

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



BIOACUMULAÇÃO DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E METAIS PESADOS NO FÍGADO DOS  
GRANDES PREDADORES DO ATLÂNTICO

SÓNIA RAQUEL GUERREIRO ALVES

ORIENTADOR:

Doutora Cristina Maria Pereira Mateus

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



BIOACUMULAÇÃO DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E METAIS PESADOS NO FÍGADO DOS  
GRANDES PREDADORES DO ATLÂNTICO

SÓNIA RAQUEL GUERREIRO ALVES

DISSERTAÇÃO DE NESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Marília Catarina Leal Fazeres  
Ferreira

VOGAIS:

Doutora Cristina Maria Pereira Mateus  
Doutora Susana Paula Almeida Alves

ORIENTADOR:

Doutora Cristina Maria Pereira Mateus

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome: Sónia Raquel Guerreiro Alves

Título da Tese ou  
Dissertação: Bioacumulação de elementos essenciais e metais pesados no fígado dos grandes predadores do Atlântico

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2004

Designação do curso  
de Mestrado ou de  
Doutoramento: Mestrado em Segurança Alimentar

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica  Produção Animal e Segurança Alimentar  
 Morfologia e Função  Sanidade Animal

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três, retirando as que não interessam):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 9 de Maio de 2024

Assinatura: Sónia Guerreiro Alves (indicar aqui a data da realização das provas públicas)

## Agradecimentos

A elaboração de uma Dissertação de Mestrado é uma longa viagem, com muitos trilhos e percalços pelo caminho, que só são ultrapassáveis com o apoio dos muitos que, de alguma forma contribuíram para a sua conclusão.

À professora Doutora Cristina Mateus, pela qualidade da sua orientação, pelo empenho sucessivamente demonstrado. Pela disponibilidade manifestada e pelas sugestões sempre oportunas.

À minha mãe, Mariana, pela dedicação, educação e sacrifício ao desempenhar o papel difícil de mãe e pai. Obrigado por tudo o que sou.

À minha irmã, Sofia, pela amizade, pelo carinho e companheirismo de sempre. Por torcer sempre pelas minhas conquistas.

À minha amiga, Andreia, a quem tenho muito a agradecer pela infinita disponibilidade, carinho e paciência que sempre teve para comigo.

Por último, agradeço a todos os meus familiares e amigos que me admiram, pelo apoio e por acreditarem sempre nas minhas capacidades. Por serem as pessoas fantásticas que são, o meu MUITO OBRIGADO!

*“Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra! Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.” Charles Chaplin*

# **Bioacumulação de elementos essenciais e de metais pesados em fígado dos grandes predadores do Atlântico**

## **Resumo**

Dentro da União Europeia, Portugal destaca-se pelo seu elevado consumo *per capita* de produtos de pesca, com uma média de aproximadamente 60,9 kg/ano, o que equivale a 160 g/dia. O consumo desses produtos é recomendado em todos os países devido aos diversos benefícios nutricionais que oferecem. No entanto, apesar das vantagens, também surgem preocupações relacionadas com a exposição dos consumidores a substâncias poluentes que podem acumular-se nas partes comestíveis dos produtos da pesca, músculo e fígado, criando assim um potencial risco para a saúde humana. Este estudo destaca a importância da monitorização contínua da bioacumulação de elementos essenciais e metais pesados em grandes predadores do Atlântico, que partilham várias semelhanças na cadeia alimentar, especialmente devido ao seu posicionamento como predadores de topo no ecossistema marinho, têm uma dieta predominantemente piscívora, exibem padrões de migração ao longo de vastas áreas oceânicas. Desta forma, como predadores de topo da cadeia alimentar marinha desempenham um papel fundamental no controlo das populações de peixes menores, mantendo o equilíbrio dos ecossistemas marinhos. Assim, o objetivo deste estudo consistiu em determinar o teor de elementos essenciais e de alguns metais pesados no fígado de grandes predadores do Atlântico, incluindo atuns (albacora, bonito, obeso), espadarte e tubarões (azul e mako). As amostras de fígado foram recolhidas, em alto mar por cargueiros do porto de Peniche e posteriormente analisadas. Os resultados mostram que os níveis de elementos essenciais encontrados estão em concordância com os valores descritos na literatura. Os elementos essenciais mais abundantes no fígado foram o potássio (406-1806 mg/100 g) e o zinco. No entanto, os teores de arsénio e cádmio apresentaram valores que diferem do padrão esperado, ultrapassando, no caso do cádmio, os limites legislados pela UE. Em conclusão, os produtos da pesca capturados no Oceano Atlântico, podem acumular substâncias tóxicas ou poluentes presentes nas presas que consomem, o que pode ser uma preocupação evidenciando a necessidade de um acompanhamento rigoroso dos potenciais impactos na saúde dos ecossistemas marinhos e, em última análise, na segurança dos alimentos e proteção da saúde dos consumidores.

Palavras-chave: bioacumulação; peixe; macro e microelementos essenciais, elementos tóxicos.

# **Bioaccumulation of essential elements and heavy metals in the liver of large Atlantic predators**

## **Abstract**

Within the European Union, Portugal holds the highest consumption of fish, having an average of approximately 60,9 kg/year, translating into 160 g/day. Consumption of these products is recommended in all countries due to their nutritional benefits. However, despite its many advantages, consumers show concerns related to the exposure of some nocive substances that can be accumulated on the edible parts of fish, leading to a potential risk for human health.

This study underlines the importance of a continuous monitoring on bioaccumulation of essential elements and heavy metals on large Atlantic predators, since they share several similarities in the food chain, especially due to their positioning as top predators in the marine ecosystem, they have a predominantly piscivorous diet, exhibiting migration patterns over vast oceanic areas. As top predators in the marine food chain, large Atlantic predators play a fundamental role in controlling smaller fish populations and maintaining the balance within the marine ecosystems. Therefore, the aim of this study was to determine the amount of essential elements and some heavy metals on the liver of large Atlantic predators, including tunas (yellowfin, bonito, obese), swordfish and sharks (blue and mako). The liver samples were collected by port of Peniche's freighters on the high seas, and then analysed. The results of the samples showed that levels of essential elements are in agreement with the values described in the literature. The most abundant liver's essential elements were potassium (406-1806 mg/100 g) and zinc. However, the levels of arsenic and cadmium showed values that differed from the expected standard, showing that cadmium exceeded the legislated limits by the EU. In conclusion, fishery products caught in the Atlantic Ocean can accumulate toxic substances or pollutants that were passed from preys they consume, which may be a concern, highlighting the need for a closer monitoring of potential impacts on the health of marine ecosystems and, ultimately, on food safety and the final consumers protection.

Keywords: bioaccumulation; fish; essential macro and microelements, toxic elements.

## Índice

Agradecimentos.....	iii
Resumo .....	iv
Abstract.....	v
Lista de Figuras .....	vii
Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	ix
Revisão Bibliográfica.....	1
1. Introdução .....	1
1.1. Fenómeno de bioacumulação e biomagnificação.....	3
1.2. Metabolismo hepático em peixes .....	6
2. Minerais.....	7
2.1. Macroelementos essenciais.....	8
2.1.1. Potássio (k), Sódio (Na) e Cloro (Cl) .....	8
2.1.2. Enxofre (S) .....	9
2.1.3. Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) .....	10
2.2. Microelementos essenciais.....	11
2.2.1. Zinco (Zn) .....	11
2.2.2. Cobre (Cu) .....	11
2.2.3. Ferro (Fe).....	12
2.2.4. Manganês (Mn) .....	13
2.2.5. Selênio (Se).....	13
3. Metais pesados e a sua toxicidade para o Homem.....	16
3.1. Cádmio (Cd) .....	17
3.2. Mercúrio (Hg) .....	17
3.3. Arsênio (As) .....	18
3.4. Crómio (Cr).....	19
3.5. Chumbo (Pb).....	20
3.6. Objetivo do trabalho.....	22
4. Materiais e Métodos .....	22
4.1. Preparação das amostras.....	22
4.2. Digestão e análise .....	23
4.3. Análise estatística .....	23
5. Resultados e discussão .....	23
6. Conclusão.....	29
7. Referências.....	30

## Lista de Figuras

- Figura 1** – Fenómeno de bioacumulação (Fonte: <https://Michigan.gov> 2023) **3**
- Figura 2** – Pirâmide simplificada da cadeia alimentar que ilustra como os poluentes se bioacumulam e se biomagnificam por meio da transferência trófica (adaptado de Popek 2018). **5**

## Lista de Tabelas

- Tabela 1** - Categoria dos minerais essenciais com base na função fisiológica. (Fonte: Hardy 2001). **15**
- Tabela 2** - Teores de macroelementos (média e desvio padrão), expressos em mg/kg de matéria seca (MS), no fígado de atum albacora (AA), atum-listado (AL), espadarte (ES), tubarão azul (TA) e tubarão mako (TM). **24**
- Tabela 3** - Teores de microelementos (média e desvio padrão), expressos em mg/kg de matéria seca (MS), no fígado de atum albacora (AA), atum-listado (AL), espadarte (ES), tubarão azul (TA) e tubarão mako (TM). **25**
- Tabela 4** - Teores de cádmio e arsénio (média e desvio padrão), expressos em mg/kg de matéria seca (MS), no fígado de atum albacora (AA), atum-listado (AL), espadarte (ES), tubarão azul (TA) e tubarão mako (TM). **27**

## Lista de Abreviaturas e Símbolos

AA	Atum albacora
AL	Atum listado
AS	Arsénio
ATP	Adenosina Trifosfato
ATSDR	Agência para o Registo de Substâncias Tóxicas e Doenças ( <i>The Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i> )
BCF	Fator de Bioconcentração ( <i>Bioconcentration Factor</i> )
Cd	Cádmio
Cl	Cloro
Cr	Crómio
Cu	Cobre
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPA	Agência de Proteção Ambiental ( <i>Environmental Protection Agency</i> )
ES	Espadarte
EU	União Europeia
EUMOFA	Observatório Europeu do Mercado dos Produtos da Pesca e da Aquicultura ( <i>European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products</i> )
Fe	Ferro
HCl	Ácido clorídrico
Hg	Mercúrio
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Acoplado
IDR	Ingestão diária recomendada
K	Potássio
MeHg	Metilmercúrio
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
MnSOD	Superóxido dismutase de manganês
MS	Matéria seca
Ni	Níquel
AO	Atum obeso
OMS	Organização Mundial de Saúde
Pb	Chumbo
PTWI	Ingestão Semanal Tolerável Provisória ( <i>Provisional Tolerable Weekly Intake</i> )
RASFF	Sistema de Alerta Rápido para Alimentos para Consumo Humano e Animal. ( <i>Rapid Alert System for Food and Feed</i> )
S	Enxofre
Se	Selénio
SOD	Superóxido dismutase
T <sub>3</sub>	Triiodotironina
T <sub>4</sub>	Tiroxina
TA	Tubarão azul
TM	Tubarão mako
WHO	Organização Mundial de Saúde ( <i>World Health Organization</i> )
Zn	Zinco

## Revisão Bibliográfica

### 1. Introdução

Atualmente, existe uma forte consciência da importância do peixe na alimentação humana. Em termos de consumo de peixe, a Organização Mundial de Saúde recomenda um consumo de pescado entre uma a duas porções de 150 g por semana, o que resultaria num consumo anual *per capita* entre os 7,8 kg e os 15,6 kg de peixe. Mas a média anual de consumo mundial situa-se nos 20,2 kg (FAO 2020) e, em Portugal, este valor chega aos 60,9 kg (EUMOFA 2020), o que faz do nosso país um dos maiores consumidores de pescado do Mundo (OECD/FAO 2021). De facto, Portugal é o terceiro país do mundo com um consumo mais elevado. O consumo de pescado tem sido amplamente referido como benéfico para o ser humano, pois o pescado possui proteínas de elevado valor biológico, sendo uma importante fonte de aminoácidos essenciais, como a lisina - aminoácido limitante em cereais (como exemplo, do arroz, do milho e da farinha de trigo) e a isoleucina (Gill and Gill 2015), estimando-se que cerca de 14 % da proteína animal ingerida a nível mundial seja proveniente do pescado. Segundo a roda dos alimentos, é recomendada a ingestão de 1,5 a 4,5 porções diárias de proteína, sendo preferível o pescado e carnes magras. A *American Heart Association* recomenda a ingestão de peixe gordo (ex. cavala, sardinha), 2 a 3 vezes por semana, devido ao seu efeito protetor em relação às doenças cardiovasculares. O pescado é comercializado sob diferentes formas, principalmente inteiros, eviscerados, na forma de filetes ou postas, sendo as ovas e o fígado igualmente consumidos. Apesar do valor nutricional do peixe, o risco de exposição do consumidor a substâncias poluentes que se podem acumular na parte edível do pescado tem sido discutido (Kolakowska et al. 2003).

Ao longo dos anos o Homem tem conseguido adaptar-se às mudanças ambientais e socioeconómicas ocorridas em diversos pontos do planeta. Contudo, as atividades humanas têm causado um forte impacto sobre o ambiente marinho. Com o surgimento de uma sociedade pós-moderna, agrupada em grandes cidades e com uma insaciável sede de consumo, as atividades antropogénicas (efluentes industriais e urbanos, agricultura, mineração, processos metalúrgicos, etc), têm introduzido matéria e energia de diversas formas nos ecossistemas, sendo os peixes um dos alvos críticos a serem atingidos na cadeia trófica (Olsson et al. 1998; Bosch et al. 2016). Assim, o acentuado crescimento populacional e o grande desenvolvimento tecnológico têm levado, indubitavelmente, ao aumento da poluição.

Os metais pesados, como o crómio (Cr), níquel (Ni), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), chumbo (Pb) e arsénio (As) são considerados elementos tóxicos que podem ser assimilados, armazenados e concentrados pelos organismos vivos através da cadeia alimentar. As

propriedades tóxicas destes metais estão relacionadas com a formação de radicais livres e influência nas cadeias de DNA com possíveis efeitos mutagénicos, genotóxicos e carcinogénicos (Halliwell and Gutteridge 2015). Contudo, os peixes e outros seres marinhos são dependentes das condições dos seus habitats, ingerindo tanto substâncias essenciais como tóxicas. A absorção de metais pesados nos peixes difere da absorção em animais terrestres visto que os peixes possuem guelras que estão constantemente em contacto com a água. Devido à água possuir uma concentração menor de oxigénio que o ar, aproximadamente 20 litros de água têm de passar pelo sistema respiratório dos peixes de modo a extrair a mesma quantidade de oxigénio que um animal terrestre extrai num litro de ar. Este aspeto fisiológico resulta numa grande concentração de metais pesados dissolvidos que passam nas guelras, levando a uma maior absorção dos mesmos. Espécies que se encontram no topo da cadeia trófica em ecossistemas marinhos têm uma maior tendência para acumular quantidades consideráveis de metais pesados. Com isto, é necessário um consumo de alimento a uma taxa elevada levando a uma acumulação acrescentada de substâncias poluentes nos seus tecidos (Olsson et al. 1998; Castro-González and Méndez-Armenta 2008).

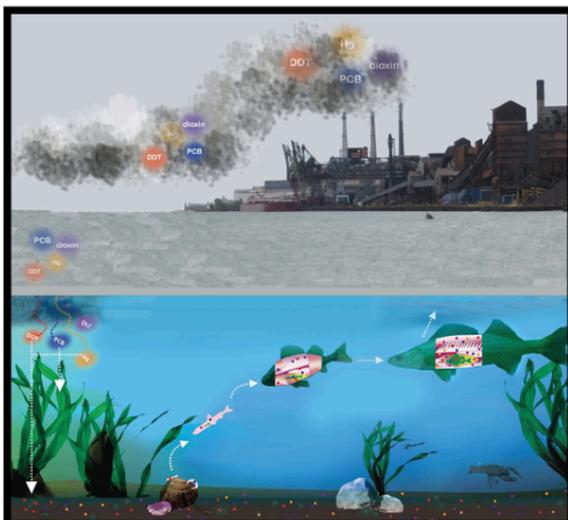
Das diferentes classes de pescado consideradas nos relatórios anuais do RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*), entre 2006 e 2009, verifica-se que o grupo dos peixes é o mais importante nas notificações referentes a metais pesados. O nível de bioacumulação nos tecidos dos peixes é influenciado por diversos fatores bióticos e abióticos, pelo que a comparação dos níveis de contaminação química do pescado reveste-se de uma enorme complexidade. A toxicidade para o Homem depende de vários fatores, tais como o estado fisiológico do indivíduo, as espécies químicas envolvidas e o metabolismo em que estas possam interferir, bem como da correlação entre a toxicidade e a atividade dos metais livres. Assim, um dos fatores essenciais a ser considerado no consumo de pescado será a possibilidade de existir alguma contaminação com metais pesados (Buckle 2015).

Tendo em conta que espécies como o espadarte (*Xiphias gladius*), o tubarão azul (*Prionace glauca*), tubarão-mako (*Isurus oxyrinchus*), atum-albacora (*Thunnus albacares*), atum-obeso (*Thunnus obesus*) e o atum-listado (*Katsuwonus pelamis*) realizam atividades metabólicas intensas que requerem um consumo energético contínuo devido a serem os maiores predadores do ecossistema e que habitam zonas que as podem predispor à exposição a fatores poluentes, este trabalho teve por objetivo caracterizar o teor de determinados elementos essenciais (como o potássio, sódio, cálcio, magnésio, fósforo, cobre, ferro, manganês e zinco) e tóxicos (como o Cd e Ar) no fígado destas espécies para avaliar os potenciais perigos que possam advir do seu consumo, visto este órgão poder ser consumido pela população Portuguesa sob variadas formas .

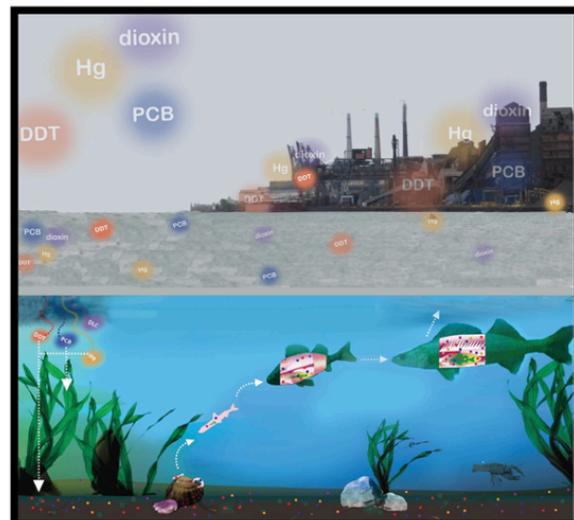
## 1.1. Fenómeno de bioacumulação e biomagnificação

A bioacumulação e biomagnificação são dois termos vulgarmente usados para a toxicidade de metais. A toxicidade é definida como a quantidade ou grau de uma substância necessária para ser venenosa. A toxicidade depende da quantidade e concentração usada, frequência de uso, interações da pessoa que recebe a substância e reação individual da pessoa. Esta pode ser reversível ou irreversível (Buckle 2015).

A bioacumulação refere-se à forma como os poluentes (ex: metais) entram na cadeia alimentar e relaciona-se com a acumulação de contaminantes, em tecidos biológicos por organismos aquáticos, ao longo do tempo. Estes contaminantes podem ser provenientes de fontes como água, alimentos e partículas de sedimentos em suspensão. A figura 1 mostra que a acumulação em seres vivos pode ocorrer sempre que os metais são absorvidos e armazenados no organismo de forma mais rápida do que do que são metabolizados ou excretados pelo mesmo (Blowes et al. 2014).



Em 1970, uma fábrica libertava uma grande quantidade de químicos persistentes através das suas chaminés de fumo.



Em 2011, a fábrica tem dispositivos de controlo de poluição nas suas chaminés de fumo, mas os produtos químicos libertados nos anos anteriores ainda permanecem.

Figura 1 - Fenómeno de bioacumulação (Fonte: <https://michigan.gov> 2023).

Entre os termos que são importantes em conjunto com a bioacumulação estão a absorção, a biodisponibilidade e a bioconcentração. A absorção descreve a entrada de um produto químico num organismo, por meio da respiração, deglutição ou absorção através da pele, sem levar em consideração o armazenamento, metabolismo e excreção subsequentes. A biodisponibilidade refere-se à disponibilidade de um composto para atravessar a membrana celular de um organismo a partir do meio em que o organismo habita num determinado momento. Por fim, a bioconcentração é o processo específico de bioacumulação pelo qual a concentração de um produto químico num organismo se torna maior do que sua concentração

no ar ou na água ao redor do organismo. Embora o processo seja o mesmo para produtos químicos naturais e antropogênicos, o termo bioconcentração geralmente refere-se a produtos químicos estranhos ao organismo. Para peixes e outros animais aquáticos, a bioconcentração após a absorção pelas brânquias ou, em algumas circunstâncias pela pele, é geralmente o processo de bioacumulação mais importante (Blowes et al. 2014).

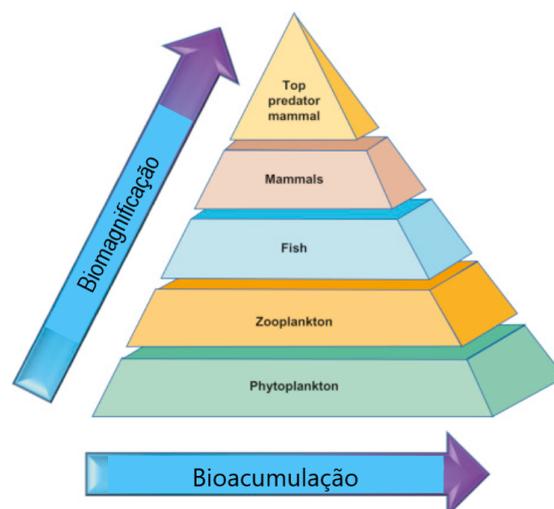
A bioacumulação de contaminantes específicos inclui a presença, indução e inibição de dois conjuntos específicos de sistemas enzimáticos. O primeiro sistema é o das metalotioneínas que são metaloproteínas, ou seja, proteínas que contêm enxofre de baixo peso molecular que se ligam a certos metais. Essas proteínas são produzidas nos rins, fígado, brânquias e órgãos digestivos da maioria dos organismos aquáticos. As metalotioneínas estão envolvidas principalmente na regulação do metabolismo de metais essenciais. No entanto, para muitos organismos, as metalotioneínas também fornecem uma medida de proteção contra os efeitos tóxicos dos metais em geral. A síntese de metalotioneínas é induzida por uma exposição dos organismos a concentrações agudas ou crônicas de baixo nível de certos íons metálicos, e pode produzir uma tolerância aos efeitos tóxicos desses metais através da indução de metalotioneínas. A consequência da indução de metalotioneínas à bioacumulação é uma maior capacidade dos organismos de acumular certos metais antes do aparecimento de efeitos tóxicos. O segundo sistema está relacionado com as Oxidases de Função Mista (OFMs) que são enzimas intracelulares dependentes do citocromo. Atuam principalmente no metabolismo oxidativo de compostos endógenos lipídicos e na primeira fase de desintoxicação de compostos orgânicos estranhos. Vários tipos de OFMs podem ser encontrados nos órgãos metabolicamente ativos de todos os vertebrados, incluindo peixes, e da maioria dos invertebrados, incluindo corais. Em invertebrados aquáticos, os sistemas OFMs mais desenvolvidos são aqueles que catalisam a biotransformação de substâncias químicas solúveis em lípidos em compostos mais solúveis em água. O aumento da solubilidade em água de tais compostos permite que sejam mais facilmente eliminados. A exposição recorrente do organismo induzido ao mesmo produto químico ou a um produto químico orgânico pode desenvolver uma capacidade aumentada para eliminar o produto químico e, conseqüentemente, um nível reduzido de bioacumulação (DeIValis et al. 2007).

Outro conceito importante a abordar, relacionado com a bioacumulação, é a biomagnificação. A biomagnificação refere-se à condição em que a concentração de compostos químicos num organismo excede a concentração de seu alimento quando a principal via de exposição ocorre a partir da dieta do organismo. O termo biomagnificação da teia alimentar é usado para descrever o enriquecimento trófico de contaminantes nas cadeias alimentares e refere-se ao aumento progressivo das concentrações dos contaminantes com o aumento do nível trófico do animal. Para contaminantes orgânicos hidrofóbicos, os termos biomagnificação e bioacumulação da cadeia alimentar são definidos de forma mais restrita

para refletir a condição termodinâmica onde o potencial químico num animal excede a sua dieta e ambiente e aumenta através de sucessivos níveis tróficos (Drouillard 2008).

Desta forma, o efeito de biomagnificação faz com que a velocidade e a concentração do produto químico aumentem com o aumento do nível trófico. Esse processo pode levar a um aumento significativo na concentração de um produto químico, e esse aumento pode ser muito substancial, chegando a ser de 10.000 a 100.000 vezes maior do que o nível inicial, na concentração normalizada de lípidos de uma substância bioacumulativa, à medida que esse processo ocorre em cada interação predador-presa na teia alimentar (Gobas 2008). A biomagnificação é relevante na ecotoxicologia, pois os organismos em níveis tróficos mais altos podem estar expostos a concentrações muito elevadas de um produto químico, o que pode resultar em efeitos tóxicos ou representar um alto risco para esses organismos. Isso é particularmente importante para a avaliação de riscos ambientais (Gobas 2008).

Em suma, a bioacumulação é um processo de acumulação de substâncias químicas num organismo que ocorre se a taxa de ingestão exceder a taxa de excreção. Os produtos químicos são introduzidos no organismo através da exposição ao ambiente abiótico (solo, água, ar) ou como ingestão alimentar (transferência trófica). A biomagnificação é um processo pelo qual as concentrações de contaminantes aumentam no tecido de espécies superiores da cadeia alimentar. À medida que os organismos menores contaminados são consumidos, os produtos químicos são acumulados e ampliados nos tecidos e órgãos dos animais maiores. Animais no topo da cadeia alimentar, incluindo humanos, correm o risco de acumular concentrações significativas de produtos químicos, como os contaminantes, através da cadeia alimentar biomagnificada. A figura 2 mostra um exemplo de uma cadeia alimentar marinha simplificada, em que os maiores predadores no topo da cadeia, os humanos, seriam os mais afetados por estes processos (Popek 2018).



**Figura 2 – Pirâmide simplificada da cadeia alimentar que ilustra como os poluentes se bioacumulam e se biomagnificam por meio da transferência trófica (adaptado de Popek 2018).**

## 1.2. Metabolismo hepático em peixes

Os peixes são habitualmente considerados como bons biomarcadores para avaliação dos efeitos da poluição ambiental, por estarem localizados no topo da cadeia trófica aquática e por acumularem substâncias tóxicas. A baixa qualidade da água pode ter consequências nefastas para as populações piscívoras e para a população humana que utiliza esse recurso como fonte de sustento. O fígado tem um papel fundamental no metabolismo dos xenobióticos e é o órgão de destoxificação por excelência sofrendo, por isso, alterações estruturais e funcionais quando em contacto com os xenobióticos que nele se acumulam (Boyer et al. 2011). O fígado é uma glândula muito grande, encapsulada, perfundida sinusoidalmente, relativamente homogênea a olho nu. O fígado de peixe apresenta os mesmos componentes circulatórios gerais que o fígado de mamífero, isto é, o sangue é suprido pelas arteríolas hepáticas e veias porta e é drenado pelas veias hepáticas. O aparelho biliar dos peixes também é comparável ao dos mamíferos. Entre os vários peixes, no entanto, há uma ampla divergência arquitetónica, como seria de esperar para um grupo de animais. A maioria das espécies de peixes tem um fígado unilobado, cuja vasculatura é geralmente dividida em 2 grandes regiões circulatórias. Algumas espécies possuem múltiplos lobos hepáticos, nos quais ilhas de tecido hepático estão espalhadas pelo mesentério abdominal. Embora existam diferenças na estrutura sinusoidal, os aspetos mais variáveis do fígado dos peixes envolvem o sistema biliar, no qual existem diferenças consideráveis, entre espécies, no comprimento e posição dos ductos. Semelhante aos mamíferos, a maioria dos peixes tem vesícula biliar (Hinton et al. 2001; Wolf and Wolfe 2005).

Nos fígados de algumas espécies de peixes encontram-se pequenos ninhos de macrófagos, contendo pigmentos, que são chamados de agregados de macrófagos. Os agregados de macrófagos servem como repositórios para produtos de membrana celular e degradação de eritrócitos e parecem ter uma função de apresentação de antígeno análoga aos centros germinativos de tecidos linfóides de mamíferos. Outras funções supostas de agregados de macrófagos incluem armazenamento e reciclagem de ferro, assim como o sequestro e desintoxicação de substâncias endógenas e exógenas. A proliferação dos agregados de macrófagos está associada ao catabolismo tecidual, os desequilíbrios nutricionais, a doenças infecciosas e infestações parasitárias, a anemias hemolíticas induzidas por substâncias tóxicas, o stresse térmico e à contaminação de sedimentos. Os pigmentos que estão presentes em agregados de macrófagos podem incluir lipofuscina, ceróide, hemossiderina e melanina (Wolf and Wolfe 2005).

Os fígados dos peixes, fisiologicamente, são responsáveis pelas seguintes funções metabólicas básicas:

- Processamento e armazenamento de nutrientes;

- Síntese de enzimas e outros cofatores;
- Formação e excreção de bile;
- Metabolismo de compostos xenobióticos.

Os peixes têm mecanismos para lidar com os compostos xenobióticos, através de reações de biotransformação catalizadas pelas enzimas microsossomais e citosólicas. A enzima microsossomal mais estudada no fígado de peixes é o citocromo P-450, que pode ser encontrado em hepatócitos, células epiteliais biliares e células endoteliais. O sistema do citocromo P-450 abrange uma família de enzimas que compreende muitas isoformas, que expressam várias subfamílias de genes. Nos peixes, a classe de isoenzimas responsável pela biotransformação de uma grande variedade de xenobióticos é a classe CYP1A. Sabe-se que a atividade desta enzima varia de acordo com o tipo de indutor, a via de exposição e a espécie de peixe. O objetivo da biotransformação é produzir metabolitos mais hidrofílicos e, portanto, mais facilmente excretados do que o composto original. Os peixes têm uma capacidade relativamente menor do que os mamíferos de metabolizar substâncias xenobióticas, e especula-se que isso pode ser devido ao fato dos peixes poderem eliminar essas substâncias inalteradas por meio das suas brânquias. Os peixes, assim como os mamíferos, possuem um mecanismo de ciclagem entero-hepática para o processamento de substâncias que não foram metabolizadas durante a sua primeira passagem pelo fígado. Da mesma forma, a ciclagem entero-hepática pode prolongar a remoção de certos compostos (DeBethizy et al. 2001). Tendo em conta as considerações anatômicas e fisiológicas do fígado dos peixes, do ponto de vista morfológico, observa-se que a resposta do fígado dos peixes à exposição a substâncias tóxicas tende a ser menos severa do que nos mamíferos. Por outras palavras, são necessárias maiores concentrações de substâncias tóxicas para causar alterações hepáticas comparáveis em peixes. A relativa tolerância dos peixes às hepatotoxinas pode ser atribuída a alguns dos seguintes fatores: menor taxa de perfusão do fígado dos peixes, limitação da exposição tóxica à membrana basal do hepatócito, distribuição homogênea das enzimas envolvidas na biotransformação e o facto de algumas enzimas não serem facilmente induzidas. Outra propensão importante do fígado de peixe é que a distribuição das lesões após a exposição tóxica tende a ser aleatória, provavelmente devido à distribuição homogênea de enzimas envolvidas na biotransformação no fígado dos peixes e ao facto de que a arquitetura zonal não é aparente (Hinton et al. 2001; Wolf and Wolfe 2005).

## **2. Minerais**

Os minerais são micronutrientes que têm inúmeros benefícios para a saúde, servindo como cofatores e coenzimas em vários sistemas enzimáticos. Estes micronutrientes são

requeridos essencialmente pelo homem e outros organismos em quantidades variáveis ao longo da vida para coordenar as funções fisiológicas na manutenção da saúde. Em geral, classificam-se em duas categorias: essenciais e não essenciais. Os minerais essenciais desempenham um papel fundamental nas funções vitais do organismo, ainda que em pequenas concentrações. Os minerais não essenciais, ainda que em concentrações muito baixas, podem ser considerados tóxicos para o organismo (Celik et al. 2004). Os minerais existem naturalmente no meio aquático e a maior parte do pescado pode bioacumular os minerais a partir do meio ambiente. Os peixes, ao contrário dos animais terrestres, conseguem absorver alguns minerais (elementos inorgânicos) não apenas pela dieta, mas também através do meio aquático externo. A água possui uma concentração menor de oxigénio que o ar, aproximadamente 20 litros de água têm de passar pelo sistema respiratório dos peixes de modo a extrair a mesma quantidade de oxigénio que um animal terrestre extrai em 1 litro de ar. Este aspeto fisiológico resulta numa grande concentração de macro e microelementos dissolvidos que passam nas guelras, levando a uma maior absorção dos mesmos (Olsson et al. 1998; Bosch et al. 2016). Na maior parte do pescado, o teor total de minerais encontra-se entre os 0,8 e os 2,0% do seu peso total (Nunes et al. 2008). No entanto, estes valores podem variar consoante os fatores intrínsecos como por exemplo, espécie, idade, sexo; ou extrínsecos como a área geográfica, sazonalidade, temperatura e disponibilidade do elemento (Castro-González and Méndez-Armenta 2008; Belitz 2009).

## **2.1. Macroelementos essenciais**

### **2.1.1. Potássio (K), Sódio (Na) e Cloro (Cl)**

O sódio, o potássio e o cloro desempenham papéis cruciais na fisiologia dos peixes. Estes iões estão envolvidos em vários processos biológicos, incluindo osmorregulação, função nervosa e contração muscular (Edwards and Marshall 2012; Whittamore 2012).

Os peixes mantêm um equilíbrio salino interno por meio da osmorregulação, que envolve o controlo das concentrações desses iões no organismo. Os iões sódio ( $\text{Na}^+$ ) são ativamente transportados para fora das guelras dos peixes, enquanto os iões potássio ( $\text{K}^+$ ) são ativamente transportados para dentro. Isso cria um gradiente de concentração que permite a absorção de iões cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) da água pelas guelras (Breves et al. 2022; Little et al. 2023).

O movimento dos catiões de sódio e potássio através das membranas celulares são essenciais para gerar impulsos elétricos nos nervos e músculos dos peixes. Este transporte ativo, designado por bomba sódio-potássio ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ) transporta ativamente iões de sódio para fora das células e iões de potássio para dentro das células, estabelecendo uma excitabilidade na membrana em repouso (Breves et al. 2022) Este fenómeno pode ser rapidamente alterado,

levando a impulsos nervosos e contrações musculares. Por outro lado, o íon cloreto serve de contra-íon ao sódio e aos íons de hidrogénio, mantendo a neutralidade elétrica dentro das células dos peixes (Edwards and Marshall 2012; Whittamore 2012).

O cloro é indispensável na manutenção do balanço eletrolítico, equilibrando as cargas positivas dos cátions sódio e potássio, garantindo que os sinais elétricos do sistema nervoso dos peixes funcionem adequadamente (Whittamore 2012).

Em resumo, a correlação de sódio, potássio e cloro na fisiologia dos peixes é crítica para a osmorregulação, função nervosa e contração muscular. Esses íons trabalham juntos para manter o equilíbrio salino, gerar impulsos elétricos e garantir o funcionamento celular apropriado nos peixes (Whittamore 2012; Little et al. 2023).

### **2.1.2. Enxofre (S)**

O enxofre (S) é outro mineral essencial que desempenha vários papéis importantes na fisiologia dos peixes, entre os quais:

- Estrutura da proteína e síntese de aminoácidos: é um componente de determinados aminoácidos, como a cisteína e a metionina, que são pilares cruciais das proteínas. Estes aminoácidos contêm enxofre na forma de grupos tiol (-SH) e contribuem para a estrutura tridimensional, estabilidade e função das proteínas.
- Defesa antioxidante: o enxofre é parte integrante de várias moléculas antioxidantes, incluindo a glutatona, que é sintetizada nas células dos peixes. A glutatona desempenha um papel vital na proteção das células contra danos oxidativos, neutralizando os radicais livres nocivos e outras espécies reativas de oxigénio. Os sistemas antioxidantes que dependem de moléculas contendo enxofre ajudam a manter o equilíbrio entre as reações de oxidação e redução nas células dos peixes, protegendo assim a integridade e função celular (Lall and Kaushik 2021).
- Processos de desintoxicação: está envolvido em vários processos de desintoxicação em peixes. Contribui para a síntese de enzimas envolvidas na desintoxicação de substâncias nocivas, como xenobióticos e metais pesados. Essas enzimas, como o citocromo P450 e as glutatona-S-transferases, ajudam a metabolizar e eliminar compostos tóxicos do organismo do peixe, reduzindo potenciais efeitos adversos (Dong et al. 2013).
- Metabolismo energético: é essencial para o bom funcionamento das enzimas envolvidas no metabolismo energético, como o ciclo de Krebs. Enzimas como a sulfito oxidase e sulfeto quinona redutase contêm enxofre e participam de importantes reações bioquímicas relacionadas com a produção de energia e utilização de nutrientes em peixes (Lushchak, 2011).

Embora o enxofre seja um mineral essencial para os peixes, estes só o obtêm através da dieta, pois não possuem a capacidade de sintetizar compostos que contenham enxofre (Wood 2011).

### **2.1.3. Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg)**

A maioria do cálcio encontra-se no esqueleto, ósseo ou cartilaginoso, normalmente designado por “espinhas”, e nas escamas desempenhando um papel crítico na manutenção da estrutura e integridade do esqueleto. O cálcio fornece rigidez e força ao sistema esquelético, garantindo suporte e proteção adequados para órgãos e tecidos. (Bjornsson and Haux 1985; Ziólkowska et al. 2021).

Os iões cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) estão envolvidos na osmorregulação, o processo pelo qual os peixes mantêm o equilíbrio de água e sais dentro do organismo. Os iões cálcio, juntamente com outros iões, como sódio e cloreto, contribuem para a regulação das concentrações de iões e o controlo do movimento da água através das brânquias dos peixes e outros tecidos osmorreguladores (Baldisserotto et al. 2007; Whittamore 2012). O cálcio também tem um papel importante na contração muscular dos peixes. Quando um músculo é estimulado, os iões cálcio são libertados, permitindo que as fibras musculares se contraíam, tornando-se crucial para o movimento dos peixes, incluindo a sua atividade e alimentação.

Tal como o cálcio, uma grande percentagem de magnésio encontra-se no esqueleto, no entanto, é um cofator de inúmeras reações enzimáticas nos peixes. O magnésio participa na ativação de enzimas envolvidas no metabolismo energético, replicação do DNA, síntese de proteínas e vários outros processos bioquímicos (Edwards and Marshall 2012). Desempenha ainda um papel na função e transmissão nervosa. Ajuda a regular o fluxo de iões cálcio para dentro e para fora das células nervosas, contribuindo para a sinalização nervosa adequada e mantendo o funcionamento normal do sistema nervoso dos peixes, estando ainda envolvido no transporte de outros iões através das membranas das células dos peixes.

Tanto o cálcio como o magnésio são obtidos pelos peixes através da sua dieta ou da água circundante. Estes elementos são essenciais para manter os processos fisiológicos, incluindo desenvolvimento esquelético, função muscular, osmorregulação, atividade enzimática e transmissão nervosa. Níveis adequados de cálcio e magnésio, que rondam os 100-300 mg/kg e 400-600 mg/kg, respetivamente, no habitat dos peixes são cruciais para apoiar o seu crescimento, reprodução e bem-estar geral (Hebert 2004; Edwards and Marshall 2012; Lall and Kaushik 2021).

## **2.2. Microelementos essenciais**

### **2.2.1. Zinco (Zn)**

O zinco é um componente de numerosas enzimas, como as metaloenzimas, atuando como um cofator ou ativador. Essas enzimas estão envolvidas em vários processos metabólicos, incluindo digestão, metabolismo energético, síntese de DNA, síntese de proteínas e defesa antioxidante.

No que diz respeito ao crescimento e desenvolvimento, o zinco está envolvido na divisão celular, reparação de tecidos e síntese de proteínas e DNA, processos essenciais para o crescimento e desenvolvimento. Níveis adequados de zinco são necessários para taxas de crescimento ideais, desenvolvimento esquelético e condição corporal geral em peixes (Chandrapalan and Kwong 2021).

Quando falamos em sistema imunológico, este microelemento desempenha um papel vital, estando envolvido na produção e atividade de células imunes, como glóbulos brancos, e na regulação das respostas imunes. O zinco ajuda a manter a integridade do sistema imunológico do peixe, aumentando sua capacidade de combater agentes patogênicos, infecções e doenças (Ziółkowska et al. 2021).

Na reprodução, atua a nível da maturação de espermatozoides e óvulos, bem como desenvolvimento dos órgãos reprodutivos. Níveis adequados de zinco são cruciais para o sucesso da reprodução, fertilidade e desempenho reprodutivo em peixes.

O zinco é ainda um componente de várias enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase. Estas enzimas ajudam a proteger as células dos peixes dos danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio. O zinco contribui para o sistema de defesa antioxidante, reduzindo o stress oxidativo e mantendo a integridade celular nos peixes (Chandrapalan and Kwong 2021).

Garantir uma ingestão adequada de zinco por meio de uma dieta bem balanceada é essencial para o crescimento, desenvolvimento, função imunológica e saúde geral dos peixes.

Os requisitos de zinco podem variar entre as espécies de peixes (5-70 mg/kg) e, deficiências ou desequilíbrios, podem levar a um atraso no crescimento, a uma função imunológica enfraquecida, a uma maior suscetibilidade a doenças e prejudicar a reprodução (Lall and Kaushik 2021).

### **2.2.2. Cobre (Cu)**

O cobre atua como cofator para várias enzimas envolvidas em processos fisiológicos críticos. Essas enzimas incluem a citocromo c oxidase, que está envolvida na respiração celular e na produção de energia, e a superóxido dismutase, que ajuda a proteger as células do stress oxidativo. O cobre é necessário para o bom funcionamento dessas enzimas,

facilitando diversas reações bioquímicas nos peixes (Chandrapalan and Kwong 2021; Lall and Kaushik 2021).

O cobre está ainda envolvido no metabolismo e utilização do ferro nos peixes. Desempenha um papel importante na síntese da hemoglobina, a proteína responsável pelo transporte de oxigênio no sangue, auxilia na incorporação do ferro na hemoglobina e sua subsequente utilização pelos tecidos dos peixes.

Na formação de tecido conjuntivo, desempenha um papel na reticulação do colagénio, uma proteína que fornece suporte estrutural a tecidos como pele, ossos e vasos sanguíneos. Quando falamos no sistema reprodutor, este atua a nível da síntese e ativação de hormonas envolvidas nos processos reprodutivos, incluindo produção de gâmetas e fertilização (Chandrapalan and Kwong 2021).

É importante observar que, embora o cobre seja essencial para os peixes, este mineral também pode ter efeitos negativos sobre os mesmos, visto que níveis excessivos podem ser tóxicos a partir de um certo limite.

Manter níveis adequados de cobre, estimados entre 0,1 e 20 mg/kg, no habitat dos peixes e fornecer uma dieta bem balanceada que atenda às suas necessidades deste mineral, é crucial para o seu crescimento, desenvolvimento, função imunológica e bem-estar geral (Wood 2011; Griffith 2017).

A exposição a níveis mais elevados de Cu na água afeta várias funções fisiológicas e bioquímicas, afetando o desempenho de todo o organismo, diminuindo a taxa metabólica e causando stress oxidativo. A Comissão Europeia estabeleceu o limite máximo de 25 mg/kg em rações (Lall and Kaushik 2021).

### **2.2.3. Ferro (Fe)**

O teor de ferro nos peixes é muito baixo quando comparado com o dos mamíferos, encontrando-se entre os 30 a 170 mg/kg. Este mineral é um componente crucial na síntese e bom funcionamento de hemoglobina, sendo o responsável pelo transporte de oxigênio das brânquias para os tecidos dos peixes. A hemoglobina liga-se ao oxigênio nas brânquias e liberta-o para os tecidos, permitindo que as células dos peixes realizem a respiração aeróbica (Chandrapalan and Kwong 2021; Griffith 2017). O ferro desempenha um papel fundamental no metabolismo energético, participando na cadeia de transporte de eletrões, para produzir ATP (adenosina trifosfato) durante a respiração celular, permitindo que os peixes produzam e utilizem energia com eficiência (Chandrapalan and Kwong 2021; Lall and Kaushik 2021).

Embora o ferro seja essencial para os peixes, estes têm limites específicos de tolerância a este mineral, e ultrapassar esses limites pode levar a efeitos negativos na sua saúde por toxicidade. Estudos em truta arco-íris demonstraram que valores acima de 1380

mg/kg, provocavam danos histopatológicos nas células do fígado, diarreia e, em alguns casos, mortalidade (Lall and Kaushik 2021).

Níveis adequados de ferro no habitat dos peixes e fornecer uma dieta bem balanceada que atenda às suas necessidades é crucial para o seu crescimento, desenvolvimento, função imunológica e bem-estar (Wood 2011; Griffith 2017b).

#### **2.2.4. Manganês (Mn)**

O manganês (Mn) desempenha um papel importante no desenvolvimento ósseo e mineralização dos peixes, contribuindo para a síntese e manutenção das proteínas da matriz óssea, como o colagénio, que fornecem suporte estrutural e força ao sistema esquelético. Desta forma embora a sua quantidade presente nos animais seja extremamente baixa, concentrações mais elevadas são encontradas nos ossos, podendo também estar presentes em órgãos como o fígado, rins e pâncreas, variando os requisitos entre 2,5-25 mg/kg (Lall and Kaushik 2021).

O Mn atua ainda como cofator de várias enzimas envolvidas em processos fisiológicos essenciais. Essas enzimas incluem a manganês superóxido dismutase (MnSOD), que está envolvida na defesa antioxidante e ajuda a proteger as células dos peixes contra danos oxidativos (Chandrapalan and Kwong 2021).

Encontra-se também envolvido no metabolismo de hidratos de carbono e lípidos em peixes. Participa nas reações enzimáticas relacionadas com o catabolismo dos hidratos de carbono e gorduras para produção de energia, ajudando a regular o metabolismo energético e a garantir a utilização eficiente desses macronutrientes (Lall and Kaushik 2021).

No entanto, níveis excessivos de manganês podem ser tóxicos, por isso é importante evitar exceder os seus limites de tolerância para evitar efeitos adversos na saúde dos peixes. Na Europa o limite máximo estipulado é de 100 mg/kg (Wood 2011; Lall and Kaushik 2021).

#### **2.2.5. Selénio (Se)**

O selénio atua como cofator de várias enzimas antioxidantes, como a glutathione peroxidase, que ajudam a proteger as células dos danos oxidativos causados por alguns processos de oxidação-redução, facilitando sua atividade antioxidante e reduzindo o stress oxidativo em peixes.

O Se é um mineral essencial para a saúde dos peixes, sendo obtido através da dieta, principalmente a partir de proteínas animais, como peixes, que contêm selenometionina proveniente da alimentação das plantas. As espécies marinhas são consideradas as melhores fontes de selénio na dieta dos peixes. O mínimo de Se exigido na dieta do peixe está dependente do nível de vitamina E, e de um modo geral, varia entre 0,1 e 2 mg/kg (Leatherland

and Woo 2010; Lall and Kaushik 2021). Na dieta humana a quantidade recomendada de Se é de 55 µg/d para pessoas com 14 anos ou mais, com um limite máximo tolerável de ingestão de 400 µg/d (EFSA 2001) (Rego et al. 2020).

Este mineral desempenha papéis cruciais na fisiologia dos peixes, atuando como componente essencial de selenoproteínas, como a selenometionina e a selenocisteína. Uma função importante é a sua capacidade antioxidante. O Se é um componente integral da enzima glutatona peroxidase (GSH-Px), que, juntamente com a vitamina E e outras enzimas antioxidantes, protege as células dos peixes contra danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio, produzidas durante o metabolismo celular e em resposta ao stress ambiental (Leatherland and Woo 2010; Wood et al. 2011).

Além disso, é também necessário para a síntese e ativação das hormonas da tiroide nos peixes atuando na conversão da hormona tiroideia tiroxina (T4) na sua forma ativa, a triiodotironina (T3), sendo essencial para a atividade de outras enzimas antioxidantes, como a tioredoxina redutase, que também contribuem para a proteção das células (Lall and Kaushik, 2021).

Entre as atividades do elemento essencial selênio está a capacidade de reduzir a toxicidade de iões de metais pesados como cádmio (II) e mercúrio (II), formando complexos insolúveis com esses metais e diminuindo sua disponibilidade para os tecidos dos peixes (Wood et al. 2011)

Apesar de ser necessário para a saúde dos peixes, a ingestão excessiva de selênio pode levar à selenose, uma condição de toxicidade que pode causar danos ao fígado, rins e outros órgãos dos peixes. Portanto, é importante garantir que os peixes recebam uma quantidade adequada de selênio na sua dieta, sem excessos (Lall and Kaushik 2021; Leatherland and Woo 2010).

Em resumo, o selênio desempenha um papel vital na fisiologia dos peixes, atuando como componente de enzimas antioxidantes e protegendo contra danos celulares. Contudo, é essencial manter um equilíbrio adequado de selênio na dieta dos peixes, evitando tanto a deficiência quanto a ingestão excessiva desse mineral.

De um modo geral, a deficiência de minerais na dieta dos peixes incide sobre três categorias gerais: (1) as que afetam a mineralização dos tecidos duros; (2) as que afetam outros tecidos específicos; e (3) as que não afetam tecidos específicos (tabela 1).

**Tabela 1- Categoria dos minerais essenciais com base na função fisiológica. Fonte: Hardy, 2001.**

<u>CATEGORIA / MINERAL</u>	<u>FUNÇÃO</u>
MINERALIZAÇÃO DE OSSO/ESCAMA	
CÁLCIO	Osso, escama, pele, músculos
FÓSFORO	Osso, escama, pele, fosfolípidos
MAGNÉSIO	Osso, escama, pele, função muscular
FUNÇÃO FISIOLÓGICA ESPECIFICA	
FERRO	Hemoglobina
SELÊNIO	Glutathione peroxidase
IODO	Função da tireoide
ÓDIO E POTÁSSIO	Balço iónico
FUNÇÃO FISIOLÓGICA GERAL	
COBRE	Cofator para atividade enzimática
MANGANÊS	Cofator para atividade enzimática
ZINCO	Cofator para atividade enzimática

Estudos realizados em peixes de aquacultura revelam que constituintes funcionais além dos nutrientes essenciais (como probióticos, prébióticos e imunostimulantes) também estão a ser considerados na nutrição de peixes com o objetivo de melhorar o crescimento e/ou eficiência alimentar, estado de saúde, tolerância ao estresse e resistência a doenças (Oliveira-Teles 2012).

Os peixes regulam a concentração de vários minerais pela absorção e secreção destes, no entanto, alguns metais pesados como Pb, Cd, Cu ou Hg são dificilmente regulados e podem acumular-se nos organismos, tornando-se eventualmente tóxicos (Lall and Kaushik 2021).

Deficiências em cálcio e magnésio, são relativamente difíceis de ocorrer e pouco prováveis. No entanto, segundo Oliveira-Teles (2012), no que toca a deficiência de certos minerais nas dietas de peixes, foi descrito, por exemplo, que a deficiência em Mn e Zn causou uma depressão da atividade de leucócitos e que esta atividade poderia ser restaurada a níveis normais por meio de uma alimentação com níveis suficientes destes elementos.

Hardy (2001) também descreveu que deficiências em Zn, serão a causa mais provável de cataratas em aquacultura comercial, que a deficiência em iodo causa hiperplasia da tireoide e ainda que a deficiência em cobre e selênio é pouco provável de causar efeitos agudos.

Embora haja referências de vários estudos no que toca à deficiência de minerais ou à cerca dos benefícios da sua suplementação em aquacultura, são ainda escassos os estudos com um painel de suplementação de minerais mais alargado (Oliva-Teles 2012).

### **3. Metais pesados e a sua toxicidade para o Homem**

Os metais pesados, têm uma alta densidade e peso atômico. A maioria encontra-se na biosfera, como na água, solos e rochas, mas também são libertados a partir de recursos antropogénicos, principalmente comerciais e industriais.

Os efeitos tóxicos dos metais pesados são conhecidos há décadas. Enquanto os metais como o níquel, cobre e zinco, são vitais para os seres humanos e estão difundidos na natureza, como por exemplo, o manganês que compõe cerca de 0,1% da crosta terrestre, os metais pesados têm uma série de repercussões indesejáveis no meio ambiente. Um exemplo é a conversão de mercúrio em metilmercúrio na presença de água que cria sedimentos de elevada toxicidade. Por outro lado, o crómio é amplamente utilizado na indústria, mas apresenta propriedades cancerígenas. No entanto, alguns metais pesados são fundamentais no controlo de certas funções fisiológicas do organismo. A presença destes metais no organismo faz-se através dos alimentos, ar e água, onde regulam inúmeras atividades biológicas (Roohani et al. 2013; Engwa et al. 2019).

A maioria dos metais pesados tóxicos, como o chumbo, tálio, cádmio e antimónio, são comuns nas operações industriais e são poluidores substanciais do ambiente. O tálio tem um efeito mais severo do que outros metais pesados, mas é menos abundante na natureza. Os perigos dos metais pesados são geralmente compensados pelos seus benefícios, sendo que alguns perigos são a carcinogenicidade, promovida por exemplo pela elevada exposição a antimónio e crómio ou o envenenamento por chumbo que provoca anormalidades intelectuais nas crianças. A toxicidade do mercúrio causa a doença de Minamata, enquanto o envenenamento por cádmio causa a doença de Itai-itai. Os metais pesados também podem causar toxicidade em certos órgãos do corpo humano, tais como nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hepatotoxicidade, toxicidade cutânea, e toxicidade cardiovascular. (Hou et al. 2013; Karbowska 2016).

Como referido anteriormente, os metais pesados ocorrem naturalmente no meio ambiente e são vitais para a sobrevivência, mas podem tornar-se perigosos quando se acumulam nos organismos.

### **3.1. Cádmió (Cd)**

O cádmio (Cd) é um metal do século XX e é um subproduto da produção de zinco. O Cd é um elemento químico altamente tóxico que pode ter efeitos adversos significativos na fisiologia dos peixes e outros organismos aquáticos quando presente em concentrações elevadas nos seus habitats. Assim como o mercúrio, o cádmio pode ser libertado no ambiente através de atividades humanas, como mineração, indústrias metalúrgicas, produção de baterias, uso de fertilizantes fosfatados e corrosão do zinco galvanizado. Embora as emissões de cádmio tenham sido visivelmente reduzidas na maioria dos países industrializados, ainda é uma fonte de medo para os trabalhadores e pessoas que vivem nas áreas poluídas (Jaishankar et al. 2014; Mitra et al. 2022).

A poluição do ambiente aquático por Cd ocorre através da absorção de resíduos industriais e escoamento superficial em sedimentos e solos (Mitra et al. 2022). É altamente solúvel em água em comparação com outros metais e a sua biodisponibilidade é muito alta, tendendo a bioacumular-se.

Em peixes, particularmente, a sua absorção é feita principalmente através das brânquias, intestino e pele.

Os efeitos tóxicos severos do Cd afetam os órgãos reprodutores, as brânquias, o rim e o fígado resultando em disfunções nos processos de excreção e desintoxicação, especialmente em situações de exposição crónica. Além disso, pode interferir com o sistema endócrino, prejudicando a regulação hormonal dos peixes, os quais podem também apresentar anemia, anorexia e dificuldade respiratória, reduzindo, drasticamente, a possibilidade de sobrevivência (Viana and Viana 2008).

### **3.2. Mercúrio (Hg)**

O mercúrio metálico, de ocorrência natural que é um líquido prateado brilhante, inodoro e torna-se um gás incolor e inodoro quando aquecido. O mercúrio é muito tóxico e extremamente bioacumulável. Afeta de forma muito negativa o ambiente marinho, visto ser altamente tóxico e extremamente bioacumulável. As principais fontes de poluição por mercúrio incluem atividades antrópicas, como agricultura (desinfetantes e fungicidas), fábricas de produtos elétricos (lâmpadas, baterias, entre outros), odontologia, extração de minérios e tintas. No entanto, a origem de mercúrio no ambiente é, no subsolo proveniente de fontes naturais (vulcões e incêndios) (Chen et al. 2012).

Nenhum outro metal ilustra melhor a diversidade de efeitos causada pelas diferentes espécies químicas do que o mercúrio. Em termos de especiação química, o mercúrio existe principalmente em três formas: composto elementar, formas inorgânicas e formas orgânicas, cada uma possuindo toxicidade e biodisponibilidade diferentes. Estas formas de mercúrio

estão amplamente presentes em recursos hídricos, como lagos, rios e oceanos, onde são absorvidas pelos microrganismos e transformam-se em metilmercúrio dentro do microrganismo, eventualmente sofrendo biomagnificação (Wood et al. 2011). Este processo pode causar distúrbios significativos à vida aquática. Esta forma é a mais preocupante para a saúde dos peixes e de outros organismos aquáticos, pois é altamente solúvel em gorduras e facilmente absorvida pelas células (Jaishankar et al. 2014; Al-Sulaiti et al. 2022). A ingestão é a principal via de exposição humana ao Hg (Jaishankar et al. 2014; Gworek et al. 2020).

Nos ambientes marinhos, o mercúrio encontra-se em níveis mais elevados. O mercúrio orgânico pode facilmente atravessar as biomembranas e, por serem de natureza lipofílica, o mercúrio está presente em maiores concentrações na maioria das espécies de peixes gordurosos e no fígado de peixes magros (Jaishankar et al. 2014).

Os peixes têm capacidade de absorver mercúrio, principalmente através das brânquias durante a respiração e também por meio da ingestão de alimentos contaminados. Uma vez absorvido, o mercúrio tende a acumular-se nos tecidos dos peixes, principalmente nos músculos e fígado, variando a sua capacidade de acumulação de mercúrio entre as diferentes espécies.

O Hg tem uma afinidade especial por tecidos ricos em lípidos, como o sistema nervoso central, o cérebro e o fígado. Quando presente em altas concentrações, pode causar danos nos neurónios e nas células hepáticas dos peixes. Os efeitos incluem alterações neurocomportamentais, distúrbios na locomoção, problemas de reprodução e imunossupressão (Wood et al. 2011; Lall and Kaushik 2021).

Vários estudos sugerem que a rutura da molécula de Hg origina a formação de radicais livres, os quais afetam as membranas lipídicas das células neuronais, provocando lesões (Leatherland and Woo 2010; Griffith 2017; Paschoalini and Bazzoli 2021).

Os peixes possuem mecanismos de regulação para tentar lidar com a presença de mercúrio, tentando manter um equilíbrio interno (homeostase) e eliminar o mercúrio através da excreção. No entanto, em ambientes fortemente contaminados, esses mecanismos podem não ser suficientes para evitar danos significativos.

### **3.3. Arsénio (As)**

As contaminações por arsénio ocorrem como resultado tanto de processos geológicos naturais quanto das atividades do homem. As fontes antropogénicas de arsénio incluem atividades humanas, como mineração e processamento de minérios. O processo de fundição, tanto o antigo quanto o recente, pode libertar arsénio no ar e no solo. Esses tipos de fontes podem afetar a qualidade das águas superficiais através da ejeção e escoamento das águas subterrâneas. Outra forma de contaminação das águas subterrâneas é através de fontes

geológicas, como minerais de arsênio. O terceiro tipo de fontes são rochas de leitos sedimentares e meta-sedimentares (Jaishankar et al. 2014).

O As está presente em muitos alimentos, solos, água e nos tecidos de animais e seres humanos. Nos animais, ele está distribuído por todo o corpo, mas é especialmente concentrado no cabelo, unhas e pele.

Os compostos de As são convertidos pelos organismos marinhos em arsenobetaina que é uma forma praticamente inofensiva para o ser humano pois é metilada no organismo e rapidamente excretada pela urina.

Efeitos adversos na fisiologia dos peixes podem aparecer quando presente em concentrações elevadas nos seus habitats. Os peixes podem absorver o arsênio principalmente através das brânquias, intestino e pele. Uma vez absorvido, o arsênio pode-se acumular nos tecidos dos peixes, como músculos e fígado, especialmente em situações de exposição crônica, afetando a sua função e capacidade de desintoxicação e atividade locomotora.

Assim como, no caso do Hg e do Cd, a extensão dos efeitos do As na fisiologia dos peixes pode variar dependendo da espécie, do estágio de desenvolvimento, das condições ambientais e da duração da exposição. O impacto do arsênio pode ser ainda mais agravado em ecossistemas contaminados por outros poluentes, o que pode levar a efeitos sinérgicos ou aditivos.

Se o nível de As nas águas subterrâneas for 10 a 100 vezes o valor dado na diretriz da OMS para a água potável (10 µg/L), pode ser uma ameaça à saúde humana (Hoque et al. 2011). A água pode ser contaminada por produtos químicos que contêm arsênio, descartados incorretamente, pesticidas contendo também arsênio ou por depósitos minerais naturais.

### **3.4. Crômio (Cr)**

O crômio (Cr) é um metal de transição que está presente em rochas, solo, animais e plantas. Pode encontrar-se em estado sólido, líquido e gasoso e os seus compostos são muito persistentes em sedimentos na água. No meio ambiente, existe em dois estados de oxidação estáveis: crômio (III) e crômio (VI). O crômio (III) é uma forma menos perigosa de crômio (VI). Eles podem interconverter-se durante as operações industriais. No entanto, a conversão de crômio (VI) em crômio (III) é menos prejudicial ao meio ambiente, pois este último apresenta menor toxicidade (Chakraborty et al. 2013).

A prevalência ambiental do crômio (VI) deve-se exclusivamente à industrialização, as fontes ocupacionais de crômio incluem revestimentos metálicos de proteção, ligas metálicas, fitas magnéticas, pigmentos de tinta, borracha, cimento, papel, conservantes de madeira, curtimento de couro e revestimento de metal. Essas indústrias aumentam a contaminação

aquática por Cr pelo descarte desenfreado de resíduos infestados com Cr. águas residuais. Em áreas não industrializadas, a concentração aquática de Cr é relatada como relativamente baixa. De acordo de alguns estudos as concentrações de Cr na superfície da água variaram entre 1 e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Sarkar et al. 2016; Bakshi and Panigrahi 2018). Alguns estudos têm examinado a possibilidade de biomagnificação do crômio hexavalente (Cr [VI]) ao longo das cadeias alimentares. As conclusões variam entre os estudos, refletindo diferentes cenários e contextos ambientais. Um estudo realizado por Ikemoto et al. (2008) no Delta do Mekong, Vietnam do Sul, usando análise de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, sugeriu que não há evidência de biomagnificação ou biodiluição do Cr (VI) ao longo da cadeia alimentar naquela região.

Da mesma forma, Pourahmad et al. (2005) não encontraram evidências de biomagnificação do Cr (VI) em ambientes marinhos. Quarcoo et al. (2015) também relataram que o Cr (VI) não se acumula nos níveis tróficos superiores na cadeia alimentar marinha. Custer et al. (2003) não observaram evidências claras de biomagnificação do Cr (VI) na cadeia alimentar aquática, mas eles indicaram que a transferência de Cr (VI) poderia ocorrer de invertebrados para aves ao longo da cadeia alimentar. Por outro lado, Campbell (1995) constatou que a biomagnificação do Cr (VI) poderia ocorrer em ambientes onde houvesse concentrações elevadas de Cr [VI], com os predadores do topo da cadeia alimentar apresentando maiores concentrações do metal (Sreejata et al. 2023).

A sequência relativa de aumento de Cr (VI) nos tecidos dos peixes foi identificada como sendo brânquias > fígado > pele > músculo. Além das mudanças degenerativas observadas a nível celular, foram registadas alterações histológicas extracelulares na estrutura hepática, incluindo a perda de clareza nas lacunas intra-hepatocitárias, infiltração de células inflamatórias, congestão e danos nas veias centrais, organização solta das células hepáticas, aumento dos espaços intercelulares, indícios de hemorragia, transformações lipídicas e ocorrência de cirrose hepática (Lall and Kaushik 2021; Sreejata et al 2023).

### **3.5. Chumbo (Pb)**

O chumbo é um metal não biodegradável que está disponível na natureza (vulcões, erosões, entre outras) e encontrado em quantidades relativamente baixas. Os níveis de chumbo atmosférico estão a aumentar continuamente devido às atividades humanas, incluindo manufatura, mineração e queima de combustíveis fósseis. Apesar de que a contaminação de chumbo no ambiente não aumentar significativamente o teor de chumbo nos alimentos, pois a maioria dos sais de chumbo são insolúveis em água (Jaishankar et al. 2014, Loh et al. 2016).

Uma mudança importante que contribuiu para reduzir os níveis de contaminação foi a substituição da gasolina com chumbo por uma alternativa sem chumbo. Essa medida teve um impacto positivo na diminuição da contaminação ambiental por chumbo. No entanto, ainda é essencial monitorizar e controlar outras fontes potenciais de exposição ao chumbo para garantir a proteção da saúde humana e do meio ambiente (Ramalho, 2019). O mecanismo da toxicidade do chumbo ocorre principalmente devido à capacidade dos íons chumbo metálicos substituírem outros cátions bivalentes, como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  e cátions monovalentes, como  $\text{Na}^+$ , o que acaba por perturbar o metabolismo biológico da célula. O mecanismo da toxicidade do chumbo causa mudanças significativas em vários processos biológicos, como adesão celular, sinalização intra- e intercelular, produção de proteínas, maturação, apoptose, transporte iônico, regulação enzimática e liberação de neurotransmissores. Também pode substituir o cálcio, mesmo em concentrações picomolares, afetando a proteína quinase C, que regula a excitação neuronal e o armazenamento da memória (Chakraborty et al. 2013; Jaishankar et al. 2014).

O chumbo pode persistir por longos períodos no solo e na água, mas a quantidade presente na água é influenciada por diversos fatores, como temperatura, pH, pressão e teor de sais dissolvidos.

A concentração estimada de chumbo em águas marinhas é de cerca de 0,005  $\mu\text{g/L}$ . Essa quantidade é geralmente pequena, mas pode variar dependendo das condições específicas do local e de atividades humanas nas proximidades. É importante monitorizar regularmente os níveis de chumbo em ambientes marinhos para garantir a preservação da saúde dos ecossistemas marinhos e a proteção da vida aquática. A contaminação por chumbo pode ter efeitos adversos na vida marinha e também pode representar riscos para a saúde humana, caso os produtos marinhos contaminados sejam consumidos (Lall and Kaushik, 2021).

Com base em estudos recentes, foi observado que, de um modo geral, as concentrações de chumbo (Pb) tendem a ser mais baixas em predadores de nível trófico mais elevado, como peixes carnívoros, em comparação com organismos bentônicos e algas. Essa diferença nas concentrações de chumbo entre diferentes grupos de organismos é devido ao fator de bioconcentração (BCF), que indica a capacidade de um organismo acumular uma substância em relação à concentração dessa substância no ambiente circundante (ATSDR 2020).

Para os peixes, o fator de bioconcentração do chumbo não é muito elevado, com um valor médio de  $\text{BCF}=42$ . Isso significa que os peixes têm uma capacidade relativamente baixa de acumular chumbo nos seus tecidos quando comparados, por exemplo, com moluscos, que possuem um BCF médio de 2570. Isso indica que os moluscos são muito mais propensos a

acumular grandes quantidades de chumbo nos seus tecidos em comparação com os peixes (ATSDR 2020).

Os peixes podem absorver o chumbo principalmente através das brânquias, intestino e pele. Uma vez absorvido, o chumbo tende a acumular-se nos tecidos, especialmente em órgãos como fígado, rins e ossos (Leatherland and Woo 2010). Ao nível dos rins e fígado afeta a capacidade de desintoxicação e excreção. Além disso, o chumbo pode interferir com a síntese de hemoglobina nos glóbulos vermelhos, o que pode levar a anemia (Leatherland and Woo, 2010; Wood et al., 2011).

Em algumas espécies, o chumbo pode levar a alterações hormonais, redução da fertilidade e problemas no desenvolvimento embrionário.

### **3.6. Objetivo do trabalho**

O objetivo deste estudo foi determinar o teor de elementos essenciais (Na; K; Ca; Mg; P; S; Cu; F; Mn e Zn) e metais pesados (Cd e Ar) no fígado de grandes predadores do Atlântico. Apesar do fígado destes peixes ser um produto pouco consumidos pela população portuguesa, a sua análise revela-se de grande importância porque o fígado desempenha funções cruciais de desintoxicação e armazenamento, sendo, portanto, um indicador mais preciso da bioacumulação destes elementos. Para além disso pretendeu-se avaliar se os níveis de elementos essenciais seriam mais elevados no fígado em comparação com os músculos dos peixes, proporcionando uma visão mais detalhada sobre a exposição a nutrientes e contaminantes ambientais.

## **4. Materiais e Métodos**

### **4.1. Preparação das amostras**

As amostras de fígado de espadarte (*Xiphias gladius*) ( $n=8$ ), tubarão azul (*Prionace glauca*) ( $n=13$ ), tubarão-mako (*Isurus oxyrinchus*) ( $n=17$ ), atum-albacora (*Thunnus albacares*) ( $n=10$ ), atum-obeso (*Thunnus obesus*) ( $n=1$ ) e o atum-listado (*Katsuwonus pelamis*) ( $n=13$ ) foram obtidas de Armadores de pesca, sediados em Peniche. A captura das espécies foi realizada em águas internacionais do Atlântico, ao longo de 6 semanas e o método de pesca foi o Palangre de superfície. As amostras foram pesadas e congeladas para posteriormente serem liofilizadas. A liofilização é um processo que consiste na remoção de água por sublimação numa situação de baixa pressão e temperatura negativa. Após a liofilização, as amostras foram trituradas num moinho de café (Krups) e foram pesados aproximadamente 0,3 g de cada amostra, em duplicado, para tubos de digestão.

## 4.2. Digestão e análise

Para a digestão das amostras de fígado recorreu-se ao Instituto Superior de Agronomia. O procedimento consistiu em realizar uma digestão ácida da matéria orgânica da amostra seca a altas temperaturas. A digestão foi realizada com 2,5 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) a 65%, e 7,5 mL de ácido clorídrico (HCl) a 37%, sendo realizado em conjunto um ensaio em branco e um ensaio de referência. As amostras foram colocadas na placa de aquecimento do digestor durante 120-140 minutos até a digestão estar terminada. Depois das amostras arrefecerem até à temperatura ambiente, foram transferidas, na hotte, para balões volumétricos de 25 mL, adicionando água destilada para ajustar o volume. Finalmente, as amostras foram filtradas e guardadas em frascos de vidro até serem analisadas por espectrometria de emissão atômica acoplada por plasma induzido (ICP-OES).

A ICP-OES foi utilizada para determinar o teor de elementos essenciais e metais pesados nas amostras. A ICP-OES é altamente sensível, precisa e capaz de analisar uma ampla diversidade de elementos, incluindo minerais e metais pesados. Ela é particularmente útil para a deteção de traços de elementos em amostras complexas, como tecidos biológicos, devido à sua capacidade de separar as linhas espectrais de diferentes elementos e fornecer resultados quantitativos confiáveis.

## 4.3. Análise estatística

A análise estatística apresentada foi efetuada recorrendo à análise de variância usando o procedimento *General Linear Models* (GLM) do programa estatístico SAS (Institute Inc., Cary NC) usando o teste PDIFF ajustado ao método Tukey Kramer. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão. As diferenças entre as médias foram significativas quando  $P < 0,05$ .

## 5. Resultados e discussão

Neste estudo, foi realizada uma análise do teor de vários elementos essenciais e Metais pesados (Na; K; Ca; Mg; P; S; Cu; F; Mn; Zn; Cd e Ar) presentes no fígado de diferentes espécies de peixes. As quantidades de Pb, Cr e Se estavam apenas presentes em quantidades vestigiais. A quantificação do mercurio e metilmercúrio seria para realizada fora da faculdade, mas por motivo da pandemia não foi possível.

As tabelas 2 e 3 indicam os valores médios obtidos dos macromelementos e microelementos, respetivamente, nos fígados liofilizados.

**Tabela 2: Teores de macromelementos (média e desvio padrão), expressos em mg/kg de matéria-seca (MS), no fígado de atum albacora (AA), atum-listado (AL), espadarte (ES), tubarão azul (TA) e tubarão mako (TM).**

	Macroelementos (mg/kg MS)					Enxofre (S)
	Sódio (Na)	Potássio (K)	Cálcio (Ca)	Magnésio (Mg)	Fosforo (P)	
<b>Atum albacora (AA)</b>	8114±812 <sup>a</sup>	16481±2732 <sup>a</sup> b	3898±3337 <sup>a</sup> b	3568±1992 <sup>a</sup> b	15100±3394 a	17934±2355 a
<b>Atum Listado (AL)</b>	11011±3433 a	18061±1505 <sup>a</sup>	7693±5098 <sup>a</sup>	4578±1772 <sup>a</sup>	15018±2987 a	20376±1453 a
<b>Espadarte (ES)</b>	8194±2913 <sup>a</sup>	14078±2099 <sup>b</sup>	2681±4694 <sup>a</sup> b	1206±1579 <sup>b</sup> c	11789±3104 b	14386±2848 b
<b>Tubarão azul (TA)</b>	3482±1566 <sup>b</sup>	4383±1711 <sup>c</sup>	650±181 <sup>b</sup>	394±103 <sup>c</sup>	2388±983 <sup>c</sup>	4638±1754 <sup>c</sup>
<b>Tubarão mako (TM)</b>	3230±2844 <sup>b</sup>	4057±3882 <sup>c</sup>	639±243 <sup>b</sup>	400±214 <sup>c</sup>	2690±2542 <sup>c</sup>	4487±4037 <sup>c</sup>
<b>Probabilidade</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Os teores para o atum obeso (AO,  $n=1$ ) foram 5831 mg/kg MS (Na); 16919 mg/kg MS (K); 783 mg/kg MS (Ca); 1025 mg/kg MS; 1218 mg/kg MS e 15178 mg/kg MS (S).

De uma forma geral, quando comparamos os valores de macromelementos entre as diferentes espécies estudadas, podemos observar que há uma disparidade significativa entre os atuns albacora e listado e os tubarões azul e mako, apresentando os últimos, teores mais baixos no geral. No que diz respeito ao espadarte, este apresenta maiores semelhanças aos atuns que aos tubarões.

Nos estudos conduzidos por Harley and Hardy (2002) e Lall and Kaushik (2021) verificou-se que, nos tecidos musculares de peixes, tanto os originários de ambientes de água doce como marinha, o teor de potássio foi superior ao teor de sódio. Foi também possível observar que, numa ampla variedade de espécies, a concentração de elementos seguiu o seguinte padrão:  $K > P > Na > Mg > Ca > Zn > Cu$ . No nosso estudo, os valores obtidos do fígado, revelaram o mesmo comportamento.

Relativamente ao fósforo, os valores encontrados no presente estudo situam-se entre os 2388 mg/kg para o tubarão mako e 15100 mg/kg para o atum albacora, confirmando que este tipo de alimento constitui uma excelente fonte de fósforo na nossa dieta, de acordo com a recomendação diária pela FAO de 700 mg/dia, particularmente nas crianças e adolescentes, que têm necessidades maiores.

O magnésio encontra-se de forma constante, entre as espécies, espadarte e tubarão azul e mako. No entanto, há uma diferença relativamente ao atum listado, apresentando valor de 4578 mg/kg MS.

De acordo com Hardy (2021), o cálcio tem mais expressão no osso, escamas e pele, pelo que, os valores encontrados para as diferentes espécies do presente estudo, pouco

contribuem as recomendações diárias da OMS. No entanto, o atum listado apresentou maiores teores de cálcio (7693 mg/kg MS) quando comparado ao tubarão.

O sódio apresenta a sua menor expressão nos tubarões, com um valor médio entre 3230 mg/kg e 3482 mg/kg e por outro lado, o atum listado apresenta o teor de sódio mais elevado, com valor de 11010 mg/kg.

O enxofre foi o elemento que apresentou a maior expressão em todas as espécies de atuns, com valores entre os 17934 mg/kg MS e 20376 mg/kg MS, contrariando as espécies de tubarões com valores significativamente mais baixos a rondar os 4638 mg/kg e os 4487 mg/kg.

Ressalva-se que, os valores discutidos não contemplaram os diversos aspetos como a fase de crescimento, sexo e idade dos peixes estudados.

De uma forma geral, comparando os valores obtidos com outros estudos efetuados em fígado de peixes, nomeadamente os estudos de Salvat-Leal et al. (2023) e Rodrigues (2020), podemos concluir que, não há uma consistência no que se refere às concentrações dos mesmos.

No estudo de Hauser-Davis et. (2021) efetuado a partir de 8 amostras de fígado, em tubarão azul em diversas zonas geográficas, os valores obtidos para os diferentes elementos essenciais foram os mais baixos encontrados na literatura. No entanto, Alves et al. (2016) numa amostra de 20 fígados de tubarão azul, no Atlântico verificou que, os dados do estudo atual estão mais enquadrados, embora com valores mais altos.

No que diz respeito aos microelementos essenciais, os valores obtidos estão representados na tabela 3. Pode observar-se que, existe uma grande variabilidade entre espécies e entre indivíduos da mesma espécie, comparativamente aos macroelementos essenciais.

**Tabela 3: Teores de microelementos (média e desvio padrão), expressos em mg/kg de matéria seca (MS) no fígado de atum albacora (AA), atum-listado (AL), espadarte (ES), tubarão azul (TA) e tubarão mako (TM).**

	Microelementos (mg/kg MS)			
	Cobre (Cu)	Ferro (Fe)	Manganês (Mn)	Zinco (Zn)
<b>Atum albacora (AA)</b>	17,6±7,06 <sup>cd</sup>	819±721 <sup>ab</sup>	4,93±1,37 <sup>a</sup>	230±140 <sup>c</sup>
<b>Atum Listado (AL)</b>	16,0±3,96 <sup>cd</sup>	412±144 <sup>b</sup>	5,37±1,28 <sup>a</sup>	732±148 <sup>a</sup>
<b>Espadarte (ES)</b>	41,0±31,3 <sup>b</sup>	1603±1898 <sup>a</sup>	5,64±1,16 <sup>a</sup>	469±520 <sup>b</sup>
<b>Tubarão azul (TA)</b>	7,41±2,03 <sup>d</sup>	277±181 <sup>b</sup>	3,48±1,68 <sup>b</sup>	52,3±25,1 <sup>c</sup>
<b>Tubarão mako (TM)</b>	30,8±36,9 <sup>bc</sup>	567±481 <sup>b</sup>	3,31±2,04 <sup>b</sup>	46,0±27,5 <sup>c</sup>
<b>Probabilidade</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Os teores de microelementos para o atum obeso (AO,  $n=1$ ) foram 84,5 mg/kg MS (Cu); 864 mg/kg MS (Fe); 7,86 mg/kg MS (Mn) e 245 mg/kg MS (Zn).

O Fe e o Zn são os dois microelementos mais abundantes, variando, respetivamente, de 277 mg/kg a 1603 mg/kg e de 46 mg/kg a 732 mg/kg, tornando o fígado destas espécies altamente nutritivo, em caso de consumo.

As três espécies pelágicas estão no topo dos predadores, portanto as maiores concentrações encontradas no espadarte podem ser devidas às diferenças nos seus padrões de alimentação.

O Mn não variou significativamente entre os elementos da mesma espécie, obtendo-se o valor máximo de 7,86 mg/kg e o valor mínimo de 3,31 mg/kg. Os tubarões mako e azul apresentaram valores similares de 3,31 mg/kg e 3,48 mg/kg, respetivamente.

Sabe-se que, elementos como o Fe e o Mn estão presentes em concentrações elevadas no sangue, sendo expectável a sua presença num tecido altamente irrigado, como é o caso do fígado. Além disso, alguns destes elementos, como o Se, desempenham papéis importantes nos processos naturais de desintoxicação que ocorrem no fígado (Jakimska-Nagórska et al. 2011).

Segundo Lall and Kaushik (2021), num estudo realizado sobre nutrição e metabolismo dos minerais em fígado de peixes, os valores descritos para o Zn variavam entre os 478 mg/kg e os 529 mg/kg na carpa. No caso do Mn, o intervalo de valores em fígado foi de 70 mg/kg na garoupa e 164 mg/kg na corvina. Ao comparar os valores obtidos com os do no nosso estudo, verificamos que o Mn apresenta valores mais aproximados do que o Zn, devendo-se provavelmente ao facto de que as carpas se encontrarem mais afastadas do topo da cadeia alimentar do que as garoupas, quando comparadas com as outras espécies estudadas, que se encontram no topo da cadeia (Lall and Kaushik, 2021).

No entanto, no estudo efetuado por Hauser-Davis (2021) que comparou as concentrações de minerais presentes no fígado de tubarão os valores obtidos em peso húmido são similares aos do presente estudo quando aplicado um fator de conversão de 0,25, já que o teor de humidade em elasmobrânquios geralmente varia entre os 70 a 80% (média 75%).

Por fim, o Cu que atua, entre outras funções, como cofator de muitas enzimas do nosso metabolismo oscila entre 7,4 mg/kg no tubarão mako e 84,5 mg/kg no atum obeso.

No estudo realizado por Sadeghi et al. (2020) para determinar as concentrações de Cu e Zn nos tecidos das brânquias, fígado, músculos e barbatanas caudais de *Euthynnus affinis*, *Katsuwonus pelamis* e *Thunnus albacares* do mar de Omã, verificou-se que as concentrações foram significativamente maiores no fígado. A acumulação de metais nos tecidos das espécies de atum foram  $Zn > Cu$ , sendo semelhante aos dados obtidos por outros

estudos realizados no Atlântico, que vão de encontro a este padrão (Alves et al. 2016; Hauser-Davis et al. 2021).

Rodrigues (2020) efetuou um estudo em peixes, crustáceos, bivalves e gastrópodes sobre a concentração de teores de minerais em músculo de diversos peixes e averiguou que, as suas concentrações aumentavam consoante o seu grupo taxonómico. Ao compararmos, por exemplo, o valor de Na, em atum albacora, observamos que os valores foram muito semelhantes ao estudo atual. Desta forma, podemos verificar uma ligação, entre os valores em musculo e em fígado, que poderá ser uma mais-valia, no futuro, sendo que o consumo de fígado em Portugal é relativamente baixo, comparativamente ao músculo. O que coloca o fígado como um subproduto que poderia ser considerado como um biomarcador no controlo da bioacumulação em peixes e no oceano em si.

Relativamente aos metais pesados, os elementos Cr, Ni, Pb e Ba os valores foram indetetáveis para análise. Neste estudo, os dados analisados foram o Cd e o As, que apresentam maior potencial de toxicidade que os outros elementos. A Tabela 4 mostra os níveis médios e o desvio padrão de Cd e As para todas as espécies.

**Tabela 4: Teores médios de cádmio e arsénio, média e desvio padrão, expressos em mg/kg de matéria seca MS, no fígado de atum albacora (AA), atum-listado (AL), atum obeso (AO), espadarte (ES), tubarão azul (TA) e tubarão mako (TM).**

Metais pesados (mg/kg MS)		
	Arsénio	Cádmio
Atum albacora (AA)	6,8±1,9 <sup>b</sup>	14,0±9,3 <sup>b</sup>
Atum Listado (AL)	7,9±2,5 <sup>b</sup>	24,2±8,6 <sup>b</sup>
Espadarte (ES)	7,7±23 <sup>b</sup>	72,2±73,6 <sup>a</sup>
Tubarão azul (TA)	29,3±19,5 <sup>a</sup>	27,0±14,3 <sup>b</sup>
Tubarão mako (TM)	22,7±33,5 <sup>a,b</sup>	10,0±10,5 <sup>b</sup>
Probabilidade	<0,001	<0,001

Os teores de metais pesados para o atum obeso (AO,  $n=1$ ) foram 19,9 mg/kg MS (Ar) e 103,8 mg/kg MS (Cd).

O atum albacora, o listado e o espadarte apresentaram níveis de arsénio semelhantes, variando de 6 a 8 mg/kg. Nos tubarões azuis pudemos verificar uma disparidade de valores, sendo que a sua média é de 29,3 mg/kg. O atum obeso apresenta valores de As que são mais próximos ao tubarão azul e mako, com uma média colocada entre os 19,9 mg/kg e 22,7 mg/kg. Este facto pode se deve a que estas espécies nadem a maiores profundidades e se alimentem de maiores quantidades de crustáceos e cefalópodes.

Relativamente aos teores de cádmio, podemos observar uma variabilidade de valores variando de 72,2 mg/kg MS no espadarte e entre 10 mg/kg MS e 27 mg/kg MS nas restantes espécies.

A partir dos dados obtidos, poder-se-á inferir que, em geral, os níveis de arsénio e cádmio são muito superiores aos obtidos por outros autores. Storelli et al. (2005) estudaram os níveis de Cd e As no fígado do espadarte (0,16 µg/g Cd e 6,23 µg/g As), o que, quando comparados com os nossos resultados, verificámos que, valores que estes autores obtiveram em peso húmido, foram de 6,75 mg/kg. Embora os valores sejam elevados, a diferença não é totalmente contraditória, visto que não foi considerado, por exemplo, o intervalo de tempo entre estudos, sexo, idade, etc.

Contudo, Alves et al. (2016) obteve valores significativamente mais altos que os de Storelli et al. (2005), em fígados de tubarão azul, com uma média de 4,5 mg/kg o que demonstra um aumento do teor de Cd ao longo dos anos e poderá explicar os valores obtidos neste estudo.

Segundo o regulamento 2023/915 da EU sobre contaminantes alimentares, os teores máximos de Cd são, respetivamente, 0,05 mg/kg de peso húmido (tubarão azul e mako); 0,10 mg/kg peso húmido (atum bonito, listado e obeso) e 0,25 mg/kg peso húmido (espadarte). Neste estudo os valores obtidos de Cd podem estar subvalorizados porque as amostras foram liofilizadas. Para além disso os limites máximos referem-se à parte edível (músculo) dos peixes.

De uma forma geral os valores obtidos quer para os minerais, quer para os metais pesados, neste estudo, podem dever-se ainda ao fato das amostras analisadas pertencerem a espécies predadoras, de topo da cadeia alimentar no ecossistema marinho, mais predispostas, desta forma, à bioacumulação de substâncias, presentes nas presas que consomem e ainda, às diferenças entre métodos de estudos e as suas sensibilidades, neste caso em particular, durante o período de Covid em que a análise das mesmas foi lenta e limitada.

## 6. Conclusão

Em virtude da pandemia pelo coronavírus 2019 (COVID-19), as amostras para as análises ao mercúrio (Hg) e metilmercúrio (MeHg) ficaram inutilizadas, pelo que não foi possível a sua análise. Ainda assim, foi possível avaliar a quantidade de outros biomarcadores, tais como o Cd e o As.

De acordo com os resultados obtidos, os elementos essenciais mais abundantes no fígado proveniente de espécies capturadas no oceano Atlântico tais como o espadarte (*Xiphias gladius*), o tubarão azul (*Prionace glauca*), o tubarão-mako (*Isurus oxyrinchus*), o atum-albacora (*Thunnus albacares*), o atum-obeso (*Thunnus obesus*) e o atum-listado (*Katsuwonus pelamis*) foram o potássio e o zinco. Relativamente ao arsénio e cádmio, os níveis foram muito superiores aos valores descritos na literatura, e no caso do cádmio, ultrapassaram os limites legislados pela UE. Conclui-se assim que, a bioacumulação de minerais e metais pesados presentes nas espécies estudadas, provenientes do oceano Atlântico, requiere mais investigação, por ser um tema de grande importância, pelo impacto que poderá ter na segurança alimentar e saúde dos consumidores.

O consumo de produtos derivados do fígado, como por exemplo, óleo e patê de fígado é comum em muitas culturas ainda que, em Portugal, o seu consumo seja relativamente baixo. No entanto, é essencial a realização de estudos adicionais para avaliar o grau de toxicidade que essas substâncias podem causar na saúde dos consumidores de forma a garantir a sua proteção bem como a preservação dos ecossistemas marinhos.

## 7. Referências

- Al-Sulaiti MM, Soubra L, Al-Ghouti MA. 2022. The causes and effects of mercury and methylmercury contamination in the marine environment: A review. *Curr Pollut Rep.* 8(3):249–272. doi:10.1007/s40726-022-00226-7. <http://dx.doi.org/10.1007/s40726-022-00226-7>.
- Alves LMF, Lemos MFL, Moutinho AB, Ceia FR, Muñoz-Arnanz J, Jiménez B, Cabral H, Novais SC. 2023. Assessment of contaminants in blue sharks from the Northeast Atlantic: Profiles, accumulation dynamics, and risks for human consumers. *Environmental Pollution.* 316:120467. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120467>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749122016815#bib18>.
- Alves LMF, Nunes M, Marchand P, Le Bizec B, Mendes S, Correia JPS, Lemos MFL, Novais SC. 2016. Blue sharks (*Prionace glauca*) as bioindicators of pollution and health in the Atlantic Ocean: Contamination levels and biochemical stress responses. *Science of The Total Environment.* 563-564:282–292. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.085>.
- ATSDR. 2020. Toxicological profile for lead. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>
- Bakshi A, Panigrahi AK. 2018. A comprehensive review on chromium induced alterations in fresh water fishes. *Toxicol Rep.* 5:440–447. doi:10.1016/j.toxrep.2018.03.007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.03.007>.
- Baldisserotto B, Mancera JM, Kapoor BG. 2007. Fish Osmoregulation A SCIENCE PUBLISHERS B O O K.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. 2009. *Food Chemistry*. 4<sup>th</sup> ed Burghagen MM, tradutor. Berlim, Germany: Springer.
- Bjornsson BT, Haux C. 1985. Journal of Comparative Sy Distribution of calcium, magnesium and inorganic phosphate in plasma of estradiol-17 $\beta$  treated rainbow trout. *J Comp Physiol B.* 155.
- Blowes DW, Ptacek CJ, Jambor JL, Weisener CG, Paktunc D, Gould WD, Johnson DB. 2014. The geochemistry of acid mine drainage. Em: *Treatise on Geochemistry*. Elsevier. p. 131–190.
- Bosch AC, O'Neill B, Sigge GO, Kerwath SE, Hoffman LC. 2016. Heavy metals in marine fish meat and consumer health: a review. *J Sci Food Agric.* 96(1):32–48. doi:10.1002/jsfa.7360. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7360>.
- Boyer TD, Wright TL, Michael Peter Manns, Zakim D. 2011. *Zakim and Boyer's Hepatology* 6th. Saunders.
- Breves JP, McKay IS, Koltenyuk V, Nelson NN, Lema SC, McCormick SD. 2022. Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> cotransporter 1 (nbce1) isoform gene expression during smoltification and seawater acclimation of Atlantic salmon. *J Comp Physiol B.* 192(5):577–592. doi:10.1007/s00360-022-01443-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00360-022-01443-8>.
- Buckle J. 2015. *Essential oil toxicity and contraindications*. Em: *Clinical Aromatherapy*. Elsevier. p. 73–94.

- Campbell KR. 1995. Chromium accumulation in three species of central Florida centrarchids. *Bull. Bull Environ Contam Toxicol.* doi:10.1007/BF00197429. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00197429>.
- Castro-González MI, Méndez-Armenta M. 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environ Toxicol Pharmacol.* 26(3):263–271. doi:10.1016/j.etap.2008.06.001. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2008.06.001>.
- Celik I, Ortas I, Kilic S. 2004. Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a Chromoxerert soil. *Soil Tillage Res.* 78(1):59–67. doi:10.1016/j.still.2004.02.012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2004.02.012>.
- Chakraborty S, Dutta AR, Sural S, Gupta D, Sen S. 2013. Ailing bones and failing kidneys: a case of chronic cadmium toxicity. *Ann Clin Biochem.* 50(5):492–495. doi:10.1177/0004563213481207. <http://dx.doi.org/10.1177/0004563213481207>.
- Chandrapalan T, Kwong RWM. 2021. Functional significance and physiological regulation of essential trace metals in fish. *J Exp Biol.* 224(24). doi:10.1242/jeb.238790. <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.238790>.
- Chen C-W, Chen C-F, Dong C-D. 2012. Distribution and accumulation of mercury in sediments of Kaohsiung river mouth, Taiwan. *APCBEE Procedia.* 1:153–158. doi:10.1016/j.apcbee.2012.03.025. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.03.025>.
- Custer CM, Custer TW, Dummer PM, Munney KL. 2003. Exposure and effects of chemical contaminants on tree swallows nesting along the Housatonic River, Berkshire County, Massachusetts, USA, 1998-2000. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 22(7):1605–1621. [accessed 2024 May 24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12836988/>.
- DeBethizy, J., Hayes, J., and Hayes, A. (2001). *Metabolismo: um determinante da toxicidade. Princípios e Métodos de Toxicidade.*
- DeIvalls TA, Chapman PM, Drake P, Dulce Subida M, Vale C, de la Reguera DF, Blasco J. 2007. Benthos Sediment Quality Assessments. Em: *Sustainable Management of Sediment Resources.* Elsevier. p. 215–261.
- Dong M, Zhu L, Shao B, Zhu S, Wang Jun, Xie H, Wang Jinhua, Wang F. 2013. The effects of endosulfan on cytochrome P450 enzymes and glutathione S-transferases in zebrafish (*Danio rerio*) livers. *Ecotoxicol Environ Saf.* 92:1–9. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.10.019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.10.019>.
- Drouillard KG. 2008. Biomagnification. In: *Encyclopedia of Ecology.* Elsevier. p. 353–358.
- Edwards SL, Marshall WS. 2012. Principles and patterns of osmoregulation and euryhalinity in fishes. Em: *Fish Physiology.* Elsevier. p. 1–44.
- Engwa, G. A., Ferdinand, P. U., Nwalo, F. N., and Unachukwu, M. N. 2019. *Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans - Poisoning in the Modern World.* <https://doi.org/10.5772/intechopen.82511>
- EUMOFA, 2020. O mercado do peixe da EU 2020. União Europeia.

- European Commission, Directorate-General for Health and Consumers, 2010. *The rapid alert system for food and feed (RASFF): annual report 2009*. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2772/88477>
- European Commission, Directorate-General for Health and Consumers. 2007. *The rapid alert system for food and feed (RASFF) : annual report 2006*, Publications Office.
- FAO, 2020. Anuário da FAO. Estatísticas da pesca e da aquicultura 2018. <https://doi.org/10.4060/cb1213t>.
- Gil A, Gil F. 2015. Fish, a Mediterranean source of n-3 PUFA: benefits do not justify limiting consumption. *Br J Nutr.* 113(S2):S58–S67. doi:10.1017/s0007114514003742. <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114514003742>.
- Gobas FAPC. 2008. Food-Web Bioaccumulation Models. In: *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier. p. 1643–1652.
- Griffith MB. 2017. Toxicological perspective on the osmoregulation and ionoregulation physiology of major ions by freshwater animals: Teleost fish, crustacea, aquatic insects, and Mollusca. *Environ Toxicol Chem.* 36(3):576–600. doi:10.1002/etc.3676. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.3676>.
- Gworek B, Dmuchowski W, Baczewska-Dąbrowska AH. 2020. Mercury in the terrestrial environment: a review. *Environ Sci Eur.* 32(1). doi:10.1186/s12302-020-00401-x. <http://dx.doi.org/10.1186/s12302-020-00401-x>.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 2015. *Free radicals in biology and medicine*. 5.a ed. Londres, England: Oxford University Press.
- Hardy RW. 2001. Nutritional deficiencies in commercial aquaculture: likelihood, onset, and identification. *Nutrition and Fish Health.* :131–147.
- Hauser-Davis RA, Chávez Rocha RC, Saint’Pierre TD, Adams DH. 2021 Jun. METAL CONCENTRATIONS AND METALLOTHIONEIN METAL DETOXIFICATION IN BLUE SHARKS, *Prionace glauca* L. FROM THE WESTERN NORTH ATLANTIC OCEAN. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.*:126813. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126813>.
- Hebert SC. 2004. Calcium and salinity sensing by the thick ascending limb: A journey from mammals to fish and back again. *Kidney International.* 66:28–33.
- Hinton D, Segner H, Braunbeck T, Schlenk D, Benson W. 2001. Respostas tóxicas do fígado Toxicidade do órgão-alvo em teleósteos marinhos e de água doce.
- Hoque M, Burgess W, Shamsudduha M. 2011. Delineating low-arsenic groundwater environments in the Bengal Aquifer System, Bangladesh. *Bangladesh Appl Geochem.* 26(4):614–623.
- Hou S, Yuan L, Jin P, Ding B, Qin N, Li L, Liu X, Wu Z, Zhao G, Deng Y. 2013. A clinical study of the effects of lead poisoning on the intelligence and neurobehavioral abilities of children. *Theor Biol Med Model.* 10(1). doi:10.1186/1742-4682-10-13. <http://dx.doi.org/10.1186/1742-4682-10-13>.
- Ikemoto T, Tu NPC, Okuda N, Iwata A, Omori K, Tanabe S, Tuyen BC, Takeuchi I. 2008. Biomagnification of trace elements in the aquatic food web in the Mekong delta, south Vietnam using stable carbon and nitrogen isotope analysis. *Arch Environ Contam*

- Toxicol. 54(3):504–515. doi:10.1007/s00244-007-9058-5.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00244-007-9058-5>.
- Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. 2014. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol.* 7(2):60–72. doi:10.2478/intox-2014-0009. <http://dx.doi.org/10.2478/intox-2014-0009>.
- Jakimska-Nagórska, A., Konieczka, P., Skóra, K.E., and Namieśnik, J. 2011. Bioaccumulation of Metals in Tissues of Marine Animals, Part I: the Role and Impact of Heavy Metals on Organisms. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20, 1117-1125.
- Karbowska B. 2016. Presence of thallium in the environment: sources of contaminations, distribution and monitoring methods. *Environ Monit Assess.* 188(11). doi:10.1007/s10661-016-5647-y. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-016-5647-y>.
- Kolakowska A, Olley J, Dunstan G. 2003. Fish lipids. Em: Sikorski ZE, Kolakowska A, editores. Chemical and functional properties of lipids. NY: CRC Press. p. 221–264.
- Lall SP, Kaushik SJ. 2021. Nutrition and metabolism of minerals in fish. *Animals (Basel)*. 11(9):2711. doi:10.3390/ani11092711. <http://dx.doi.org/10.3390/ani11092711>.
- Leatherland JF, Woo PTK. 2010. *Fish Diseases and Medicine (2o)*.
- Little A, Pasparakis C, Stieglitz J, Grosell M. 2023. Metabolic cost of osmoregulation by the gastro-intestinal tract in marine teleost fish. *Front Physiol.* 14. doi:10.3389/fphys.2023.1163153. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2023.1163153>.
- Loh N, Loh H-P, Wang LK, Wang M-HS. 2016. Health effects and control of toxic lead in the environment. Em: Natural Resources and Control Processes. Cham: Springer International Publishing. p. 233–284.
- Lushchak VI. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat Toxicol.* 101(1):13–30. doi:10.1016/j.aquatox.2010.10.006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>.
- Michigan Department of Coommunity Health. Em: What is Bioaccumulation? What are Persistent Chemicals? (2022).
- Mitra S, Chakraborty AJ, Tareq AM, Emran TB, Nainu F, Khusro A, Idris AM, Khandaker MU, Osman H, Alhumaydhi FA, et al. 2022. Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *J King Saud Univ Sci.* 34(3):101865. doi:10.1016/j.jksus.2022.101865. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>.
- Nunes, M. L., Batista, I., Bandarra, N. M., Morais, M. d., and Rodrigues, P. O. (2008).
- Oliva-Teles A. 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *J Fish Dis.* 35(2):83–108. doi:10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>.
- Olsson P-E, Kling P, Hogstrand C. 1998. Mechanisms of heavy metal accumulation and toxicity in fish. In Em: Metal Metabolism in Aquatic Environments. Boston, MA: Springer US. p. 321–350.

- Paschoalini AL, Bazzoli N. 2021. Heavy metals affecting Neotropical freshwater fish: A review of the last 10 years of research. *Aquat Toxicol.* 237(105906):105906. doi:10.1016/j.aquatox.2021.105906. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105906>.
- Popek E. 2018. Environmental chemical pollutants. In *Em: Sampling and Analysis of Environmental Chemical Pollutants*. Elsevier. p. 13–69.
- Pourahmad J, Rabiei M, Jokar F, Obrien P. 2005. A comparison of hepatocyte cytotoxic mechanisms for chromate and arsenite. *Toxicology.* 206(3):449–460. doi:10.1016/j.tox.2004.08.002. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2004.08.002>.
- Produtos da Pesca: Valor Nutricional e Importância para a Saúde e Bem-Estar dos Consumidores. Lisboa: IPIMAR
- Quarcoo A, Adotey G, Ayittey K. 2015. Heavy metal levels in fish caught and processed at Lavender-Hill. *Accra Int J Environ.*
- Rego A, Gueifão S, Ventura M, Coelho I, Castanheira I. 2020. Influência da sazonalidade da cavala no teor de Selênio - estudo preliminar.
- Rodrigues M. 2020. FISH AS A SOURCE OF MINERALS IN A GROWING WORLD. Universidade de Coimbra.
- Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., and Schulin, R. 2013. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences*, 18, 144–157. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2013.06.008>
- Sadeghi P, Loghmani M, Frokhzad S. 2020. Human health risk assessment of heavy metals via consumption of commercial marine fish (*Thunnus albacares*, *Euthynnus affinis*, and *Katsuwonus pelamis*) in Oman Sea. *Environ Sci Pollut Res Int.* 27(13):14944–14952. doi:10.1007/s11356-020-07907-0. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-020-07907-0>.
- Salvat-Leal I, Ortega A, Blanco E, García J, Romero D. 2023. Elemental composition in soft tissues as a model for identifying batches of juvenile Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). *J Food Compost Anal.* 118(105176):105176. doi:10.1016/j.jfca.2023.105176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105176>.
- Sarkar T, Alam MM, Parvin N, Fardous Z, Chowdhury AZ, Hossain S, Haque ME, Biswas N. 2016. Assessment of heavy metals contamination and human health risk in shrimp collected from different farms and rivers at Khulna-Satkhira region, Bangladesh. *Toxicol Rep.* 3:346–350. doi:10.1016/j.toxrep.2016.03.003. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.03.003>.
- Sreejata K, Shaw P, Islam S, Chattopadhyay A. 2023. Ecotoxicology of hexavalent chromium in fish: An updated review. *Science of The Total Environment.* 890.
- Storelli MM, Giacomini-Stuffer R, Storelli A, Marcotrigiano GO. 2005. Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and bluefin tuna from the Mediterranean Sea: A comparative study. In *Marine Pollution Bulletin.* 50.
- Viana, Z. C. V., and Viana, Z. C. V. 2008. *Avaliação da composição mineral e centesimal em peixes consumidos no Estado da Bahia.* <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/10022>
- Whittamore JM. 2012. Osmoregulation and epithelial water transport: lessons from the intestine of marine teleost fish. *J Comp Physiol B.* 182(1):1–39. doi:10.1007/s00360-011-0601-3. <http://dx.doi.org/10.1007/s00360-011-0601-3>.

- Wolf JC, Wolfe MJ. 2005. A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. *Toxicol Pathol.* 33(1):75–85. doi:10.1080/01926230590890187. <http://dx.doi.org/10.1080/01926230590890187>.
- Wood CM. 2011. An introduction to metals in fish physiology and toxicology: basic principles. Em: *Fish Physiology*. Elsevier. p. 1–51.
- Ziółkowska E, Bogucka J, Mazurkiewicz J, Rawski M, Róžański S, Stanek M. 2021. Effects of a trans-galactooligosaccharide on minerals content of common carp (*Cyprinus carpio* L.) tissues. *Biol Trace Elem Res.* 199(12):4792–4804. doi:10.1007/s12011-021-02600-w. <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-021-02600-w>.