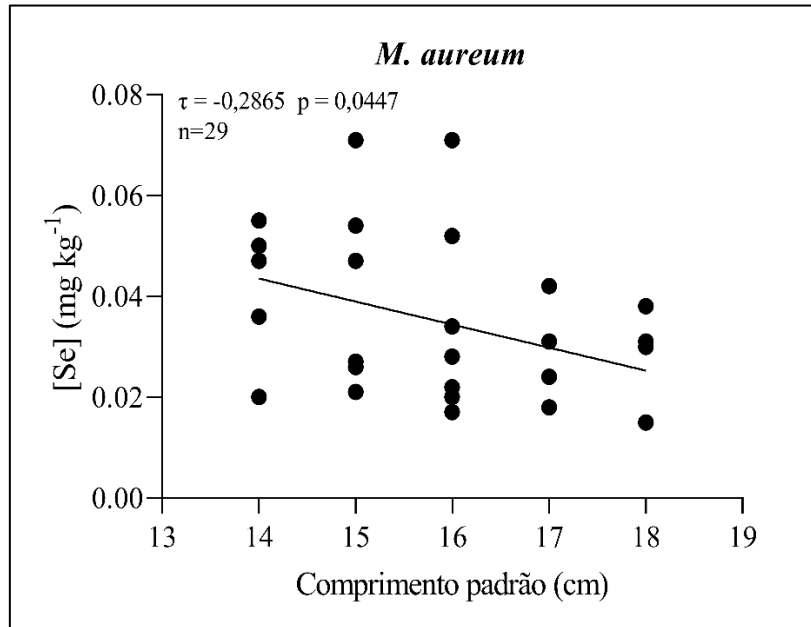
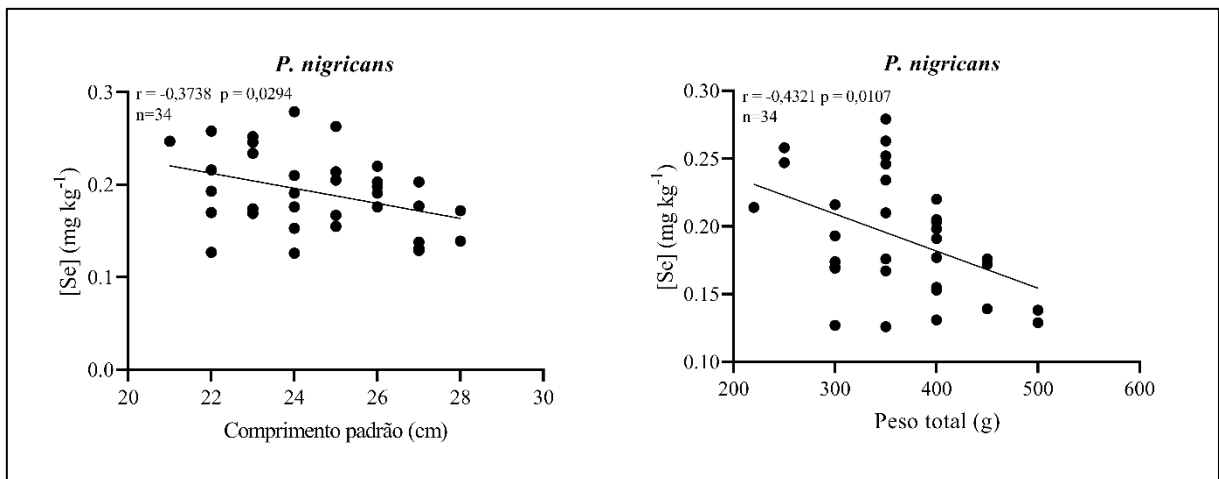


Figura 29. Figura com os gráficos da correlação de Kendall entre a concentração de Se e CP, Se e PT para *P. nigricans* (n=34).



A correlação mostrou relação positiva entre as concentrações de Se e Hg_{total} ($\tau = 0,2026$; $p < 0,0001$) (Figura 30). A nível trófico somente os herbívoros ($\tau = 0,4996$; $p < 0,0001$) e piscívoros ($\tau = 0,1713$; $p = 0,0456$) apresentaram essa relação (Figura 31), e para espécies, somente *H. unimaculatus* apresentou significância ($\tau = 0,1949$; $p < 0,0001$) (Figura 32).

Figura 30. Gráfico da correlação positiva entre as concentrações de todos os peixes estudados para Hg_{total} e Se (n=309)

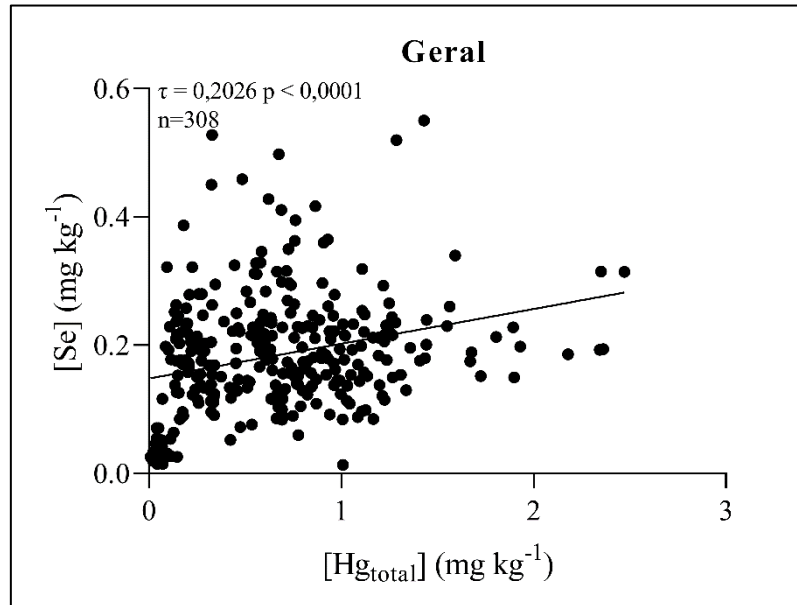


Figura 31. Gráfico da correlação positiva entre as concentrações de Hg_{total} e Se para as guildas de herbívoros (n=60) e piscívoros (n=64).

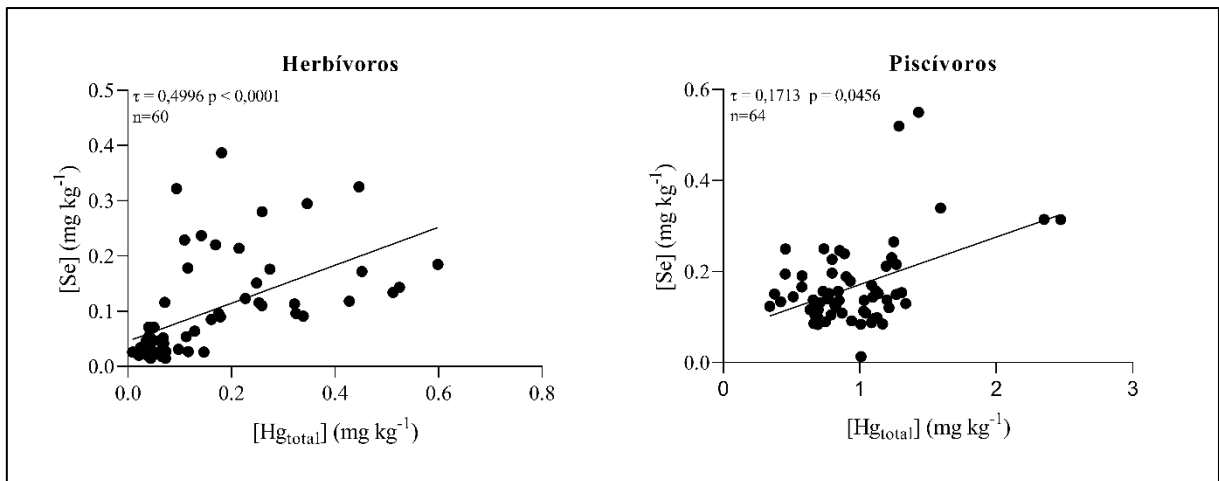
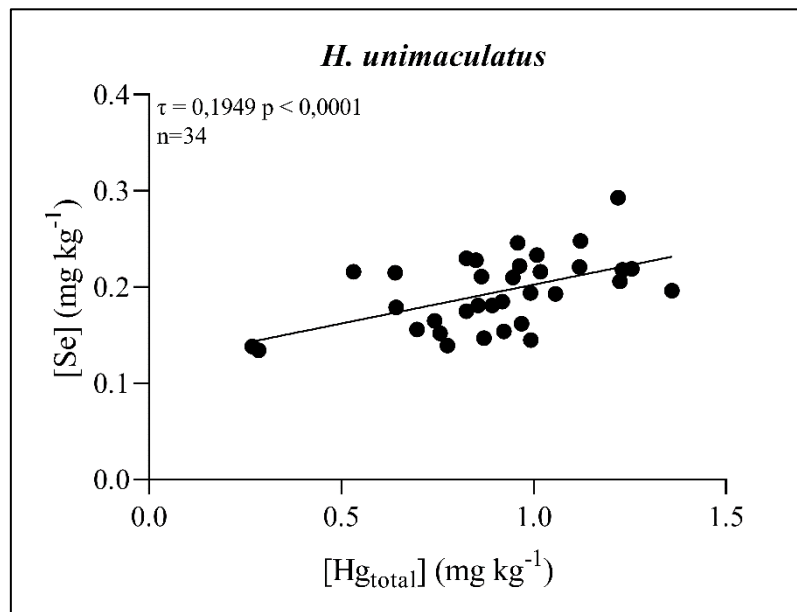


Figura 32. Gráfico da correlação positiva entre as concentrações de Hg_{total} e Se em *H. unimaculatus*.



De modo geral as concentrações de Se e Hg_{total} apresentaram correlação positiva. Lino et al. (2018), em seu estudo no rio Tapajós, obtiveram as mesmas correlações positivas e significativas entre Se e Hg_{total} , mas somente para os peixes predadores. Na bacia do Rio Madeira, Dórea et al. (1998) também encontraram correlação positiva em peixes herbívoros, assim como neste trabalho, porém sem correlações para piscívoros. Souza et al. (2005) obteve correlações positivas entre esses dois elementos para a espécie carnívora *H. malabaricus*, no Pará. Portanto as correlações entre esses elementos nem sempre são estabelecidas, como podemos observar na literatura no trabalho de Souza et al. (2005). A correlação entre as concentrações entre esses dois elementos pode estar fortemente relacionada aos níveis no solo, uma vez que na Amazônia, Lima et al. (2022) relataram correlações positivas em diversos tipos de solos.

6.5 Razão molar Se:Hg

O maior valor encontrado com relação à razão molar Se:Hg foi 8,72 em apenas um indivíduo da espécie de *S. fasciatus*. Os peixes herbívoros apresentaram a maior média geral (2,073), enquanto os carnívoros a menor média da razão molar Se:Hg (0,4854), assim como encontrado por Lino et al. (2018) em peixes do rio Tapajós (PA) (Tabela 8). Somente uma

espécie não predadora (*H. unimaculatus*) apresentou razão molar Se:Hg <1, e apenas 1 espécie predadora apresentou essa razão maior que >1 (*P. squamosissimus*) (Tabela 9).

Com isso, de acordo com Peterson et al. (2009) e Kaneko et al. (2007), podemos afirmar que os peixes herbívoros e detritívoros, embora tenham as menores concentrações de Se, são os mais importantes com relação a razão molar Se:Hg. Esse achado é de suma importância no que diz respeito à redução dos efeitos tóxicos do Hg, pois apresentam razão molar >1 (KOEMAN et al., 1973; RALSTON; RAYMOND, 2010).

Tabela 8. Tabela com a razão molar Se:Hg média por guilda trófica.

Hábito Alimentar	n	Média Se:Hg±D.P.	(min-max)
Herbívoro	60	2,073±1,65	(0,0750-8,645)
Detritívoro	77	1,705±1,30	(0,3661-5,782)
Planctívoro	61	1,246±0,73	(0,4106-4,069)
Carnívoro	47	0,485±0,33	(0,1957-1,980)
Piscívoro	64	0,484±0,35	(0,0300-1,390)

n.: número amostral; min.: mínimo; max.: máximo.

Tabela 9. Tabela com a razão molar Se:Hg média por guilda trófica

Espécie	Hábito		Média [Se]		Média Se:Hg
	Alimentar	n	(mg kg ⁻¹) ±D.P.	(min-max)	
<i>A. elongatus</i>	Planctívoro	24	0,274±0,116	(0,119-0,498)	1,361
<i>A. falcistrostris</i>	Piscívoro	10	0,088±0,029	(0,013-0,120)	0,248
<i>A. inermis</i>	Carnívoro	4	0,065±0,735	(0,052-0,076)	0,314
<i>C. macropterus</i>	Carnívoro	2	0,142±0,010	(0,134-0,149)	0,302
<i>C. pleiozona</i>	Carnívoro	36	0,198±0,045	(0,115-0,365)	0,415
<i>H. marginatus</i>	Planctívoro	37	0,269±0,075	(0,111-0,528)	1,171
<i>H. unimaculatus</i>	Detritívoro	34	0,194±0,037	(0,134-0,293)	0,593
<i>M. aureum</i>	Herbívoro	29	0,034±0,015	(0,015-0,071)	1,878
<i>M. duriventri</i>	Herbívoro	3	0,026±0,0005	(0,026-0,027)	2,717
<i>P. castelnaeana</i>	Piscívoro	12	0,309±0,112	(0,211-0,550)	0,692
<i>P. hemioliopterus</i>	Piscívoro	2	0,110±0,008	(0,103-0,116)	0,408
<i>P. latior</i>	Detritívoro	9	0,191±0,030	(0,129-0,234)	2,552
<i>P. nigricans</i>	Detritívoro	34	0,191±0,042	(0,126-0,279)	2,593

<i>P. squamosissimus</i>	Carnívoro	5	0,198±0,062	(0,157-0,296)	1,196
<i>R. vulpinus</i>	Piscívoro	2	0,184±0,006	(0,179-0,189)	0,511
<i>S. fasciatus</i>	Herbívoro	28	0,173±0,085	(0,064-0,387)	2,207
<i>S. rhombeus</i>	Piscívoro	38	0,142±0,033	(0,085-0,231)	0,483

Com base no teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, observou-se diferenças significativas entre os diversos hábitos alimentares (KW = 146; $p < 0,0001$), bem como o teste de Dunn indicou que os peixes carnívoros e piscívoros são diferentes dos demais peixes com hábitos alimentares (Figura 33). O teste não paramétrico de Mann-Whitney indicou diferença significativa com relação à razão molar Se:Hg em indivíduos não predadores e predadores ($p < 0,0001$; $U = 2139$) (Figura 34).

Neste trabalho observou-se que assim como o Hg e o Se, a razão molar Se:Hg sofre influência direta do nível trófico, mesma relação encontrada por Lino et al. (2018) e Lino et al (2020). No trabalho dos referidos autores, a razão molar diminuiu de acordo com o aumento do nível trófico e, assim como nos dados obtidos neste estudo, os carnívoros obtiveram uma média geral <1 com relação à razão molar. Outros estudos na Amazônia obtiveram uma relação diferente em relação à razão molar Se:Hg. Souza Lima et al. (2005) demonstraram que a razão molar aumenta conforme o nível trófico em peixes do município de Cachoeira do Piriá (PA). A transferência do Se ao longo da cadeia trófica é ineficiente, por isso as maiores razões molares Se:Hg encontram-se em peixes de baixo nível trófico, como os herbívoros, detritívoros e planctívoros, assim como é relatado na literatura (LINO et al., 2018; LINO et al, 2020).

Embora os peixes herbívoros, diferentemente do traz a maior parte da literatura, tenham apresentado a menor concentração de Se, foi a guilda com a maior razão molar (2,073). Essas informações são condizentes com outros estudos realizados na Amazônia (DÓREA et al, 1998; LINO et al., 2018; LINO et al., 2020), mas foi diferente do estudo de Souza Lima et al. (2005). No trabalho citado anteriormente a razão molar aumentou conforme o nível trófico também aumentou.

Figura 33. Gráfico da razão molar Se:Hg por guilda trófica evidenciando a razão >1.

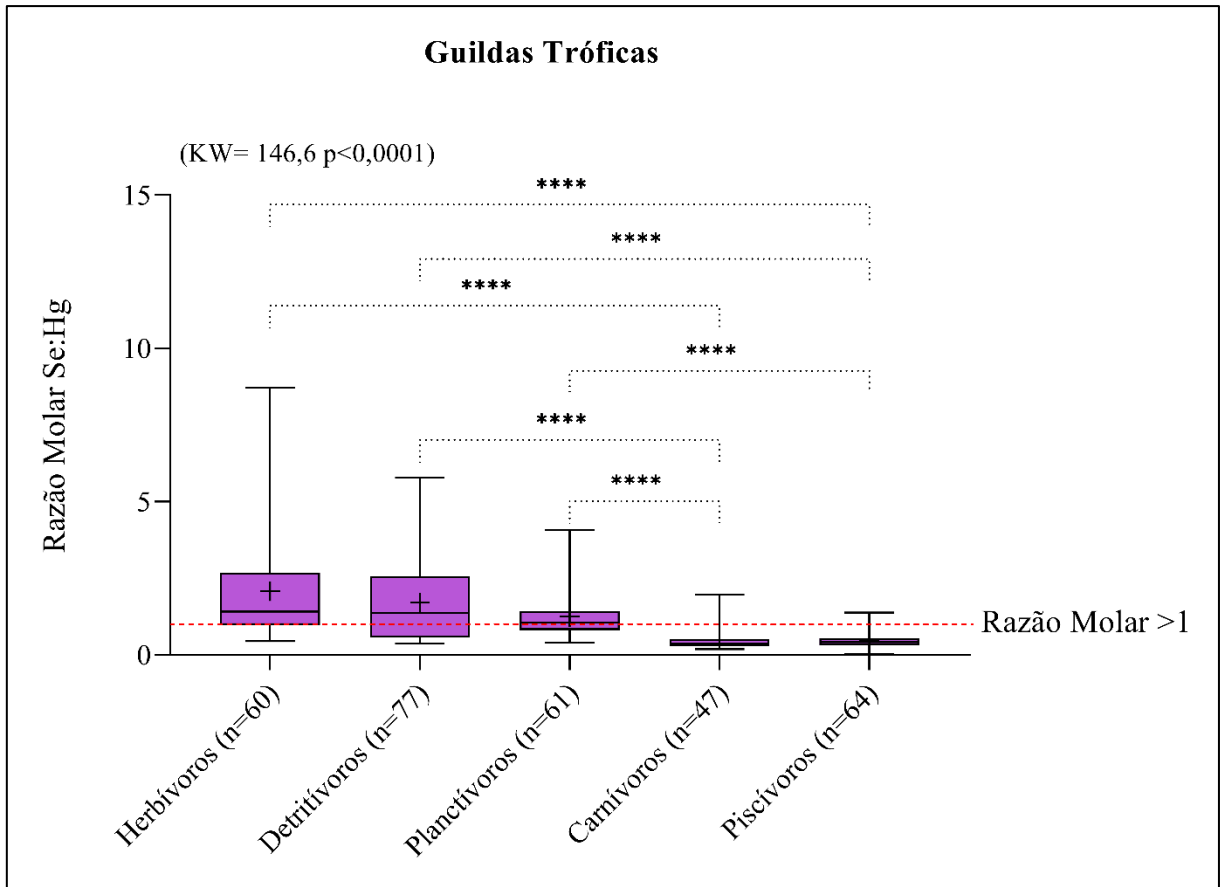
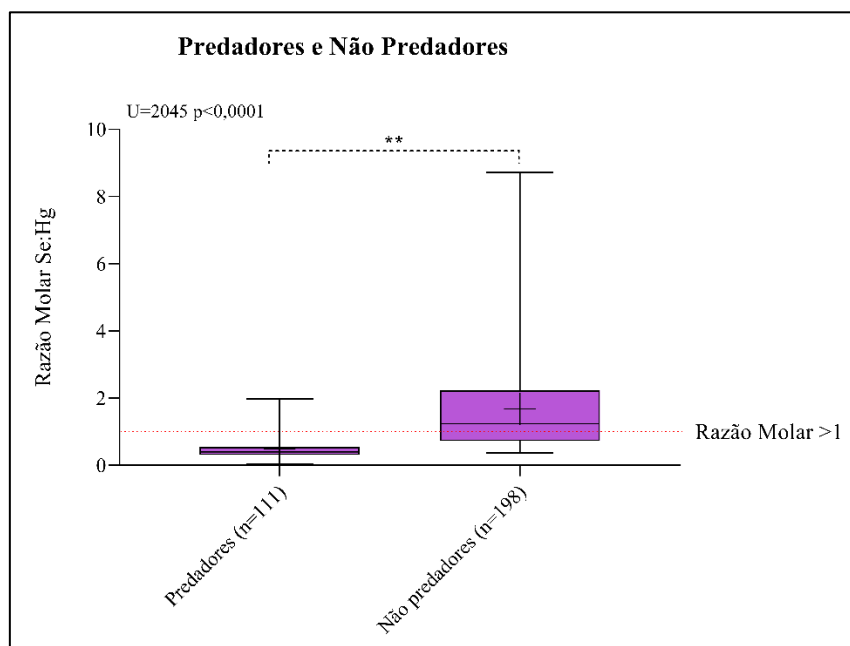
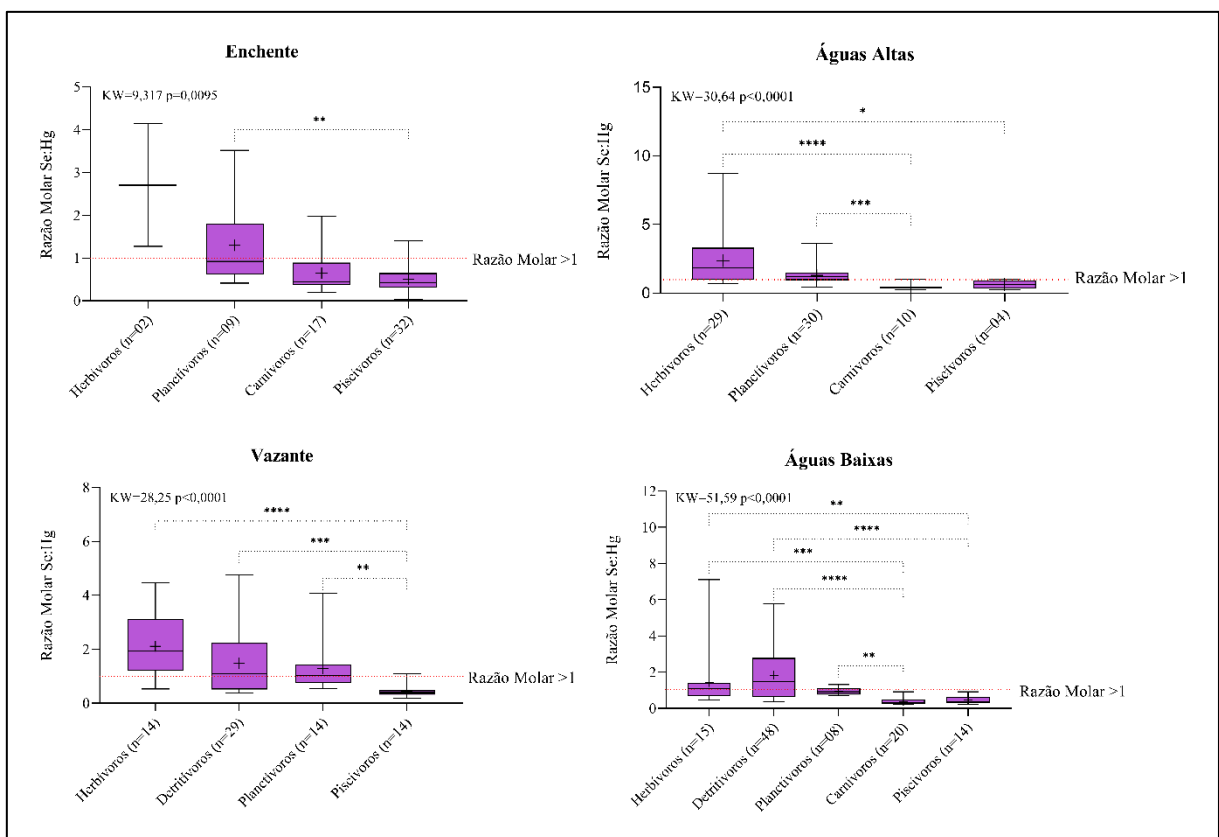


Figura 34. Gráfico da razão molar Se:Hg para peixes carnívoros (n=111) e não carnívoros (n=198) evidenciando a razão molar > 1.



As razões molares apresentaram diferenças entre os períodos sazonais. Na E os planctívoros apresentaram diferenças significativas com os piscívoros ($p = 0,0068$). Nas AA os peixes herbívoros foram significativamente diferentes de carnívoros ($p = 0,0001$) e piscívoros ($p = 0,0281$). Os piscívoros apresentaram razões molares diferentes das demais guildas nas V, enquanto nas AB os herbívoros e piscívoros apresentaram razões molares maiores que os carnívoros e piscívoros (Figura 35).

Figura 35. Figura com os gráficos com a distribuição das concentrações de Hg_{total} por período sazonal nas diferentes guildas tróficas.



De maneira geral, houve correlação negativa ($\tau = -0,2072$, $p < 0,0001$) entre a Se:Hg e CP e entre Se:Hg e PT ($\tau = -0,2074$; $p < 0,0001$) (Figura 36), ou seja, conforme o CP e PT aumentam, a razão molar diminui. Para as guildas tróficas não houve correlação para CP, somente para PT para os detritívoros ($\tau = 0,2357$; $p = 0,0043$) (Figura 37).

Figura 36. Figura com a correlação negativa entre Se:Hg e CP, e Se:Hg e PT para todos os espécimes estudados (n=309).

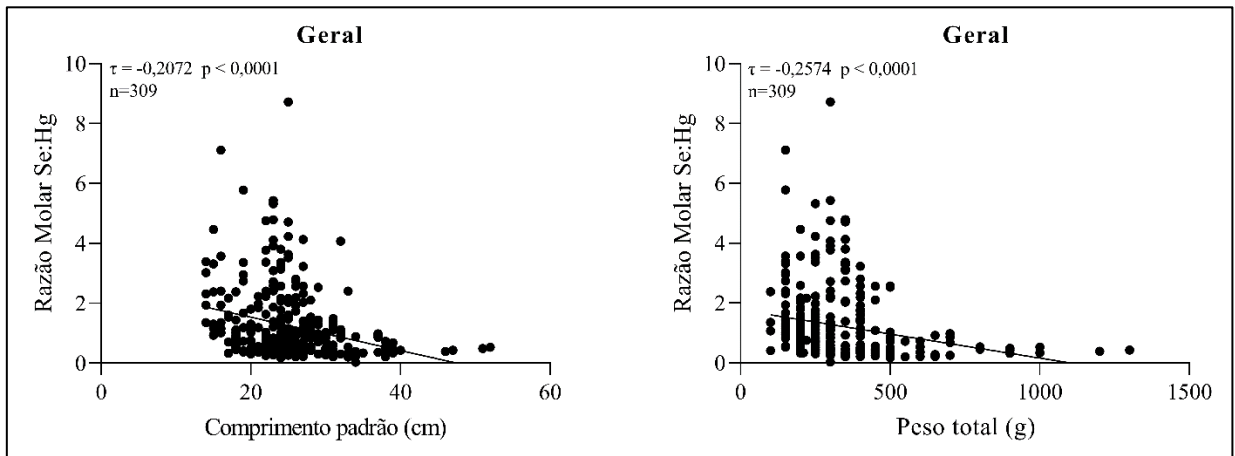
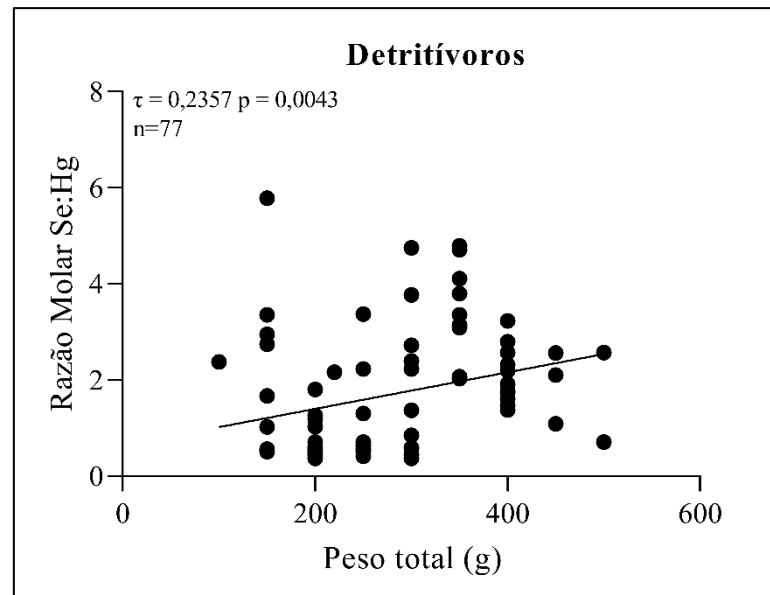


Figura 37. Correlação positiva para peixes detritívoros (n=77) entre Se:Hg e PT.

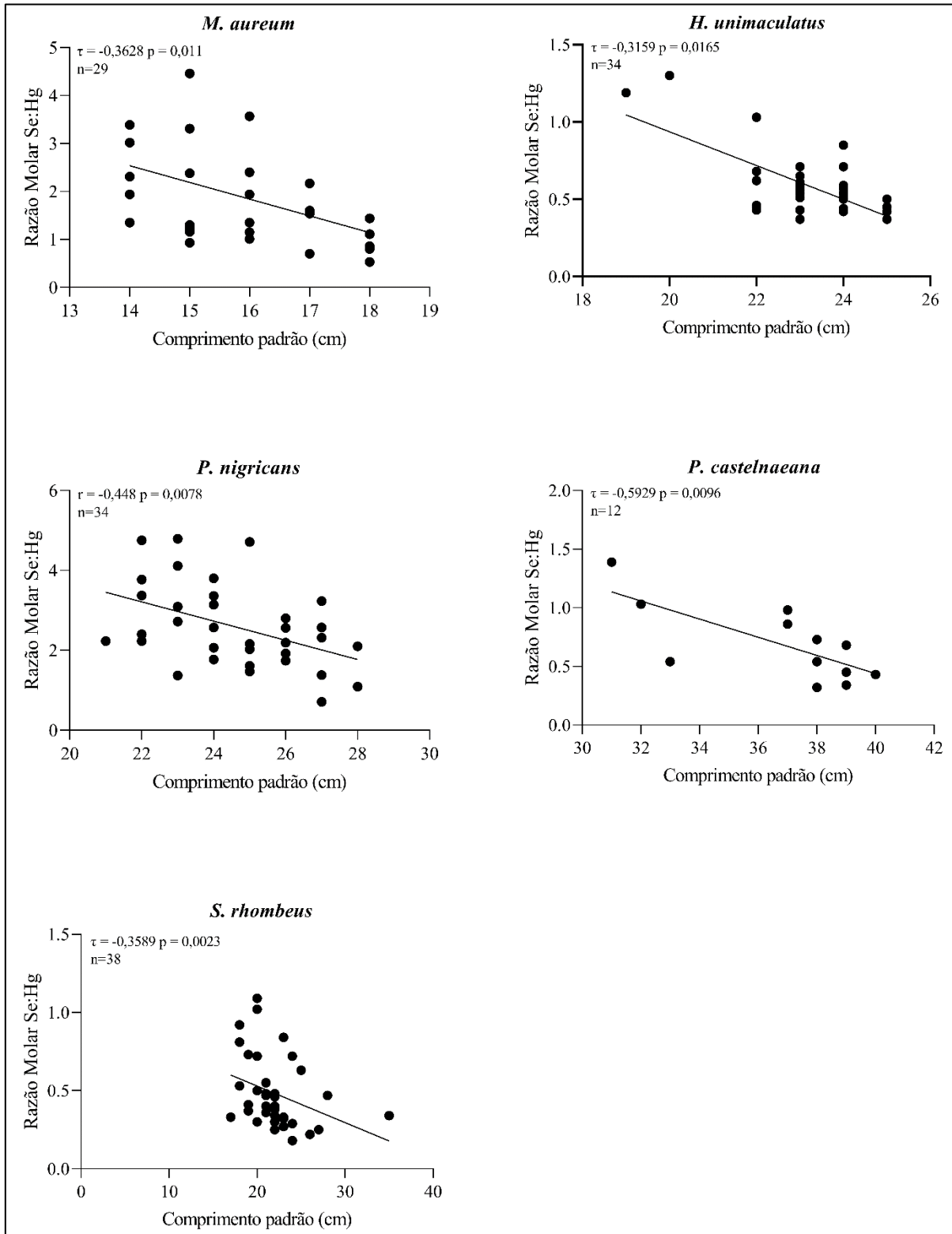


O hábito alimentar influenciou a positivamente razão molar, assim como no trabalho de Lino et al. (2018). No entanto, cabe lembrar que a razão molar Se:Hg está diretamente ligada à concentração de Hg, sendo assim o aumento do Hg diminui essa razão. Se o Se possuísse uma taxa de bioacumulação semelhante ao Hg esse fato não ocorreria (CUSACK et al., 2017). De fato, o Se tem uma capacidade transferência menor que o Hg.

Com nossos dados podemos afirmar que os peixes de hábito herbívoro e detritívoro são mais seguros para consumo pois apresentam Se em concentrações superiores Hg (KANEKO et al., 2007; PETERSON et al., 2009; LINO et al., 2018). Esse achado é de suma importância no que diz respeito à potencial redução dos efeitos tóxicos do Hg, pois apresentam razão molar >1 (KOEMAN et al., 1973; 1973; RALSTON, 2008; RALSTON; RAYMOND, 2010).

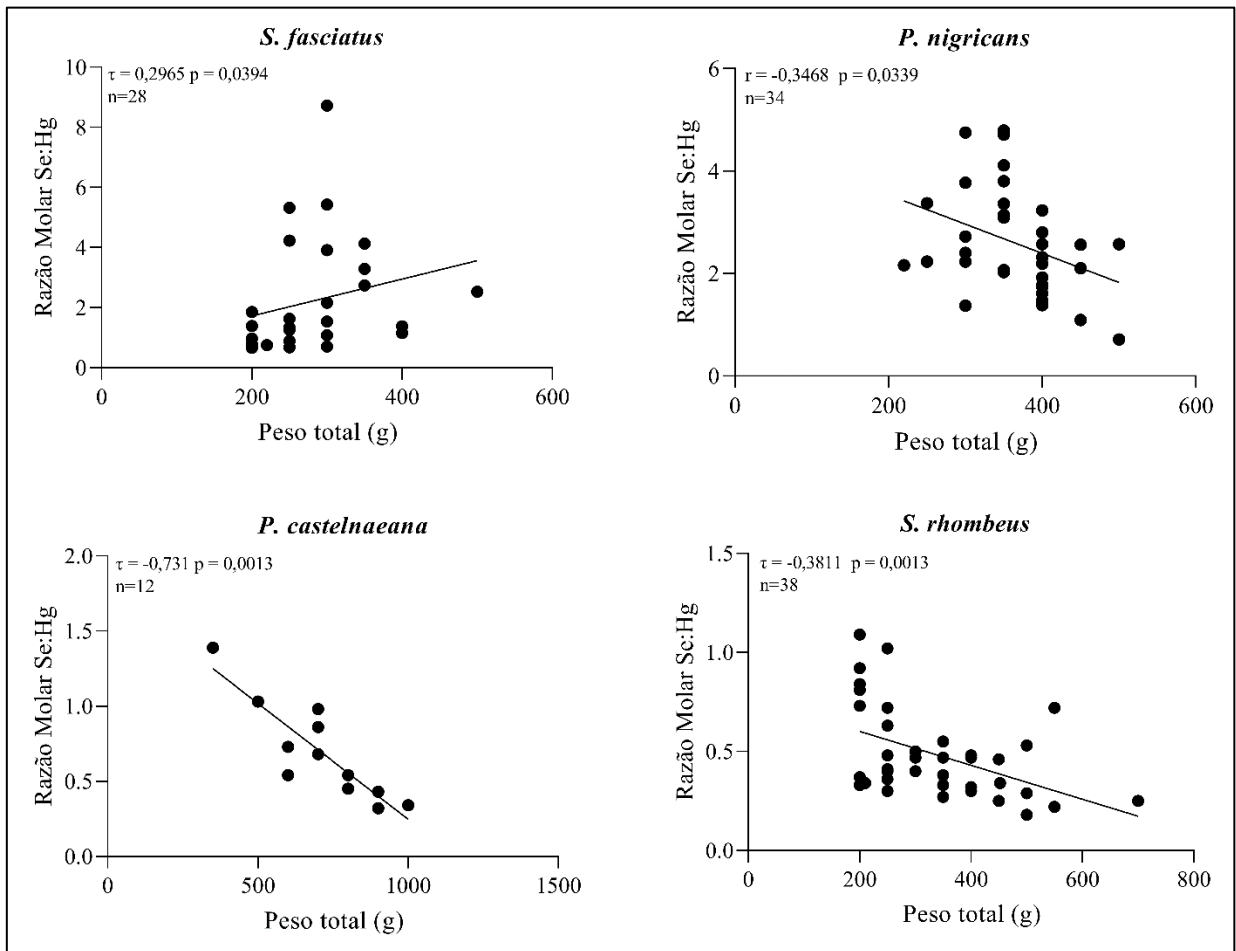
A nível de espécies houve correlação entre Se:Hg e CP para *M. aureum* ($\tau = -0,3628$; $p = 0,011$), *H. unimaculatus* ($\tau = -0,3159$; $p = 0,0165$), *P. nigricans* ($r = -0,448$; $p = 0,0078$), *P. castelnaeana* ($\tau = -0,5929$; $p = 0,0096$) e *S. rhombeus* ($\tau = -0,3589$; $p = 0,0023$), ou seja, para essas espécies razão molar diminui conforme o comprimento padrão aumenta (Figura 38).

Figura 38. Correlações entre Se:Hg e CP para as espécies Se:Hg e CP para as espécies *M. aureum* (n=29), *H. unimaculatus* (n=34), *P. nigricans* (n=34), *P. castelnaeana* (n=12) e *S. rhombeus* (n=38).



Utilizando o PT houve correlação para quatro espécies. A correlação foi positiva para *S. fasciatus* ($\tau = 0,2965$; $p = 0,0394$) e negativas para *P. nigricans* ($r = -0,3468$; $p = 0,0339$), *P. castelnaeana* ($\tau = -0,731$; $p = 0,0013$) e *S. rhombeus* ($\tau = -0,3811$; $p = 0,0013$). Ou seja, a razão molar é influenciada pelo PT, sendo assim conforme o PT aumenta a razão tende a aumentar para *S. fasciatus*. Essa relação é inversa para *P. castelnaeana* e *S. rhombeus* (Figura 39).

Figura 39. Correlação de entre Se:Hg e PT para as espécies *S. fasciatus* (n=28), *P. nigricans* (n=34), *P. castelnaeana* (n=12) e *S. rhombeus* (n=38).



A correlação negativa entre a razão molar Se:Hg e CP para *M. aureum*, *H. unimaculatus*, *P. nigricans*, *P. castelnaeana* e *S. rhombeus* (Figura 39) está diretamente atribuída à concentração do Hg_{total} , uma vez que é encontrado na literatura que o tamanho do peixe influencia positivamente na concentração do Hg, ou seja, conforme o comprimento do peixe aumenta os níveis de Hg também aumentam e, conseqüentemente, quando os níveis de Hg aumentam a razão molar é afetada e diminui (KERHIG et al., 2008; BURGUER et al.; 2012; BURGUER et al.; 2013; KEHRIG et al., 2013; POLAK-JUSZCZAK, 2014; CUSACK et al.,

2016). Embora a razão molar em muitos estudos apresente correlação com CT e PT, não é uma correlação prontamente estabelecida (CUSACK et al., 2016).

O Se possui regulação homeostática no corpo, diferentemente do Hg, que bioacumula e aumenta conforme o tamanho do peixe também aumenta (BARONE et al., 2017). Vários trabalhos encontrados na literatura observaram que o CP influencia negativamente a razão, ou seja, quanto maior o CP, menor é a razão molar (BURGER et al., 2012; POLAK-JUSZCZAK, 2014), porém neste estudo, a nível de guilda trófica não houve essa correlação, porém a nível de espécies essas correlações ficam mais estabelecidas (Figuras 38 e 39). Essas correlações encontradas estão totalmente de acordo com a que nos traz a literatura tanto para peixes de água doce (DÓREA et al., 1998) quanto para peixes marinhos (KEHRIG et al., 2013; BURGUER et al., 2013; BURGUER et al., 2012).

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados, conclui-se que:

- O método de preparo de amostras e a determinação de Se por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) com geração de hidretos (HG) foi implementado com sucesso no laboratório de Biogeoquímica Ambiental Wolfgang Christian Pfeiffer.
- Os peixes de predadores (piscívoros e carnívoros) têm a maior concentração de Hg_{total} e os não predadores (herbívoros e detritívoros), exceto os planctívoros, as menores.
- As guildas tróficas com maior concentração de Se são respectivamente planctívoros>carnívoros>piscívoros>detritívoros>herbívoros. Entretanto, as maiores razões molares seguem o sentido inverso.
- O MeHg representou a faixa de 64 a 100% de todo Hg encontrado nos peixes analisados, o que pode causar riscos à saúde humana.
- O nível trófico correlaciona-se positivamente com os níveis de Hg_{total} . Para Se, a transferência na cadeia trófica apresentou a tendência de diminuição em peixes predadores. O nível trófico correlacionou-se negativamente com a razão molar Se:Hg.
- A sazonalidade influenciou os níveis de Hg_{total} e Se. Nas AB as concentrações foram maiores que AA e V. para Hg_{total} . As guildas, exceto detritívoros, apresentaram maiores concentrações de AB. Na AA Se apresentou maiores concentrações que V e AB. Os herbívoros obtiveram menores concentrações na V enquanto os planctívoros maiores níveis de Se nas AA.
- O comprimento total e o peso das espécies não apresentam correlação estabelecida com as concentrações de Se, como geralmente é encontrada em Hg_{total} e MeHg. Essa relação ficou mais evidente a nível de espécie.
- A razão molar Se:Hg possui relação negativa com o comprimento padrão e peso total. Porém não é uma relação bem estabelecida, mais evidente a nível de espécies, como em *P. castelnaeana*.

- Os peixes não predadores são mais indicados para o consumo pois apresentaram a razão molar Se:Hg >1, enquanto os predadores, principalmente os carnívoros, devem ser evitados por mulheres gestantes e crianças em fase de crescimento.

REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; PELICICE, M. **Ecologia e manejo de recursos em reservatórios do Brasil**. Maringá: Eduem, 501p., 2007.

AKOGLU, H. User's guide to correlation coefficients. **Turkish journal of emergency medicine**, n.18, v. 3, p. 91-93, 2018.

ALMEIDA, R.; BERNARDI, J. V. E.; OLIVEIRA, R. C.; CARVALHO, D. P.; MANZATOO, A. G.; LACERDA, L. D.; BASTOS, W. R. Flood and spatial dynamics of Mercury in sediments in Puruzinho lake, Brazilian Amazon. **Acta Amazonica**, v. 44 (1), p. 99-105, 2014.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RCD N° 42, de 29 de agosto de 2013**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0042_29_08_2013.html>. Acesso em: 12 fevereiro 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n.º 269, de 22 de setembro de 2005**. Dispõe sobre o Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Disponível em: <<https://coffito.gov.br/nsite/wp-content/uploads/2016/08/resoluo-rdc-n-269-2005-ingesto-diria-recomendada-idr-de-protenas-vitaminas-e-minerais.pdf>>. Acesso em: 09 outubro 2022.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). **Toxicological profile for selenium (Update)**. Public Health Service; Department of Health and Human Services: ATSDR, Atlanta, GA, 1996.

AZEVEDO, F. A.; RAMOS, A. C. Bibliografia brasileira de mercúrio. Aspectos ambientais e toxicológicos. **Boletim Técnico CEPED**, v. 8, n. 1, p. 7-13, 1993.

AZEVEDO, F. A.; SASS, V.; GARCIA R. J.; MONTEIRO, T.; SOUZA NETO, M. J. de. Determinação analítica do mercúrio. **TECBAHIA R. Baiana Tecnol.**, v. 9, n. 2, p. 28-40. 1994.

AZEVEDO, L. S.; PESTANA, I. A.; ALMEIDA, M. G.; NERY, A. F. C.; BASTOS, W. R.; SOUZA, C. M. M. Mercury biomagnification in a ichthyic food chain of na amazon floodplain lake (Puruzinho Lake): Influence of seasonality and food chain medeling, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 207, p. 111249, 2020.

AZEVEDO-SILVA, C. E.; ALMEIDA, R.; CARVALHO, D. P.; OMETTO, J. P. H. B.; CAMARGO, P. B.; DORNELES, P. R.; AZEREDO, A.; BASTOS, W. R.; MALM, O.; TORERS, J. P. M. Mercury biomagnification and the trophic structure of the ichthyofauna from a remote lake in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 151, p. 286-296, 2016.

AZEVEDO-SILVA, L.; PESTANA, I. A.; NERY, A. F. C.; BASTOS, W. R.; SOUZA, C. M. M. Variation in Hg accumulation between demersal and pelagic fish from Puruzinho Lake, Brazilian Amazon. **Ecotoxicology**, v. 28, p. 1143-1149, 2019.

AZEVEDO, L. S.; PESTANA, I. A.; NERY, A. F. C.; BASTOS, W. R.; SOUZA, C. M. M. Influence of the flood pulse on mercury accumulation in detritivorous, herbivorous and omnivorous fish in Brazilian Amazonia. *Ecotoxicology*, v. 28, n. 4, p. 478-485, 2019.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2ª Ed.: Editora Bookman, 2002, 622 p.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**. 4ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2011, 844 p.

BARONE, G.; STORELLI, A.; MALLAMACI, R.; STORELLI, M. M. Comparative study on trace metal accumulation in liver of Mediterranean Deep-Sea fish and their selenium/Mercury molar ratios. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n. 211, 2017.

BASTOS, W. R., GOMES, J. P. O., OLIVEIRA, R. C., ALMEIDA, R., NASCIMENTO, E. L., BERNARDI, J. V. E.; LACERDA, L.D.; SILVEIRA, E.G.; PFEIFFER, W.C. Mercury in the environment and riverside population in the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 368, n. 1, p. 344-351, 2006.

BASTOS, W. R.; ALMEIDA, R.; DÓREA, J. G.; BARBOSA, A. C. Annual flooding and fish-mercury bioaccumulation in the environmentally impacted Rio Madeira (Amazon). *Ecotoxicology*, v. 16, p. 341-346, 2007.

BASTOS, W. R.; REBELO, M. de F.; FONSECA, M. de F. ALMEIDA, R., MALM, O. A description of mercury in fishes from the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 3, p. 431 – 438. 2008.

BASTOS, W. R.; DÓREA, J. G.; BERNARDI, J. V. E.; LAUTHARTTE, L. C.; MUSSY, M. H.; LACERDA, L. D.; MALM, O. Mercury in fish of the Madeira river (temporal and spatial assessment), Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 140, p. 191–197, 2015.

BASTOS, W. R. **Métodos de digestão utilizando microondas para determinação automatizada de Hg em amostras ambientais e humanas: implantação de laboratórios e avaliação da qualidade analítica**. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciências Biológicas – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1997.

BASTOS, W. R.; MALM, O.; PFEIFFER, W. C.; CLEARY, D. Establishment and analytical quality control of laboratories for Hg determination in biological and geological samples in the Amazon Brazil. **Ciência e Cultura**, v. 50. p. 255-260, 1998.

BRASIL, Decreto nº 9,470, de 14 de agosto de 2018. Promulga a Convenção de Minamata sobre mercúrio formada pela República Federativa do Brasil, em Kumamoto, em 10 de outubro de 2013. Disponível em: < https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/36849570/do1-2018-08-15-decreto-n-9-470-de-14-de-agosto-de-2018-36849564 >. Acesso em: 10 jul 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 46, de 22 de novembro de 2016**. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacao/in-46-de-22-11-2016-fert-minerais-dou-7-12-16.pdf> >. Acesso em: 10 mar 2022.

BELMONT, A., MUÑOZ, P., SANTOS-ECHEANDÍA, J. ROEMRO, D. Tissue distribution of mercury and its relationship with selenium in Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) *Int. J. Environ. Res. Public Health*, v. 18, n. 13376, 2021.

BISINOTI, M. C. **Produção de Hg orgânico em sedimentos tropicais a partir do hg⁰: experimentos em microcosmos.** p. 160. 2002. Dissertação (Instituto de Química) Universidade Estadual de Campinas, SP-UNICAMP. 2002.

BISINOTI, M.C.; JARDIM, W.F. O comportamento do metilmercúrio (MetilHg) no ambiente. *Química Nova*, v. 27, n. 4, p. 593-600. 2004.

BISINOTI, M. C.; JÚNIOR, E.S.; JARDIM, W. F. Seasonal behavior of Mercury in Waters and sediments from the Negro river basin, Amazon, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 18, n. 3, p. 544-553, 2007.

BRITO, B. B.; FOSBERG, B. R.; KASPER, D.; AMARAL, J. H. F.; VASCONCELOS, M. R. R.; SOUSA, O. P.; CUNHA, F. A. G.; BASTOS, W. R. The influence of inundation and lake morphometry on the dynamics of Mercury in the water and plankton in na Amazon floodplain lake. *Hydrobiologia*, n. 790, p. 35-48, 2017

BROOKS RAND LABS. **MERX. Automated methylmercury analytical system. User's Guide.** Seattle, 2005, 37p.

BROWN, K. M.; ARTHUR, J. R. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutrition*, v. 4, n. 2B, p. 593-599, 2001.

BURGER, J.; GOCHFELD, M.; JEITNER, C.; DONIO, M.; PITTFIELD, T. Interspecific and intraspecific variation in selenium:mercury molar ratios in saltwater fish from the Aleutians: Potential protection on mercury toxicity by selenium. *Science of The Total Environment*, v. 431, p. 46-56, 2012.

BURGER, J.; JEITNER, C.; DONIO, M.; PITTFIELD, T.; GOCHFELD, M. Mercury and selenium levels, and selenium: Mercury molar ratios of brain, muscle and other tissues in bluefish (*Pomatomus saltatrix*) from New Jersey, USA. *Science of The Total Environment*, v. 443, p. 278-286, 2013.

CABANERO, A. I.; MADRID, Y.; CÂMARA, C.; Selenium long-term administration and its effect on Mercury toxicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n. 54, p. 4461-4468, 2006.

CANTON, S. P.; VAN DERVEER. Selenium toxicity aquatic life: na argument for sediment-based water quality criteria

CARVALHO, D. P.; ALMEIDA, R.; MANZATTO, A. G.; FREITAS, O. B; BASTOS, W. R. Dynamics of metals in lacustrine sediments: case study of the Madeira River, Amazon reigion. *Brazillian Journal of Walter Resources*, v. 23, e21, 2018.

CELO, V.; LEAN, D. R. S.; SCOTT, S. L. Abiotic methylation of mercury in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*, v. 368, p. 126–137. 2006.

CRESPO-LOPEZ, M. H.; AUGUSTO-OLIVEIRA, M.; LOPES-ARAÚJO, A.; SANTOS-SACRAMENTO, L.; TAKEDA, P. Y.; MACCHI, B. M.; NASCIMENTO, J. L. M.; MAIA, C. S. F.; LIMA, R. R.; ARRIFANO, G. P. Mercury: What can we learn from the Amazon? **Environmental International**, v. 146, p. 106223, 2021.

CISPRINO, C. C. **Determinação de As, Sb, e se em material biológico agrônômico por espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma induzido com geração de hidretos (HG-ICP-OES)**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos - SP, 2005, 95 p.

CROUX, C.; DEHON, C. Influence functions of the Spearman and Kendall correlation measures. **Statistical methods & applications**, n. 19, v. 4, p. 497-515, 2010.

CUSACK, L. K.; EAGLES-SMITH, C.; HARDING, A. K.; KILE, M.; STONE, D. Selenium: Mercury molar ratios in freshwater fish in the Columbia River Basin: Potential applications for specific fish consumption advisores. **Biological Trace Element Research**, v. 178, p. 136-146, 2017.

DRASCH, G.; WANGHOFER, E.; ROIDER; STROBACH, S. Correlation of Mercury and selenium in the human kidney. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 10, n. 4, p. 251-254, 1996.

DOREA, J. G.; MOREIRA, M. B.; LESTE, G.; BARBOSA, A. C. Selenium and mercury concentrations in some fish species of the Madeira River, Amazon Basin, Brazil. **Biological Trace Element Research**, n. 65, n. 3, p. 211-220, 1998.

DURANTE, C. A.; REIS, B. M. M.; AZEVEDO, A.; CRESPO, E. A.; LAILSON-BRITO, J. Trace elements in trophic webs from South Atlantic: The use of cetaceans as sentinels. **Marine Pollution Bulletin**, v. 150, p. 110674, 2020.

EIKENBERRY, B. C. S., RIVA-MURRAY, K., KNIGHTES, C. D., JOURNEY, C. A., CHASAR, L. C., BRIGHAM, M. E.; BRADLEY, P. M. Optimizing fish sampling for fish-mercury bioaccumulation factors. **Chemosphere**, n. 135, p. 467-473, 2015.

EPA - United States Environmental Protection Agency. **Method 1631, Revision E: Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry**. Washington, D. C., 2002.

FADINI, P. S.; JARDIM, W. F. Is the Negro River Basin (Amazon) impacted by naturally occurring Mercury. *Science of The Total Environment*, v. 275, n. 1-3, p. 71-82, 2001.

FAIAL, K.; DEUS, R.; DEUS, S.; NEVES, R.; JESUS, I.; SANTOS, E.; ALVES, C. N.; BRASIL, D. Mercury levels assessment in hair of Riverside inhabitants of the Tapajós River, Pará State, Amazon, Brazil: Fish consumption as a possible rout of exposure. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 30, p. 66-76, 2015.

GALLIGNANI, M.; VALERO, M.; BRUNETTO, M. R.; BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M.; PEÑA, Y. P. Sequential determination of Se (IV) and Se (VI) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry with HCl/BHr microwavw aided pre-reduction of Se (VI) ta Se (IV). **Talanta**, v. 52, n. 6, p. 1015-1024, 2000.

GALVIS, S. R. "The Amazon Biome in the face of mercury contamination: An overview of mercury trade, science, and policy in the Amazonian countries" edited by WWF and Gaia Amazonas, 2020

GANTHER, H. E.; GOUDIE, C.; SUNDE, M. L.; KOPECKY, M. J.; WAGNER, P.; OH, S.-H.; HOEKSTRA, W. G. Selenium: Relation to Decreased Toxicity of Methylmercury Added to Diets Containing Tuna. *Science*, v. 175, n. 4026, p. 1122–1124, 1972

GANTHER, H. E.; SUNDE, M. L. effect of tuna fish and selenium on the toxicity of methylmercury: a progress report. *Journal of Food Science*, v. 39, n. 1, p. 1–5, 1974.

GERSON, J. R.; WALTERS, D. M.; EAGLES-SMITH, C. A.; BERNHARDT, E. S.; BRANDT, J. E. Do two wrongs make a right? Persistent uncertainties regarding environmental selenium-mercury interactions. *Environmental Science & Technology*, v. 54, p. 9228-9234, 2020.

GOLZADEH, N.; BARST, B.; BASU, N.; BAKER, J. M.; AUGER, J. C.; MCKINNEY, M. A. Evaluating the concentration of total Mercury, methylmercury, selenium, and selenium:Mercury molar ratios in traditional foods of the Bigstone Cree in Alberta, Canada. *Chemosphere*, n. 250, p. 126285, 2020.

HARADA, M. Minanata disease: Methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. *Critical Reviews in Toxicology*, v. 25 n. 1, p. 1-24, 1995.

JARDIM, W. F.; SODRÉ, F. F. Desempenho analítico de laboratórios prestadores de serviço na determinação de metais em águas. *Química Nova*. v. 32, n. 4, p. 1083-1088, 2009.

KASPER, D. **Efeito da barragem nas concentrações de mercúrio na biota aquática à jusante de um reservatório amazônico (usina hidrelétrica de Samuel, RO)**. 2008. 150 f. dissertação (Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho) Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2008.

KASPER, D.; FORSBERG, B. R.; AMARAL, J. H.F.; LEITÃO, R. P.; PY-DANIEL, S. S.; BASTOS, W. R.; MALM, O. Reservoir stratification affects methylmercury levels in river water, plankton, and fish downstream from Balbina Hydroelectric Dam, Amazonas, Brazil. *Environmental Science & Technology*, n. 48, p. 1032-1040, 2014.

KASPER, D.; PALERMO, E. F. A.; BRANCO, C. W. C.; MALM, O. Evidence of elevated mercury levels in carnivorous and omnivorous fishes downstream from an Amazon reservoir. *Hydrobiologia*, v. 694, p. 87-98, 2012.

KASPER, D.; FORSBERG, B. R.; KEHRIG, H. A.; AMARAL, J. H. F.; BASTOS, W. R.; MALM, O. **Mercury in Black-Water of the Amazon**. *In: Igapó (Black-water flooded forests) of the Amazon Basin*. Springer, Cham, p. 39-56, 2018.

KANEKO, J. J.; RALSTON, N. V. C. Selenium and mercury in pelagic fish in the central North Pacific near Hawaii. *Biological Trace Element Research*, n. 119, p. 242-252, 2007.

KEHRIG, H. A.; MALM, O. Bioconcentração e biomagnificação de metilmercúrio na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro. *Química Nova*, v. 34, n. 3, p. 377-384, 2008.

KEHRIG, H.A.; HOWARD, B.M.; MALM, O. Methylmercury in a predatory fish (*Cichla spp.*) inhabiting the Brazilian Amazon. **Environmental Pollution**, v. 154, p. 68-76. 2008.

KEHRIG, H. A.; SEIXAS, T. G.; DI BENEDITTO, A. P. M.; MALM, O. Selenium and Mercury in widely consumed seafood from South Atlantic Ocean. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 93, p. 156-162, 2013.

KOEMAN, J. H.; PEETERS, W. H. M.; KOUDESTAAL-HOL, C. H. M.; TJIOE, P. S.; DE GOEIJ, J. J. M. Mercury-selenium correlations in marine mammals. **Nature**, v. 245, p. 385-386, 1973.

KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. **Espectrometria de absorção atômica – parte 1. Fundamentos e automatização com chama**. Apostila. Biblioteca virtual da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). 2004.

LACERDA, L. D.; DE PAULA, F. C. F.; OVALLE, A. R. C.; PFEIFFER, W. C.; MALM, O. Trace metals in fluvial sediments of the Madeira River watershed, Amazon, Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 97-98, p. 525-530, 1990.

LACERDA, L. D.; MALM, O. Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos brasileiros: uma análise das áreas críticas. **Estudos Avançados**, v22, p. 170, 2008.

LALL, S. P. **Macro and trace elements in fish and shellfish**. In: RUITER, A. (Ed.). *Fish and fishery products: composition, nutritive properties and stability*. Wallingford: CAB International, 1995.

LEMIRE, M.; MERGLER, D.; FILLION, M.; PASSOS, C. J. S.; GUIMARÃES, J. R. D.; DAVIDSON, R.; LUCOTTE, M. Elevated blood selenium levels in the Brazilian Amazon. **Science of The Total Environment**, v. 366, n. 1, p. 101-111, 2006.

LI, Y-F.; DONG, Z.; CHEN, C.; LI, B.; GAO, Y.; QU, L.; WANG, T.; FU, X.; ZHAO, Y.; CHAI, Z. Organic selenium supplementation increases Mercury excretion and decreases oxidative damage in long-term Mercury-exposed residents from Wanshan, China. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 20, p. 11313-11318, 2012.

LI, P.; LI, Y.; FENG, X. Mercury and selenium interactions in human blood in the Wanshan mining area, China. **Science of The Total Environment**, v. 573, p. 376-381, 2016.

LIMA, F. R. D.; PEREIRA, P.; SILVA JÚNIOR, E. S.; VASQUES, I. C. F.; OLIVEIRA, J. R. OLIVEIRA; WINDMOLLER, C. C.; INDA, A. V.; WEINDORF, D. C.; CURI, N.; RIBEIRO, B. T.; GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J. Geochimistry signatures of mercury in soils of the Amazon rainforest biome. **Environmental Research**, v. 215, n. 114147, 2022.

LINO, A. S.; KASPER, D.; GUIDA, Y. S.; THOMAZ, J. R.; MALM, O. Mercury and selenium in fishes from the Tapajós River in the Brazilian Amazon: Na evaluation of human exposure. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 48, p. 196-201, 2018.

LUNDANES, E.; REUBSAET, L.; GREIBROKK, T. **Chromatography: basic principles, sample preparations and related methods**. 1ª ed. Weinheim, Alemanha: Wiley-VCH, 2014, 207 p.

MALM, O.; PEIFFER, W.C.; BASTOS, W.R.; SOUZA, C.M.M. Utilização do Acessório de Geração de Vapor Frio para Análise de Mercúrio em Investigações Ambientais por Espectrofotometria de Absorção Atômica. **Ciência e Cultura**, v. 41, n. 1, p. 88-92, 1989.

MALM, O. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 77, n. 2, p. 73-78, 1998.

MANCEAU, A.; BOURDINEAUD, J. P.; OLIVEIRA, R. B.; SARRAZIN, S. L. F.; KRABBEHOFT, D. P.; EAGLES-SMITH, C. A.; ACKERMAN, J. T.; STEWART, A. R.; WARD-DEITRICH, C.; BUSTO, M. E. C.; GOENAGA-INFANTE, H.; WACK, A.; RETEGAN, M.; DETLEFS, B.; GLATZEL, P.; BUSTAMANTE, P.; NAGY, K. L.; **Environmental Science & Technology** POULIN, B. A. Desmethylation of methylmercury in bird, fish, and earthworm., v. 55, n. 3, p. 1527-1534, 2021.

MARTENS, A. V. S.; COZZOLINO, S. M. F. **Mapeamento da distribuição de selênio em território brasileiro por meio da análise de alimentos nativos: feijão (*Fascolos vulgaris*) e carne bovina para o consumo e água e solo oriundos**. São Paulo: FAPESP, 2002.

MARUMOTO, M.; SAKAMOTO, M.; MARUMOTO, K.; TSURUTA, S.; KOMOHARA, Y. Mercury and selenium localization in the cerebrum, cerebellum, liver, and kidney of a Minamata Disease case. **Acta Histochemica et Cytochemica**, v. 53, n. 6, p. 147-155, 2020.

MENDES, V. A. **Crescimento linear e estado nutricional de crianças e adolescentes ribeirinhos de comunidades no baixo Madeira, expostos ao mercúrio**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) – Fundação Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, RO, 2018.

MENDS, V. A.; CARVALHO, D. P.; ALMEIDA, R.; RECKTENVALD, M. C. N. N.; PEDROSA, O. P.; SOUZA-FILHO, I. F.; DÓREA, J. G.; BASTOS, W. R. Mercury in blood, hair, and feces from subsistence fish-eating riverines of the Madeira River Basin (Western Amazon), **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, n. 67, p. 126773, 2021.

MIEIRO, C.L.; COELHO, J.P.; DOLBETH, M.; PACHECO, M.; DUARTE, A.C.; PARDAL, M.A.; PEREIRA, M. E. Fish and mercury: Influence of fish fillet culinary practices on human risk. **Food Control**, v. 60, p. 575–58, 2016.

MIKRYAKOV, V. R. & LAPIROVA, T. B. Influence of salts of some heavy metals on the differential blood count in juvenile *Acipenser baeri*. **Journal of Ichthyology**, v. 37, n. 6, p. 458-462, 1997.

MUSSY, M. H. **Mercúrio em peixes na área de influência do reservatório a fio d'água da hidrelétrica – Santo Antônio no rio Madeira no pré e pós enchimento**. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Carlos Chagas Filho, Programa de Pós-Graduação em Biofísica. Rio de Janeiro, 2018, 124 f.

- MUSSY, M. H.; DE ALMEIDA, R.; DE CARVALHO, D. P.; LAUTHARTTE, L. C.; DE HOLANDA, I. B. B.; DE ALMEIDA, M. G.; SOUSA-FILHO, I. F.; DE RESENDE, C. E.; MALM, O.; BASTOS, W. R. Evaluating total Mercury and methylmercury biomagnification using stable isotopes of carbon and nitrogen in fish from the Madeira River basin, Brazilian, Amazon. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 30, p. 33543-33554, 2022.
- NASCIMENTO, E. L.; GOMES, J. P. O.; ALMEIDA, R.; BASTOS, W. R.; BERNARDI, J. V. E.; MIYAI, R. K. Mercúrio no plâncton de um lago natural amazônico, Lago Puruzinho (Brasil). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 1, n. 3, p. 1-6, 2006.
- NASCIMENTO, C. W. A.; SILVA, F. B. V.; NETA, A. B. F.; BIONDI, C. M.; LINS, S. A. S.; ALMEIDA JÚNIOR, A. B.; PRESTON, W. Geopedology-climate interactions govern the spatial distribution of selenium in soils: a case study in northeastern Brazil. *Geoderma*, v. 399, p. 115119, 2021.
- NEUBAUER, K.; MAGARINI, R. **Determination of Arsenic and Selenium in Drinking Water by ICP-OES with Continuous Flow Hydride Generation using a Single Pre-Reduction Procedure.** Perkin Elmer: application note. 2021.
- NRIAGU, J. O. Legacy of mercury pollution. *Nature*, v. 363, p. 589, 1993.
- NRIAGU, J. O. Mercury pollution from the past mining of gold and silver in the Americas. *Science of The Total Environment*, v. 149, n. 3, p. 167-181, 1994.
- OHARA, W. M.; QUEIROZ, L. J.; ZUANON, J.; TORRENTE-VILARA, G.; VIEIRA, F. G.; DORIA, C. R. C. Fish collection of the Universidade Federal de Rondonia: its importance to the knowledge of Amazonian fish diversity/ A coleção icitologica da Universidade Federal de Rondonia: sua importancia para o conhecimento da diversidade de peixes da Amazonia. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 37, n. 2, 2015.
- OHI, G.; NISHIGAKI, S.; SEKI, H.; TAMURA, Y.; MAKI, T.; KONNO, H.; OCHIAI, S.; YAMADA, H.; SHIMAMURA, Y.; MIZOGUCHI, I.; YAGYU, H. Efficacy of selenium in tuna and selenite in modifying methylmercury intoxication. *Environmental Research*, v. 12, p. 49-58, 1976.
- OLIVEIRA, R. C.; DÓREA, J. G.; BERNARDI, J. V. E.; BASTOS, W. R.; ALMEIDA, R.; MANZATTO, A. G. Fish consumption by traditional subsistence villagers of the Rio Madeira (Amazon): Impact on hair mercury, *Annals of Human Biology*, n. 37, v. 5, p. 629-642, 2010. 126773.
- PAIKARAY, S. Origin, mobilization and distribution of selenium in a soil/water/air system: a global perspective with special Reference to the indian scenario. *Clean Soil Air Water*, v. 44, n. 5, p. 451-586, 2016.
- PANTOJA-ECHEVARRÍA, L. M.; MARMOLEJO-RODRÍGUEZ, A. J.; GALVÁN-MAGAÑA, F.; ELORRIAGA-VERPLANCKEN, F. R.; TRIPP-VLDEZ, A.; TAMBURIN, E.; LARA, A.; JONATHAN, M. P.; SUJITHA, S.B.; ARREOLA-MENDOZA. Mercury and selenium concentrations in diferente tissues of brown smooth-houn shark (*Mustelus henlei*) from the western coast of Baja California Sur, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, v. 170, n. 112609, 2021.

PAŘÍZEK, J.; OŠTÁDALOVÁ, I. The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication. **Experientia**, v. 23, p. 142-143, 1967.

PEÁLEZ-RODRIGUEZ, M.; PERET, A. M.; MATSUMURA-TUNDISI, T.; ROCHA, O. 2002. Análise da qualidade da água e aplicação do índice de proteção da vida aquática (IVA) em duas sub-bacias da bacia hidrográfica do rio Jacaré-Guaçu. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; BOTTA-PASCHOAL, C. M. R.; ROCHA, O.; BOHER, M. B. C.; OLIVEIRANETO, A. L. *Ecotoxicologia: Perspectivas para o século XXI*. Editora RiMa, São Carlos SP. 575p.

PESTANA, I. A.; REZENDE, C. E.; ALMEIDA, R.; LACERDA, L. D.; BASTOS, W. R. Let's talk about Mercury contamination in the Amazon (again): The case of the floating gold miners' village on the Madeira River. **The Extractive Industries and Society**, p. 101122, 2022.

PETERSON, S.A.; RALSTON, N. V. C.; WHAGER, P. D.; OLDFIELD, J.E.; MOSHER, W. D. Selenium and mercury interactions with emphasis on fish tissue. *Environmental Bioindicators*, v. 4, p 318-334, 2009.

PINHEIRO, M. C. N.; MÜLLER, R. C. S.; SARKIS, J. E.; VIEIRA, J. L. F; OIKAWA, T.; GOMES, M. S.V.; GUIMARÃES, G. A.; DO NASCIMENTO, J. L. M.; SILVEIRA, L. C. L. Mercury and selenium concentrations in hair samples of women in fertile age from Amazon Riverside communities. **Science of the Total Environment**, v. 349, p. 284-288, 2005.

PIRRONE, N.; MAHAFFEY, K. R. Dynamics of mercury pollution on regional and global scales atmospheric processes and human exposures around the world. **Springer US**, n. 1, p. 744, 2005.

PONTES, F. **Ribeirinhos convertem-se ao ouro e desafiam o significado por referência no rio Madeira**. *O Eco*, 2021. Disponível em: <<https://oeco.org.br/reportagens/ribeirinhos-convertem-se-ao-ouro-e-desafiam-contaminacao-por-mercurio-no-rio-madeira/>>. Acesso em: 29 jun 2022.

QUEIROZ, L. J.; VILARA, G. T.; OHARA, W. M.; PIRES, T. H. S.; ZUANON, J.; DORIA, C. R. C. **Peixes do Rio Madeira – Volume I**, 402 p. 2013.

QUEIROZ, L. J.; VILARA, G. T.; OHARA, W. M.; PIRES, T. H. S.; ZUANON, J.; DORIA, C. R. C. **Peixes do Rio Madeira – Volume II**, 354 p. 2013.

QUEIROZ, L. J.; VILARA, G. T.; OHARA, W. M.; PIRES, T. H. S.; ZUANON, J.; DORIA, C. R. C. **Peixes do Rio Madeira – Volume III**, 416 p. 2013.

RALSTON, N. V. C. Selenium health benefit values as seafood safety criteria. **Eco-Health**, v. 5, p. 442-455, 2008.

RALSTON, N. V. C.; RAYMOND, L. J. Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. **Toxicology**, v. 278, p. 112-123, 2010.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, v. 356, n. 9225, p. 233- 241, 2000.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** *Química Nova*. vol. 27, nº. 5, 771-780, 2004.

RIBEIRO, M. ZEPHYR, N.; SILVA, J. A. L.; DANION, M.; GUÉRIN, T.; CASTANHEIRA, I.; JEUFROY, A.; JITARU, P. Assesment of the Mercury-selenium anatgonism in Rainbow trout frish. *Chemosphere*, v. 286, n. 131749, 2022.

RICE, G.; SWARTOUT, J.; MAHAFFEY, K.; SCHOENY, R. Derivation of u.s. EPA's oral reference dose (RFD) for methylmercury. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 23, n. 1, p.41–54, 2000.

ROULET, M.; MAURY-BRACHET, R. 2001. Le mercure dans les organisms aquatiques amazoniens. In: Carmouse, J.P., Lucotte, M., Boudou, A., (Eds). *Le mercure en Amazonie. Rôle de L'homme et de L'environnement, risques sanitaires*. IRD editions. Paris. 494p.

SAHA, U.; FAYIGA, A.; SONON, L. Selenium in the soil-plant environment: a review. **International Journal of Applied Agricultural Sciences**, v. 3, n. 1, p. 1-18, 2017.

SALUNKHE, S. **Determination of Arsenic, Mercury, and Selenium in Seawater by Continuous Flow Hydride Generation Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)**. Perkin Elmer: experimental notes.

SCHETAGNE, R.; VERDON, R. Post-impoundment Evolution of fish Mercury levels at La Grande Complex, Québec, Canada (from 1978 to 1996). In *Mercury in the Biogeochemical cycle*; LUCOTTE, M.; SCHETAGNE, R.; THÉRIEN, N.; LANGLOIS, C.; TREMBLAY, A., Ed. Springer: Berlin, 1999, p. 334.

SCHMIDT, L.; BIZZI, C.A.; DUARTE, F.A.; MULLER, E.I.; KRUPP, E.; FELDMANN, J.; FLORES, E.M.M. Evaluation of Hg species after culinary treatments of fish. **Food Control**, v.47, p. 413–419, 2015.

SCHROEDER, W.H.; MUNTHE, J. Atmospheric mercury-an overview. **Atmospheric Environment**, v. 32. n. 5, p. 809-822, 1998.

SHAND, C.; BALSAM, M.; HILLIER, S. J.; HUDSON, G.; NEWMAN, G.; ARTHUR, J. R.; NICOL, F. Aqua regia extractable selenium concentration of some Scottish topsoils measured by ICP-MS and the relationship with mineral and organic soil components. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 90, p. 972-980, 2010.

SEIXAS, T. G.; KEHRIG, H. A.; COSTA, M.; FILLMANN, G.; DI BENEDITTO, P. M.; SECCHI, E. R.; SOUZA, C. M. M.; MALM, O.; MOREIRA, I. Total Mercury, organic mercury and slenium in liver and kidney of a South American coastal dolphin. **Environmental Pollution**, v. 153, n. 1, p. 98-106, 2008.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5ª ed. São Paulo: Bookman, 2002, 836 p.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008, 1124 p.

SILVA, A. F. **Desenvolvimento de métodos para a determinação de mercúrio e tálio em amostras ambientais usando GF-AAS e ETV-ICP-MS**. Florianópolis, 2004.

SILVA JUNIOR, E. C.; WADT, L. H. O.; LIMA, R. M. B.; BATISTA, K. D.; GUEDES, M. C.; CARVALHO, G. S.; CARVALHO, T. S.; REIS, A. R.; LOPES, G.; GUILHERME, L. R. G. Natural variation of selenium in Brazil nuts and soils from the Amazon region. **Chemosphere**, v. 188, p. 650-658, 2017.

SOARES, M.; SARKIS, J. E.; MULLER, R. C.; BRABO, E.; SANTOS, E. Correlation between Mercury and selenium concentrations in indian hair from Rondônia State, Amazon region, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 287, p. 155-161, 2002.

SOUZA LIMA, A. P.; SARKIS, J. E. S.; SHIHOMATSU, H. M.; MULLER, R. C. S. Mercury and selenium concentrations in fish samples from Cachoeira do Piriá municipality, Pará State, Brazil, **Environmental Research**, v. 97, n. 3, p. 236-244, 2005.

STILLINGS, B. R.; LAGALLY, H.; BAUERSFELD, P.; SOARES, J. Effect of cystine, selenium, and fish protein on the toxicity and metabolism of methylmercury in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 30, p. 243-254, 1974.

STURGEON, R. E.; MESTER, Z. Analytical applications of volatile metal derivatives. **Applied Spectroscopy**, v. 56, n. 8, 2002.

TAO, G.; STURGEON, R. E. **Sample nebulization for minimization of transition metal interferences with selenium hydride generation ICP-AES**. Spectrochimica Acta Part B. Vol. 54, p. 481-489, 1999.

TAYLOR, V. F.; CARTER, A.; DAVIES, C.; JACKSON, B. P. **Trace-level automated mercury speciation analysis**. Analytical Methods, v. 3, n.5, p.1143-1148, 2011.

TENUTA FILHO, A.; MACEDO, L. F.; FAVARO, D. I. T. Concentration and retention of selenium in marine fish. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 30, p. 210-214, 2010.

TENUTA FILHO, A.; NASCIMENTO, E. S. Mercúrio em cação: ocorrência e possibilidade de remoção. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 78-85, 2007.

UNEP, United Nations Environment Program. **Global Mercury Assessment 2018**, UN Environment Programme, Chemicals and Health Branch, Geneva, Switzerland, 2019.

VIEIRA, J. L. E.; GOMES, A. L. S.; SANTOS, J. P. N.; LIMA, T. C. D.; FREITAS JR, J. A.; PINHEIRO, M. C. N. Mercury distribution in organs of two species of fish from Amazon Region, **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, n. 87, p. 377-380, 2011.

VOGEL, A. I.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. J. K. **Análise química quantitativa**. 6ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002, 488 p.

XING, K.; ZHOU, X. W.; ZHU, Y.; KONG, J.; SHAO, T.; TAO, X. Concentrations and characteristics of selenium in soil samples from Dash region, a selenium enriched area in China. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 6, n. 61, p. 889-897, 2015.

WANATABE, C.; YIN, K.; KASANUMA, Y.; SATOH, H. In útero exposure to methylmercury and Se deficiency converge on the neurobehavioral outcome in mice. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 21, n. 1, p. 83-88, 1999.

WHO, World Health Organization. **Mercury and health**, 2017. Acesso em: 24 abr 2022. Disponível em: < <https://apps.who.int/iris/handle/10665/170747> >.

WHO, World Health Organization. *Methylmercury in Environmental Health Criteria*. v. 118, p. 144. Geneva, 1990.

YOUNG, T. F.; FINLEY, K.; ADAMS, W. J.; BESSER, J.; HOPKINS, W. D.; JOLLEY, D.; MCNAUGHTON, PRESSER, T. S.; SHAW, P.; UNRINE, J. What you need to know about selenium. In CHAPMAN, P. M.; ADAMS, W. J.; BROOKS, M. L.; DELOS, C. G.; LUONA, S. N.; MAHER, W. A.; OHLENDORF, H. M.; PRESSER, T. S.; SHAW, D. P. **Ecological Assessment of Selenium in the Aquatic Environmet**. Pensacola, Florida, USA: SETAC, 2010, P. 7-45.

ZHANG, H.; FENG, X.; JIANG, C.; LI, Q.; LIU, Y.; GU, C.; SHANG, L.; LI, P.; LIN, Y.; LARSSSEN, T. Understanding the paradox of selenium contamination in Mercury mining áreas: High soil contente and low accumulaton in rice. **Environmental Pollution**, v. 188, p. 27-36, 2014.