

Dinâmica e Análise de Variância da Depuração de Elementos Traço em Moluscos Bivales, Provenientes da Ostricultura na Região do Salgado, Estado do Pará

Dynamics and Analysis of Variance of Trace Element Depuration in Bivalve Mollusks from Oyster Farming in the Salgado Region, State of Pará

Neuton Trindade Vasconcelos Junior,^a Renata Chaves Souza,^b Luíza de Cássia Santa Brígida Gomes,^a Marília Ahndrew Veiga,^c Cássio Raimundo Freitas Faial,^d Yasmim Oliveira dos Santos,^e Kleber Raimundo Freitas Faial,^a Mônica Cristina de Moraes Silva,^b Kelson do Carmo Freitas Faial^a

^a Instituto Evandro Chagas, Seção de Meio Ambiente, CEP 67030-000, Ananindeua-PA, Brasil

^b Instituto Evandro Chagas, Seção de Parasitologia, CEP 67030-000, Ananindeua-PA, Brasil

^c Universidade Federal do Pará, Instituto de Geociências, CEP 66075-110, Belém-PA, Brasil

^d Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, CEP 66075-110, Belém-PA, Brasil

^e Universidade do Estado do Pará, Centro de Ciências Naturais e Tecnologia, CEP 66095-015, Belém-PA, Brasil

*E-mail: neutonjunior@iec.gov.br

Submissão: 21 de Junho de 2024

Aceite: 22 de Outubro de 2024

Publicado online: 5 de Novembro de 2024

Oysters are considered environmental bioindicators, as they accumulate chemical substances such as trace elements in their tissues. This study evaluated the dynamics of the metals Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn and their purification process in oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from the municipality of Salinópolis, Pará, Brazil, using chemometric methods. Trace elements were analyzed by a simultaneous custom-designed detector Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer (ICP AES). The levels of Pb and Zn were above the Maximum Acceptable Limit (MAL) recommended by Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA) Normative Instruction No. 88/2021 and by the World Health Organization, respectively. The Tukey test showed no statistically significant difference between the different purification times, apart from the enrichment of metals during the process. Cluster analysis showed the formation of two groups according to the degree of similarity, with Cu, Zn, Fe and Ni standing out, demonstrating the natural bioaccumulation of metals. Therefore, it can be concluded that hygienic and sanitary care is needed during food preparation, in addition to improving the purification system for bivalves, and it is also important to find out how the water column and the sedimentary phase contribute to the dynamics of metals in mollusk tissue.

Keywords: Oyster; metals; ICP AES; purification; chemometrics.

1. Introdução

A aquicultura, importante setor de produção animal, tem sua atividade pautada na promoção da segurança alimentar sustentável, sendo vista como fornecedora de alimento de alta qualidade e geradora de emprego em países desenvolvidos e em nações em desenvolvimento.¹

De acordo com dados da *Food and Agriculture Organization* - FAO,² o Brasil ocupa a 14ª posição entre os maiores produtores aquícolas mundiais. No ano de 2023, a produção aquícola brasileira atingiu 813 mil toneladas, onde aproximadamente 80,73% corresponderam à produção de peixes; em torno de 18,19% representaram a produção de camarão (carcinocultura) e quase 1,08% enquadrou-se na produção de moluscos (malacocultura).³

O Brasil destaca-se como principal produtor de ostras da América Latina, sendo que a produção nacional ocorre em larga escala nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina, devido às características ambientais propícias ao desenvolvimento desses moluscos e aos investimentos, tanto em pesquisa, quanto em estímulos à produção.⁴

Atualmente a produção de moluscos na Amazônia é realizada no estado do Pará; de acordo com, dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020)⁵, apenas cinco cidades do Pará são responsáveis por toda produção de sua malacocultura, sendo elas: Augusto Corrêa, Curuçá, Maracanã, Salinópolis e São Caetano de Odivelas. Dentre estas cidades, apenas Augusto Corrêa e Maracanã possuem produções maiores de malacocultura.⁶⁻⁷

No Brasil, o consumo de ostras é realizado geralmente “*in natura*”, no entanto, essa forma de preparo pode acarretar riscos à saúde humana, contudo, na atualidade, observa-se maior rigor higiênico na comercialização do molusco, tendo em vista a prévia depuração da mercadoria para posterior comercialização a restaurantes, os quais fornecem ao consumidor final.⁸

As ostras, enquanto moluscos filtradores, são consideradas bioindicadores ou monitores de contaminação ambiental, sendo atribuída a estes organismos a habilidade de identificar

a qualidade ambiental do ecossistema em que vivem. Essa propriedade se deve à capacidade que os moluscos apresentam em acumular em seus tecidos, substâncias químicas (elementos traço e poluentes orgânicos), além de agentes biológicos (vírus e bactérias).⁹

Aliando o fato de que ambientes marinhos e estuarinos estão sujeitos à ação de diferentes agentes de contaminação e ao aumento crescente do mercado consumidor de moluscos bivalves,¹⁰ tornam-se necessários estudos sobre o tecido muscular dos mesmos, pois, podem revelar as condições sanitárias do local em que vivem, relacionando assim a possíveis doenças de veiculação hídrica.

Kan *et al.*,¹¹ ao realizar o diagnóstico ambiental da água, sedimento e mariscos de uma comunidade no litoral baiano, concluíram que os moluscos têm grande potencial para bioacumular metais como cobre (Cu) e zinco (Zn). Por outro lado, dos Santos *et al.*,¹² concluíram que ostras comercializadas em Ilhéus-BA, mostraram-se impróprias para o consumo humano, uma vez que as concentrações de chumbo (Pb) estiveram acima do valor máximo permitido pela legislação brasileira.

Diante do exposto, é importante que o consumo de moluscos bivalves seja realizado de forma segura, evitando assim, os riscos de transmissão de doenças de origem alimentar, causada por agentes de natureza química ou biológica, provenientes da água ou das precárias condições higiênico-sanitárias durante a manipulação e comercialização.

Neste sentido, o presente estudo avaliou a dinâmica da concentração de elementos traço em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) oriundas do município de Salinópolis-PA, levando em consideração os diferentes tempo de depuração dos metais nos moluscos e comparou os resultados com os Limites Máximos Toleráveis (LMT) estabelecidos pela

Instrução Normativa n° 88/2021 da ANVISA¹³ e pela Organização Mundial de Saúde,¹⁴ além de aplicar análises quimiométricas, a fim de identificar diferenças estatísticas significativas entre diferentes tempos de depuração e elucidar de que forma ações naturais e antrópicas contribuem com a dinâmica dos metais nos tecidos de ostras.

2. Experimental

O referido estudo está livre de aspectos éticos, pois a Lei Arouca (Lei n° 11.749 de 2008),¹⁵ que regulamenta os procedimentos para o uso científico de animais trata de todas aquelas espécies classificadas no filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*, logo não se aplica às ostras que foram utilizadas nesta pesquisa.

2.1. Área de estudo

A área de estudo, representada na Figura 1, compreende a comunidade de ostreicultores de Santo Antônio de Urindeua, no município de Salinópolis-PA, a qual pertence à mesorregião do Nordeste Paraense e a Microrregião do Salgado. A hidrografia deste município é composta por rios não muito extensos, porém, muito sinuosos, que têm sua foz nas baías que se abrem para o Atlântico. O maior é o rio Maracanã, que separa a sudoeste, Salinópolis do município de Maracanã. Entre os três rios de cursos paralelos, que vertem para a baía do Urindeua.¹⁶

2.2. Amostragem

Os trabalhos em campo ocorreram nos meses de junho, agosto, outubro e dezembro do ano de 2019. Para a

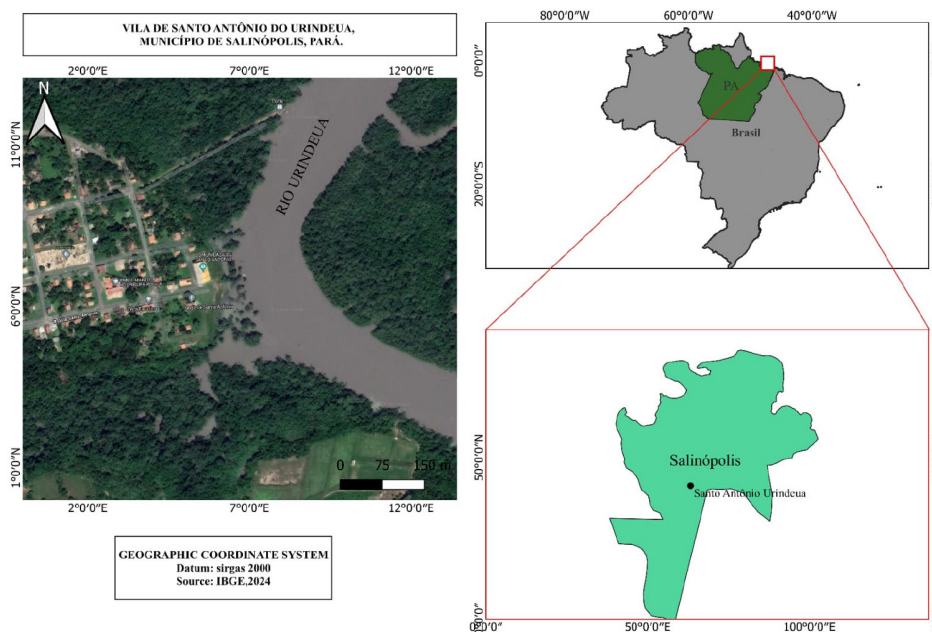


Figura 1. Mapa de localização da área de estudo

coleta das amostras de ostras, foram adquiridas 120 ostras diretamente de produtor local e imediatamente transportadas para a localidade do Atalaia, no município de Salinópolis-PA, para serem submetidas ao processo de depuração.

Do total, 24 amostras de ostras não foram submetidas a esse processo (Tempo T_0 da depuração), e foram devidamente acondicionadas em caixa isotérmica para preservação da amostra. As demais amostras foram submetidas ao mesmo processo e *pools* de 24 amostras foram retiradas e armazenadas para análise após diferentes tempos de depuração, como mostrado a seguir: 6 h de depuração (T_6), 12 h (T_{12}) e 24 h (T_{24}).

O sistema de depuração utilizado neste estudo é um modelo comercial, constituído de um freezer com capacidade para 500 L de água, acoplado a uma bomba de recirculação de água e um sistema de radiação UV, com lâmpadas de 36 Watts de potência, baixa pressão e luz monocromática 253,7 nm, marca ATMAN II® (Guangdong, China).

O tanque possui um fluxo d'água de 1500 L.h⁻¹ e comporta até 100 dúzias de ostras, distribuídas em caixas plásticas vazadas, apoiadas em um suporte inferior, projetadas a fim de evitar o contato dos moluscos com as suas excreções.

Antes de serem submetidas à depuração, as ostras foram lavadas individualmente com água potável para remoção de incrustantes e demais sujidades. Em seguida, colocadas em bandejas plásticas vazadas (40 cm x 60 cm x 6 cm), organizadas lado a lado, formando fileiras paralelas em uma única direção. As bandejas foram alocadas na depuradora de modo que ficassem totalmente imersas na água e sem contato direto com o fundo do tanque.

O armazenamento das ostras foi feito em sacos plásticos, devidamente identificados e conservadas a 4° C e encaminhadas ao Laboratório de Geoquímica e Saúde da Seção de Meio Ambiente do Instituto Evandro Chagas (SAAMB/IEC).

2.3. Análise

O preparo das amostras de ostras seguiu as recomendações de Marinho *et al.*,¹⁷ o material externo do molusco foi novamente lavado com auxílio de escova/gaze e água corrente, seguida de água destilada estéril e limpeza com auxílio de álcool etílico 70%. Após este processo, ocorreu a abertura das valvas com auxílio de faca estéril, toda a parte mole do molusco foi removida e macerada com auxílio de um grau, pistilo e tesoura (estéreis) e em seguida as amostras foram liofilizadas com o auxílio de um liofilizador, modelo L101, marca Liotop® (São Carlos, Brasil).

A etapa de digestão das amostras seguiu as recomendações descritas por Vinãs *et al.*,¹⁸ com adaptações, para isso foram pesados em uma balança analítica, modelo TE214S, marca Sartorius® (Goettingen, Alemanha), entre 200 a 250 mg de amostra em tubos de politetrafluoretileno (PTFE) e posteriormente foram adicionados 3 mL de

ácido nítrico (HNO₃) 65%, Emsure® Merck (Darmstadt, Alemanha) e 1 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 30% v/v, Neon® (Suzano, Brasil). Logo após, as amostras foram submetidas a aquecimento, através do sistema de radiação por microondas, no digestor de amostra modelo Mars Xpress®, CEM (Carolina do Norte, EUA), conforme o programa descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Rampa de aquecimento do forno microondas

Etapa	Potência (W)	Rampa (min)	Temperatura (°C)	Tempo (min)
1	1200	5	190	15
2	1120	5	150	15
3	560	5	180	15

A mistura resultante (após resfriamento) foi transferida quantitativamente para balões volumétricos de polipropileno e aferidos para o volume de 25 mL. Para a quantificação dos metais: cádmio (Cd), cobalto (Co), cobre (Cu), ferro (Fe), níquel (Ni), chumbo (Pb) e zinco (Zn) foi utilizada a técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), modelo Vista-MPX CCD simultâneo, Varian® (Mulgrave, Austrália), configuração axial e equipado com sistema de amostragem automático (SPS - 5). O controle das condições operacionais do ICP OES foi realizado com o *software ICPExpert Vista*.¹⁹ Os parâmetros instrumentais estabelecidos para a determinação dos metais são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros instrumentais usados para a determinação de metais por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)

Parâmetros Instrumentais	
Analito	Comprimento de onda (λ)
Cd	214,439 nm
Co	230,786 nm
Cu	327,395 nm
Fe	238,204 nm
Ni	231,604 nm
Pb	220,353 nm
Zn	213,857 nm
Descrição dos Acessórios	
Potência	1,0 Kw
Fluxo do gás	15 L.min ⁻¹
Rotação da bomba peristáltica	30 rpm
Tipo de tocha	2,4 mm de diâmetro, axial
Tipo de nebulizador	V-groove

2.4. Validação do método analítico

Os parâmetros de validação dos métodos analíticos usados nesta pesquisa foram: Linearidade, Precisão (Recuperação), Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ). Todos os reagentes utilizados para

análise de metais foram de grau analítico; as soluções foram preparadas com água deionizada de alta pureza (resistividade de 18,2 MΩ x cm) obtida de um sistema Milli-Q, Millipore®(Burlington, EUA).

A linearidade foi avaliada pela interpretação das curvas de calibração geradas a partir de soluções padrão de Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn Agilent® (Santa Clara, EUA); as alíquotas foram preparadas pelo método de diluição, abrangendo a faixa dinâmica de 0,1 a 3,2 mg.L⁻¹. A partir de soluções de 1000 mg.L⁻¹, foram tomadas alíquotas de 10, 20, 40, 80, 160 e 320 µL para preparar curvas de calibração em concentrações de 0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6 e 3,2 mg.L⁻¹, respectivamente. Depois de adicionar os volumes necessários para as soluções padrão, as amostras foram acidificadas com 1 mL de ácido nítrico (HNO₃) a 65% Emsure®, Merck (Darmstadt, Alemanha), seus volumes finais foram aferidos com água reagente e cada solução foi homogeneizada.

Para verificar a precisão do método (recuperação), 100 mg do material de referência 1566b SRM, NIST® (Gaithersburg, EUA), foram submetidas às mesmas condições de digestão das amostras de ostras. A recuperação foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\%Recuperação = \frac{CE}{CT} \times 100 \quad (1)$$

onde: CE: Concentração determinada experimentalmente; CT: Concentração certificada no material de referência padrão.

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) do método analítico foram determinados pela leitura de dez brancos analíticos. Para isso, os brancos analíticos foram preparados de acordo com o DOQ-CGCRE-008,²⁰ documento normativo da Coordenação Geral de Acreditação (Cgcre) do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO)

Os parâmetros de validação foram calculados com as seguintes equações:

$$LD = \frac{3,3 s}{b} \quad (2)$$

$$LQ = \frac{10 s}{b} \quad (3)$$

onde: s: Desvio padrão da resposta do branco; b: Inclinação da curva analítica.

2.5. Procedimentos estatísticos

A estatística descritiva básica foi aplicada aos resultados deste estudo. Os dados foram tabulados usando o *software* Microsoft Office Excel® 2010,²¹ para análise estatística de teste de normalidade de *Ryan-Joiner* (similar ao teste W de *Shapiro-Wilk*) a 5% de significância (p = 0,05), bem como análise de variância e análise multivariada, os resultados foram inseridos no *software* Minitab 20.2 Statistical®.²²

3. Resultados e Discussão

3.1. Análise estatística descritiva

A Tabela 3 mostra os valores obtidos no teste de recuperação para os metais Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn, bem como os valores do Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) para os parâmetros investigados. Para que o método seja considerado preciso e específico, as taxas de recuperação calculadas devem corresponder de 80 a 110% do valor real do material de referência padrão, de acordo com os critérios adotados pela AOAC, Apêndice F: Diretrizes para requisitos de desempenho de método padrão.²³

A Tabela 4 apresenta os Limites Máximos Toleráveis (LMT) estabelecidos na Instrução Normativa n° 88/2021 da ANVISA¹³ e pela Organização Mundial de Saúde.¹⁴

3.2. Teste de normalidade

Para avaliar a normalidade da distribuição dos dados, foi aplicado o teste R de *Ryan-Joiner* (similar ao teste W de *Shapiro-Wilk*) a 5% de significância. Conforme observado nas informações suplementares (Figuras 1S a 7S), pode-se constatar que o valor de p para as 7 variáveis estudadas nesta pesquisa é maior que o nível de significância (5%), sugerindo, deste modo, que os dados seguem uma distribuição normal, permitindo, assim, a utilização de testes estatísticos paramétricos.

Para identificar outliers, os dados foram submetidos à análise gráfica usando boxplots, conforme ilustrados nas Figuras 8S a 14S, presentes nas informações suplementares.

Tabela 3. Controle de qualidade analítica da determinação de metais usando o Material de Referência Certificado (SRM NIST 1566b)

Parâmetro	Cd	Co	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Concentração Real (mg.kg ⁻¹)	2,48	0,371	71,60	205,80	1,04	0,308	1424,00
Concentração Obtida (mg.kg ⁻¹)	2,16	0,390	60,53	165,83	1,12	0,308	1175,33
Recuperação (%)	86,9	105,0	84,5	80,6	107,7	100,0	82,5
Limite de Detecção (mg.kg ⁻¹)	0,004	0,008	0,006	0,009	0,010	0,037	0,005
Limite de Quantificação (mg.kg ⁻¹)	0,014	0,028	0,019	0,029	0,034	0,124	0,015

Tabela 4. Limites Máximos Toleráveis (LMTs) estabelecidos na Instrução Normativa n° 88/2021 da ANVISA e pela Organização Mundial de Saúde

Parâmetro	Unidade	Instrução Normativa n° 88/2021	Organização Mundial de Saúde
Cd	mg.kg ⁻¹	2 mg.kg ⁻¹	-
Co	mg.kg ⁻¹	-	-
Cu	mg.kg ⁻¹	-	10 mg.kg ⁻¹
Fe	mg.kg ⁻¹	-	-
Ni	mg.kg ⁻¹	-	-
Pb	mg.kg ⁻¹	1,5 mg.kg ⁻¹	-
Zn	mg.kg ⁻¹	-	100 mg.kg ⁻¹

Foram constatados *outliers* apenas para o elemento Cd, porém, nenhum dado foi excluído, uma vez que os *outliers* podem ocorrer naturalmente em medições ambientais.

3.3. Análise de Variância (ANOVA)

Após esta etapa, os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), por meio do teste de Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$), a fim de observar diferenças estatísticas significativas entre os tempos de depuração do tecido de ostras. A Tabela 5 fornece os resultados descritivos do teste de média de Tukey, bem como o valor-p para cada parâmetro estudado.

A concentração média de elementos traço no tecido mole das ostras selecionadas como amostras, segue uma ordem decrescente de Zn > Fe > Cu > Pb > Ni > Co > Cd. As concentrações médias de Cd variaram entre 0,06 a 0,18 mg.Kg⁻¹, o teste de Tukey aplicado à distribuição da variável estudada, indicou que os valores médios do metal não diferem significativamente, do ponto de vista estatístico, entre os tempos de depuração ($p = 0,661$).

Observou-se um incremento de 80% na concentração do metal durante os tempos T₆ a T₁₂, seguido de uma redução de quase 70% na concentração do mesmo, entre o tempo T₁₂ a T₂₄. A concentração média para o tempo T₀ (antes de passar pelo processo de depuração) foi quatro vezes menor que a concentração média determinada por De Souza²⁴ (0,48 mg.Kg⁻¹); o autor estudou a mesma espécie alvo deste estudo, oriundas do sistema estuarino de Santos.

De acordo com o autor esta magnitude é considerada como baixa concentração, tendo em vista que o Limite Máximo Tolerável (LMT) pela Instrução Normativa n° 88/2021 da ANVISA é de 2 mg.Kg⁻¹, logo, todas as amostras analisadas neste estudo apresentaram conformidade com a concentração proposta pelo órgão regulamentador. As baixas concentrações de Cd determinadas neste estudo sugerem um baixo nível do elemento traço no ecossistema estudado, tendo em vista que a capacidade dos bivalves de eliminar metais, como Cd, por exemplo, é bem conhecida.²⁵

Considerando os metais Co, Fe e Ni, o processo de depuração não apresentou diferença estatística significativa entre os diferentes tempo, uma vez que o valor p foi maior que o nível de significância de 5%. Foi observado para a

Tabela 5. Concentrações médias ± desvio padrão (DP) de Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn em tecidos de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) submetidas à diferentes tempos de depuração

Parâmetro	Tempo de Depuração (h)	Média+DP (mg. Kg ⁻¹)	p
Cd	T ₀	0,1±0,2 ^{a,b,c,d}	0,661
	T ₆	0,10±0,06 ^{a,b,c,d}	
	T ₁₂	0,2±0,2 ^{b,c,d}	
	T ₂₄	0,06±0,06 ^{a,b,c}	
Co	T ₀	0,4±0,3 ^{a,b,c}	0,697
	T ₆	0,7±0,5 ^{a,b,c,d}	
	T ₁₂	0,5±0,3 ^{a,b,c}	
	T ₂₄	0,4±0,3 ^{a,b,c}	
Cu	T ₀	0,7±0,5 ^{a,b,c,d}	0,894
	T ₆	5±2 ^{a,b,c}	
	T ₁₂	6±2 ^{a,b,c,d}	
	T ₂₄	6±3 ^{a,b,c,d}	
Fe	T ₀	40±20 ^{a,b,c}	0,651
	T ₆	40±10 ^{a,b,c,d}	
	T ₁₂	40±10 ^{a,b,c,d}	
	T ₂₄	50±10 ^{a,b,c,d}	
Ni	T ₀	0,5±0,5 ^{a,b,c,d}	0,977
	T ₆	0,6±0,7 ^{a,b,c,d}	
	T ₁₂	0,7±0,6 ^{a,b,c,d}	
	T ₂₄	0,6±0,9 ^{a,b,c,d}	
Pb	T ₀	1,3±0,8 ^{a,b,c,d}	0,443
	T ₆	1,0±0,4 ^{a,b,c}	
	T ₁₂	1,8±0,7 ^{b,c,d}	
	T ₂₄	1,2±0,8 ^{a,b,c,d}	
Zn	T ₀	200±80 ^{a,b,c,d}	0,892
	T ₆	230±71,90 ^{a,b,c,d}	
	T ₁₂	200±100 ^{a,b,c,d}	
	T ₂₄	200±100 ^{a,b,c,d}	

Médias na mesma coluna seguidas da mesma letra não são diferentes significativamente ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

concentração do metal Co um aporte de 65% nas primeiras 6 horas de depuração, enquanto que para os metais Fe e Ni, constatou-se um enriquecimento de 23% entre os tempos T₀ e T₂₄ e 38% entre os tempos T₀ e T₁₂, respectivamente.

Com base nas portarias adotadas nesta pesquisa, os metais supracitados não dispõem de Limites Máximos Toleráveis, impossibilitando deste modo a indicação de contaminação ou não nos tecidos de ostras, embora estes bivalves sejam considerados uma rica fonte de ferro.²⁶

Contudo, comparando a concentração média de Fe observada nos bivalves retirados diretamente do rio urindeua ($43,87 \text{ mg.kg}^{-1}$) com o estudo de Amado-Filho *et al.*,²⁷ ($260,00 \text{ mg.kg}^{-1}$), constatou-se concentração média de Fe 6 vezes menor, em ostras da mesma espécie.

No estudo conduzido por Alfonso *et al.*,²⁸ em tecidos de ostras da espécie *Crassostrea rhizophorae*, no estuário de Mochima, na Venezuela; foram determinadas concentrações médias de 0,7 e $4,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ para os elementos Co e Ni, respectivamente. Comparando com o presente estudo, estes achados são duas vezes maiores que os encontrados para Co e quase 10 vezes maiores do que a concentração de Ni, encontradas nos tecidos dos bivalves antes de serem submetidos ao processo de depuração.

Fatores exógenos, como gradientes de salinidade, regime pluviométrico, entrada de água doce no rio, bem como efeito do ciclo reprodutivo no acúmulo de metais, podem contribuir para a diferença acentuada observada entre as duas áreas comparadas.²⁸

A depuração do metal Pb nos tecidos de ostras também não apresentou diferença estatística significativa no intervalo de 24 horas. Considerando os valores dos desvios padrão observados em cada tempo de depuração, é coerente afirmar que uma parcela significativa das amostras analisadas apresentaram concentrações do metal acima do LMT estabelecido na Instrução Normativa nº 88/2021 da ANVISA.¹³ Ao comparar a concentração média encontrada no tempo T_0 de depuração com os achados por De Souza²⁴ ($0,56 \text{ mg.Kg}^{-1}$), este estudo determinou concentração média de Pb 2,3 vezes maior.

Assim como aconteceu com os metais já mencionados; durante o processo de depuração dos bivalves foi constatada a contaminação dos moluscos por Pb, este enriquecimento de metais revela a necessidade de alguns cuidados, como por exemplo, utilizar água circulante com boa qualidade durante todo o processo, independentemente da sua fonte, bem como realização de limpeza completa dos tanques entre os ciclos de depuração.²⁴ O Pb é um elemento não essencial para os moluscos e seu acúmulo relativamente baixo pode ser devido à existência de mecanismos de desintoxicação de metais em invertebrados aquáticos.^{29,30}

Ao observar a dinâmica da depuração dos metais Cu e Zn, o teste de Tukey revela a ausência de diferença estatística significativa do processo, além do incremento na concentração dos metais, principalmente nas primeiras 12 horas. Os níveis destes metais são maiores, quando comparados com os teores de Cd e Pb, tendo em vista a alta capacidade que ostras apresentam quanto ao acúmulo destes elementos em seus tecidos.^{31,32}

A partir da Tabela 4 e tomando como base a dispersão do conjunto de dados apresentado na Tabela 5, é possível

constatar que todas as amostras apresentaram concentrações de Cu abaixo do LMT recomendado pela Organização Mundial de Saúde,¹⁴ por outro lado, 100% das amostras apresentaram concentração de Zn acima do LMT proposto pela OMS.¹⁴ Domingos de Araújo,³³ ao estudar a concentração de metais em ostras provenientes da Baía da Babitonga (SC), quantificou concentrações de Cu e Zn, cerca de 72 e 10 vezes maiores, respectivamente, que as encontradas neste estudo, no tempo T_0 .

De acordo com McCulloch *et al.*,³⁴ a capacidade natural que as ostras apresentam em acumular zinco, está diretamente relacionada às funções reprodutivas e ao estágio de maturação do molusco. No que diz respeito ao metal cobre, o elemento encontra-se presente, naturalmente, no tecido do animal, devido à capacidade de retenção que ostras apresentam, funcionando como filtro em águas marinhas e estuarinas.³⁵

3.4. Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA)

Para uma melhor interpretação dos dados multivariados, foi construída uma matriz de dados padronizada correspondente a dezesseis (16) amostras de tecidos de ostras e sete (7) variáveis de valores brutos. Esses dados foram submetidos a uma Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA).

Para isso, uma matriz que compreende os dados originais foi construída com base no método de autoescala para facilitar a aplicação da análise multivariada. Os dados autoescalados associados a cada variável devem ter média igual a zero e desvio padrão de 1, de modo que todas as variáveis tenham a mesma importância, ou seja, o mesmo peso para permitir a normalização dos dados (procedimento capaz de eliminar a influência de unidades de medida diferentes).

O método aglomerativo hierárquico de Ward foi usado para minimizar as perdas de informações originais durante o processo de agrupamento. As distâncias euclidianas normalizadas serviram para obter um dendrograma para verificar os graus de similaridade entre variáveis ou grupos distintos.

As linhas verticais no dendrograma mostrado na Figura 2 representam as variáveis analisadas. As linhas horizontais representam as medidas de similaridade calculadas por meio das distâncias euclidianas que foram consideradas para formar grupos de similaridade entre as variáveis, tomando como base os dados normalizados.

Foi possível observar a formação de dois clusters separados pela dissimilaridade máxima. Esses grupos foram identificados como grupo A e grupo B. O grupo A foi formado pelos metais Cd, Co e Pb, representado no lado esquerdo do dendrograma.

A similaridade de 77,09% entre os metais Cd e Co e consequentemente a similaridade de 60,7% deste par de metais com o elemento Pb, sugere uma fonte comum para os mesmos, tendo em vista que as concentrações de

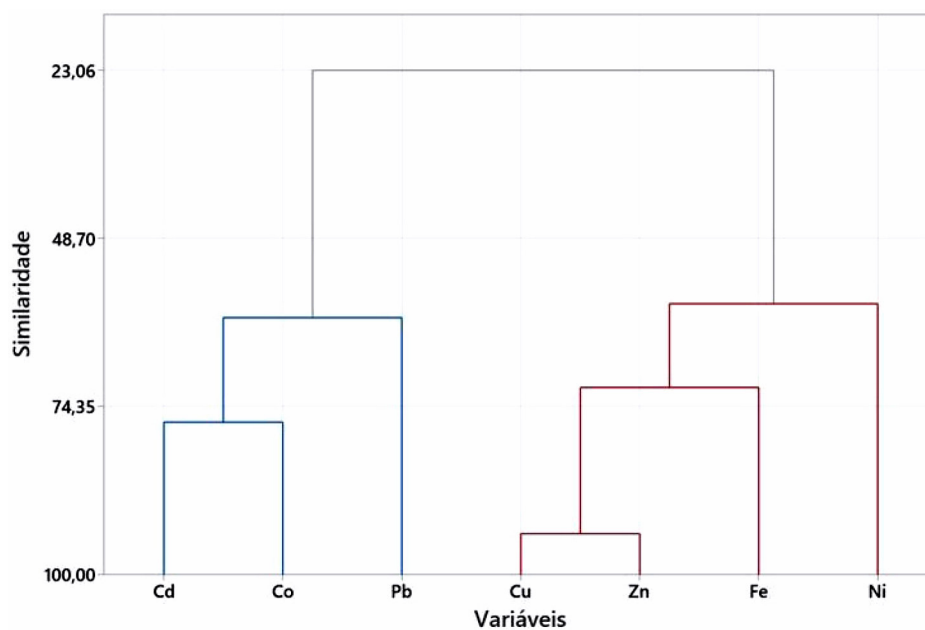


Figura 2. Dendrograma obtido para as variáveis com base nas distâncias euclidianas e no método de ligação de Ward

metais não essenciais nos organismos aquáticos dependem predominantemente dos níveis ambientais; provavelmente a bioacumulação destes metais nas ostras foi regida pela suspensão destes elementos na parte sedimentar do ecossistema, bem como pelas concentrações na coluna de água circundante.³⁶⁻³⁸

O grupo B, representado no lado direito do dendrograma, foi formado pelos metais Cu, Zn, Fe e Ni. A alta similaridade observada entre os elementos Cu e Zn pode ser justificada pela atividade essencial que estes metais desempenham nos tecidos dos bivalves, além do fato das ostras serem fortes acumuladoras destes metais.^{36,39} O metal Zn atua como cofator iônico (Zn^{2+}) para enzimas de atividades metabólicas de ostras, por outro lado, o metal Cu pode alterar os níveis de macromoléculas como proteínas, carboidratos e lipídios nos tecidos moles de moluscos, tornando-os potenciais biomarcadores confiáveis de poluição da água.⁴⁰⁻⁴¹

A similaridade de 71,45% do metal Fe com o par Zn-Cu, demonstra a preferência que os bivalves também apresentam por este elemento,⁴² justificando a abundância deste constatada em estudos como o de Taniguchi; Dobbs; Dunn.²⁶

Por fim o dendrograma mostra uma similaridade de 58,54% dos metais supracitados com o elemento Ni, mostrando assim um processo de bioacumulação natural do metal nos tecidos de ostras. De acordo com Pyle; Couture,⁴³ o Ni é amplamente considerado um elemento essencial, embora não haja evidência direta de sua essencialidade em invertebrados aquáticos, no entanto, estudos como os de Chowdhury *et al.*,⁴⁴ e Pane *et al.*,⁴⁵ demonstraram que organismos marinhos podem reduzir ativamente a absorção gastrointestinal após a pré-exposição ao Ni na água e que o mesmo metal pode ser reabsorvido pelos rins de peixes.

4. Conclusões

Os resultados obtidos para as concentrações dos elementos traços investigados revelaram que apenas Chumbo (Pb) e Zinco (Zn) apresentaram teores acima do Limite Máximo Tolerável (LMT) proposto pelas legislações vigentes. A análise estatística multivariada ajudou a explicar a associação entre os parâmetros, bem como a diferenciar como as ações naturais e antrópicas contribuem com a dinâmica dos metais nos tecidos de ostras da espécie *Crassostrea rhizophorae*.

A pesquisa elucidou a abundância dos metais Cu, Fe e Zn, comportamento observado em outros estudos com bivalves, revelando atividades essenciais que estes elementos desempenham nos tecidos dos moluscos; a relação destes elementos com o metal Ni sugeriu um processo de bioacumulação usual do metal nos tecidos de ostras, indicando uma fonte natural do elemento.

O teste de Tukey evidenciou a ineficiência do processo de depuração das ostras oriundas da vila de Santo Antônio do Urindeua e comercializadas no município de Salinópolis-PA, pois, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os diferentes tempos de depuração, além disso, foi constatado enriquecimento nas concentrações dos metais alvos desta pesquisa (Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn), indicando que o próprio processo de purificação contribui para as concentrações de metais nos tecidos dos moluscos.

Em alguns casos, a amostra apresentava concentrações abaixo do LMT pelas legislações vigentes e durante o processo de depuração, a concentração de metais nos tecidos de ostras ultrapassou o valor limite. Embora as concentrações de Cd e Cu não tenham ultrapassado a quantidade máxima permitida de metais nos bivalves, são

necessários cuidados higiêncio-sanitários durante o processo de preparo do alimento ou até mesmo, que o sistema de depuração dos moluscos bivalves seja aperfeiçoado, uma vez que foram determinadas concentrações de Pb e Zn acima do LMT.

É importante investigar minuciosamente a relação entre os intervalos de tempo de depuração e a concentração de metais, bem como conduzir pesquisas desta natureza em bivalves comercializados em outras regiões do estado do Pará, uma vez que há pouca disponibilidade de dados científicos na literatura; é imprescindível também, apurar informações de como a coluna d'água e a fase sedimentar contribuem com a dinâmica de metais no tecido dos bivalves.

Contribuições do Autor

Neuton Trindade Vasconcelos Junior: curadoria de dados, investigação, redação do rascunho original, validação; Renata Cristina de Souza: curadoria de dados, investigação, validação; Luiza de Cássia Santa Brigida Gomes: validação, redação do rascunho original; Marília Ahndrew Veiga: curadoria de dados, investigação, visualização, redação do rascunho original; Cássio Raimundo Freitas Faial: metodologia, visualização, redação – revisão e edição; Yasmim Oliveira dos Santos: metodologia, visualização, redação – revisão e edição; Kleber Raimundo Freitas Faial: metodologia, visualização, redação – revisão e edição; Mônica Cristina de Moraes Silva: conceituação, recursos, administração do projeto, redação – revisão e edição; Kelson do Carmo Freitas Faial: conceituação, supervisão, redação – revisão e edição.

Referências Bibliográficas

- De Siqueira, T. V.; Aquicultura: A nova fronteira para aumentar a produção mundial de alimentos de forma sustentável. *Revista BNDES* **2018**, *25*, 119. [Link]
- Food and Agriculture Organization of the United Nations; *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals*, 1a. ed., FAO: Rome, 2018.
- Sítio do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2023>. Acesso em: 30 setembro 2024.
- Suplicy, F. M.; *O negócio da ostreicultura; Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina*. Suplicy, F. M., ed.; EPAGRI: Florianópolis, 2022, cap. 1.
- Barros, L. S.; Batista, B. B.; *Desafios e perspectivas da malacocultura na Amazônia*. Alcântara, A. M. et al., ed.; Itacaiúnas: Ananindeua, 2021, cap. 12.
- Reis, R. S. C.; Costa, A. T. S.; Rodrigues, R. P.; Campelo, D. A. V.; Veras, G. C.; Brabo, M. F.; Aspectos tecnológicos de um empreendimento de ostreicultura em uma reserva extrativista marinha na Amazônia. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente* **2020**, *13*, 1263. [CrossRef]
- Sampaio, D. S.; Tese de Doutorado, Universidade Federal do Pará, 2017. [Link]
- Marinho, F. B.; Tese de Doutorado, Universidade Federal da Paraíba, 2019. [Link]
- Benthorage, C.; Cole, V.; Schulz, K. G.; Benkendorff, K. Bioaccumulation of estuarine pollutants in leaf oysters (*Isognomon ehippium*) on the mid-north coast, New South Wales, Australia. *Marine Environmental Research*. **2023**, *189*, 1. [CrossRef]
- Companhia Ambiental do Estado de São Paulo; *Relatório de qualidade das águas costeiras no estado de São Paulo*, 1a. ed., CETESB: São Paulo, 2019.
- Kan, L.; Nano, R. M. W.; Carvalho Dos Santos, W. P.; *Estudo da saúde e dos riscos ambientais das marisqueiras de São Francisco do Conde – BA*. Pacheco, J. T. R.; Pacheco, M. Z., ed.; Atena: Ponta Grossa, 2021, cap. 1.
- Dos Santos, G. B. M.; De Freitas, L. A.; Zeidan, G. C.; Elementos essenciais e não essenciais em tecidos de bivalves comercializados no sul da Bahia. *Rev. Gest. Soc. Ambient.* **2023**, *17*, 1. [Crossref]
- Sítio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5780314/282%29IN_88_2021_COMP.pdf/b160d138-5507-461c-8702-ccc57a95e790. Acesso em: 22 março 2024.
- World Health Organization.; *Toxicological Evaluation of Certain Food Additives*, 1a. ed., WHO: Rome, 1982.
- Sítio do Senado Federal. Disponível em: <https://legis.senado.leg.br/norma/582216#:~:text=Regulamenta%20o%20inciso%20VII%20do,1979%3B%20e%20d%20C%3%A1%20outras%20provid%20C%3AAncias.&text=AUTOR%3A%20DEPUTADO%20SERGIO%20AROUCA%20%2D%20PL%201.153%20DE%201995>. Acesso em: 23 março 2024.
- Figueiredo, J.; Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Pará, 2015. [Link]
- Marinho, A. N. R.; Rocha, D. C. C.; Kanai, Y. K.; Alves, C. M.; Costa, D. C.; Sousa, A. H.; Barros, B. C. V.; Bonfim, M. C. M. S.; Mascarenhas, J. D. P.; Rotavirus analyses by SYBR Green real-time PCR and microbiological contamination in bivalves cultivated in coastal water of Amazonian Brazil. *Journal of water and health* **2018**, *16*, 970. [Crossref] [PubMed]
- Vinas, P.; Pardo-Martinez, M.; Hernandez-Cordoba, M.; Determination of copper, cobalt, nickel, and manganese in baby food slurries using electrothermal atomic absorption spectrometry. *Journal of Agriculture an food chemistry* **2000**, *48*, 5789. [Crossref] [PubMed]
- ICPEXpert Vista®, version 4.1.0; Varian Inc., Mulgrave, VIC, AU, 2005.
- Sítio do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Disponível em: < http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=5&cod_ou_numero=00774&num_documento=008>. Acesso em: 25 março 2024.
- Microsoft Office Excel®, version 2010; Microsoft Inc., Redmond, WA, USA, 2010.
- Minitab 20.2 Statistical®, version 20; Minitab Inc., State College, PA, USA, 2021.

23. Sitio da Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Disponível em: https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf. Acesso em: 29 março 2024.
24. De Souza, P. F.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Fluminense, 2021. [[Link](#)]
25. Han, B.; Jeng, W. L.; Tsai, Y.; Jeng, M.; Depuration of copper and zinc by green oysters and blue mussels of Taiwan. *Environmental Pollution* **1993**, 82, 93. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
26. Taniguchi, C. N.; Dobbs, J.; Dunn, M. A.; Heme iron, non-heme iron, and mineral content of blood clams (*Anadara* spp.) compared to Manila clams (*V. philippinarum*), Pacific oysters (*C. gigas*), and beef liver (*B. taurus*). *J Food Compos Anal.* **2017**, 57, 49. [[Crossref](#)]
27. Amado-Filho, G. M.; Salgado, L. T.; Rebelo, M. F.; Rezende, C. E.; Karez, C. S.; Pfeiffer, W. C.; Heavy metals in benthic organisms from Todos os Santos Bay, Brazil. *Braz. J. Biol.* **2008**, 68, 95. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)]
28. Alfonso, J. A.; Handt, H.; Mora, A.; Vásquez, Y.; Azocar, J.; Marcano, E.; Temporal distribution of heavy metal concentrations in oyster *Crassostrea rhizophorae* from the central Venezuelan coast. *Marine Pollution Bulletin* **2013**, 73, 394. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
29. Abdullah, M. H.; Sidi, J.; Aris, A. Z.; Heavy Metals (Cd, Cu, Cr, Pb and Zn) in Meretrix meretrix Roding, Water and Sediments from Estuaries in Sabah, North Borneo. *International Journal of Environmental & Science Education* **2007**, 2, 69. [[Link](#)]
30. Pourang, N.; Richardson, C. A.; Mortazavi, M. S.; Heavy metal concentrations in the soft tissues of swan mussel (*Anodonta cygnea*) and surficial sediments from Anzali wetland, Iran. *Environmental Monitoring and Assessment* **2010**, 163, 95. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
31. Caetano, R.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2006. [[Link](#)]
32. Cavalcanti, A. D.; Monitoramento da contaminação por elementos traço em ostras comercializadas em Recife, Pernambuco, Brasil. *Cadernos Saúde Pública* **2003**, 19, 1545. [[Crossref](#)]
33. Domingos de Araújo, A. S.; Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015. [[Link](#)]
34. McCulloch, A. W.; Boyd, R. K.; De Freitas, A. S.; Foxall, R. A.; Jamieson, W. D.; Laycock, M. V.; Quilliam, M. A.; Wright, J. L.; Boyko, V. J.; McLaren, J. W.; Miedema, M. R.; Pocklington, R.; Arsenault, E.; Richard, D. J. A.; Zinc from oyster tissue as causative factor in mouse deaths in official bioassay for paralytic shellfish poison. *J Assoc Off Anal Chem.* **1989**, 72, 384. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
35. Marques, A. L. B.; Mouchrek Filho, J. E.; Mouchrek Filho, V. E.; Rojas, M. O. A. J.; *Anais da 23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de caldas, Brasil, 2000.
36. Hasrizal, S.; Bryan, R.; Khawar S.; Yuzwan, M.; Kamar, U. Y.; Status of Heavy Metals Concentrations in Oysters (*Crassostrea* sp.) from Setiu Wetlands, Terengganu, Malaysia. *Sains Malaysiana* **2016**, 45, 417. [[Link](#)]
37. Guzmán-García, X.; Botello, A. V.; Martínez-Tabche, L.; González-Márquez, H.; Effects of heavy metals on the oyster (*Crassostrea virginica*) at Mandinga Lagoon, Veracruz, Mexico. *Rev. Biol. Trop.* **2009**, 57, 955. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
38. Kargin, F.; Metal concentrations in tissues of the freshwater fish *Capoeta barroisi* from the Seyhan River (Turkey). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **1998**, 60, 822. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
39. Shi, B.; Wang, T.; Zeng, Z.; Zhou, L.; You, W.; Ke, C.; The role of copper and zinc accumulation in defense against bacterial pathogen in the fujian oyster (*Crassostrea angulata*). *Fish Shellfish Immunol.* **2019**, 92, 72. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
40. Frausto Da Silva, J. J. R.; Williams, R. J. P.; *The Biological Chemistry of the Element, the Inorganic Chemistry of Life*, 1a. ed., Clarendon Press: Oxford, 1991.
41. Patel, R.; Kurhe, A.; Effects of heavy metals copper and mercury on the biochemical composition and activity pattern of selected enzymes of Molluscs: A Review. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* **2023**, 19, 187 [[Link](#)]
42. Biswas, Tanima.; Bandyopadhyay, P. K.; Chatterjee, S. N.; Accumulation of cadmium, copper, lead, zinc and iron in the edible oyster, *Saccostrea cucullata* in coastal areas of West Bengal. *African Journal of Biotechnology* **2013**, 12, 3872. [[Crossref](#)]
43. Pyle, G.; Couture, P.; *Nickel. Homeostasis and Toxicology of Essential Metals Fish Physiology*. Wood, C. M.; Farrell, A.; Brauner, C., ed.; Elsevier Inc.: Amsterdã, 2012, cap. 5.
44. Chowdhury, M.J.; Bucking, C.; Wood, C.M.; Pre-exposure to waterborne nickel downregulates gastrointestinal nickel uptake in rainbow trout: indirect evidence for nickel essentiality. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, 42, 1359. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
45. Pane, E.F.; Bucking, C.; Patel, M.; Wood, C.M.; Renal function in the freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following acute and prolonged exposure to waterborne nickel. *Aquat. Toxicol.* **2005**, 72, 119. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]