



**PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO
EM GEOCIÊNCIAS
E MEIO AMBIENTE**

Determinação e distribuição de mercúrio (Hg^{2+}) e metilmercúrio (MeHg) em tetrápodes marinhos coletados na Bacia de Santos, Brasil

HENRIQUE DIAS PETROVICH

Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Campus de Rio Claro

Rio Claro – SP
2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Instituto de Geociências e Ciências Exatas

Campus de Rio Claro

HENRIQUE DIAS PETROVICH

DETERMINAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE MERCÚRIO (Hg^{2+}) e
METILMERCÚRIO (MeHg) EM TETRÁPODES MARINHOS COLETADOS
NA BACIA DE SANTOS, BRASIL

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas do Campus de Rio Claro da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” para obtenção do grau de Mestre em Geociências e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário

Rio Claro (SP)
2026

P497d

Petrovich, Henrique Dias

Determinação e distribuição de mercúrio (Hg²⁺) e metilmercúrio (MeHg) em tetrápodes marinhos coletados na Bacia de Santos, Brasil / Henrique Dias Petrovich. -- Rio Claro, 2026

92 p. : il., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro

Orientador: Amauri Antonio Menegário

1. Toxicologia ambiental. 2. Animais marinhos. 3. Bioacumulacao. 4. Especificação (Química). 5. Metilmercurio. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa desenvolvida contribui de forma significativa para o avanço científico na área da ecotoxicologia marinha ao gerar dados inéditos sobre especiação de mercúrio em vertebrados marinhos da Bacia de Santos, especialmente para as aves analisadas. Os resultados apoiam o aprimoramento de métodos de monitoramento e avaliação ambiental, fortalecendo ações técnicas voltadas à gestão costeira e à mitigação de impactos associados à exploração de petróleo. Do ponto de vista social e educacional, o estudo amplia o conhecimento sobre riscos ambientais e de saúde pública relacionados ao mercúrio, promovendo conscientização e subsidiando políticas de conservação. Em termos econômicos e de inovação, os achados podem auxiliar na formulação de estratégias mais seguras para descomissionamento de estruturas *offshore*, contribuindo para práticas sustentáveis na indústria. A pesquisa apresenta também potencial de internacionalização ao dialogar com temas globais, como bioacumulação de contaminantes, mudanças ambientais e impacto da exploração de recursos marinhos. Sua inserção local, regional e nacional se destaca por abordar diretamente uma das áreas mais relevantes da economia brasileira, alinhando-se a princípios de desenvolvimento sustentável e à necessidade de monitoramento contínuo de ecossistemas costeiros altamente vulneráveis.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research provides a meaningful contribution to the scientific understanding of mercury speciation and bioaccumulation in marine vertebrates from the Santos Basin, specially for the birds analyzed. The findings support improvements in environmental monitoring and assessment methods, strengthening technical measures aimed at coastal management and mitigating the impacts associated with petroleum exploitation. From a social and educational perspective, the study advances awareness of environmental and public health risks linked to mercury exposure, offering valuable information for conservation policies. Economically and technologically, the results can guide safer and more sustainable strategies for offshore infrastructure decommissioning, contributing to innovation within the energy sector. The research also presents strong potential for internationalization, engaging with global issues such as contaminant biomagnification, environmental change, and the impacts of marine resource exploitation. At the local, regional, and national levels, its relevance is reinforced by its direct connection to one of Brazil's most important economic regions, aligning with principles of sustainable development and the need for continuous monitoring of vulnerable coastal ecosystems.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Câmpus de Rio Claro

HENRIQUE DIAS PETROVICH

**DETERMINAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE MERCÚRIO (Hg^{2+}) E METILMERCÚRIO (MeHg) EM
TETRÁPODES MARINHOS COLETADOS NA BACIA DE SANTOS, BRASIL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas do Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Geociências e Meio Ambiente.

Comissão Examinadora

Prof. Dr. AMAURI ANTONIO MENEGÁRIO
IGCE / UNESP/Rio Claro (SP)

Dr. JOSÉ LUCAS MARTINS VIANA
IGCE / UNESP/Rio Claro (SP)

Dr^a MELINA BORGES TEIXEIRA ZANATTA
IGCE / UNESP/Rio Claro (SP)

Conceito: Aprovado.

Rio Claro (SP), 19 de dezembro de 2025.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que me apoiaram e me auxiliaram durante o processo de sua realização. Gostaria, no entanto, de dedica-lo especialmente ao meu avô, Nadyr Firmino Dias, que sempre me incentivou nos estudos e lutou para que eu pudesse ter acesso a educação. Dedico a ele, portanto, mesmo que não esteja mais aqui para ver essa etapa de minha vida se realizando, mas que tenho certeza que está muito orgulhoso de mim.

AGRADECIMENTOS

O autor agradece o apoio financeiro do Programa de Recursos Humanos da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – PRH-ANP, suportado com recursos provenientes do investimento de empresas petrolíferas qualificadas na Cláusula de PD&I da Resolução ANP nº50/2015. Agradeço também à Universidade Estadual Paulista (UNESP) e ao Programa de Pós-Graduação em Geociências e Meio Ambiente pela oportunidade e suporte acadêmico.

Ao meu orientador, pela confiança e orientação constante, mesmo em períodos turbulentos no âmbito pessoal e profissional. Aos colegas do Centro de Estudos Ambientais (CEA) pelo auxílio técnico e pelas discussões científicas que contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa. Agradeço também às instituições e projetos parceiros responsáveis pela coleta das amostras (PMP-BS e Petrobras) que viabilizaram este trabalho.

Por fim, agradeço à minha família e amigos pelo apoio, paciência e incentivo ao longo de todo o processo de pesquisa.

RESUMO

A contaminação por mercúrio (Hg) em ecossistemas marinhos representa um importante desafio ambiental, especialmente devido à capacidade do metilmercúrio (MeHg) de se bioacumular e biomagnificar na cadeia alimentar. Neste estudo, foram avaliadas as concentrações de MeHg e as interações entre Hg total (HgT) e selênio (Se) em amostras de fígado de cinco espécies de vertebrados marinhos presentes na Bacia de Santos – *Chelonia mydas*, *Pontoporia blainvillei*, *Sotalia guianensis*, *Larus dominicanus* e *Spheniscus magellanicus* – com o objetivo de compreender os padrões de bioacumulação, a especiação de Hg e os mecanismos de detoxificação associados. As aves marinhas apresentaram as maiores concentrações de MeHg, especialmente *S. magellanicus*, enquanto os cetáceos exibiram menores percentuais de MeHg e maior evidência de desmetilação e complexação com Se. As tartarugas-verdes mostraram baixa frequência de MeHg detectável, mas heterogeneidade individual elevada. As razões molares Se:Hg revelaram dinâmica distinta entre os grupos, refletindo diferenças fisiológicas e ecológicas. As correlações entre Se e HgT foram significativas apenas para cetáceos, enquanto não se observou correlação entre Se e MeHg em nenhuma espécie, evidenciando que a relação Se–Hg ocorre predominantemente após a desmetilação. Embora análises estatísticas de subgrupos (sexo, idade e local) tenham sido limitadas pelo tamanho amostral, observações descritivas indicam que fatores ecológicos, como dieta, comportamento trófico e migração, exercem maior influência na exposição ao Hg do que variáveis biológicas isoladas. A interpretação dos resultados no contexto da Bacia de Santos sugere que além de fontes naturais e dietéticas, atividades petrolíferas podem contribuir para a presença de Hg no ambiente, conforme evidenciado por estudos recentes que demonstram acúmulo e posterior mobilização de Hg em dutos *offshore*. Os resultados reforçam a necessidade de monitoramento ambiental contínuo, especialmente em regiões sujeitas a intensa atividade industrial, e contribuem para a compreensão integrada dos processos de bioacumulação, especiação e detoxificação de Hg em vertebrados marinhos brasileiros.

Palavras-chave: mercúrio; metilmercúrio; selênio; bioacumulação; vertebrados marinhos.

ABSTRACT

Mercury (Hg) contamination in marine ecosystems remains a major environmental concern due to the high toxicity and biomagnification potential of methylmercury (MeHg). This study evaluated the concentrations MeHg as well as the relation between total mercury (HgT) and selenium (Se) in liver samples from five marine vertebrate species occurring in the Santos Basin – *Chelonia mydas*, *Pontoporia blainvillei*, *Sotalia guianensis*, *Larus dominicanus*, and *Spheniscus magellanicus*. The aim was to investigate patterns of bioaccumulation, Hg speciation, and the detoxification mechanisms associated with Se. Seabirds exhibited the highest MeHg concentrations, particularly *S. magellanicus*, whereas cetaceans showed lower MeHg proportions and clearer evidence of hepatic demethylation and HgSe formation. Green turtles presented low MeHg detection frequency but high intra-individual variability. Molar ratios of Se:Hg revealed distinct patterns among taxa, reflecting physiological and ecological differences. Significant correlations between Se and HgT were found only in cetaceans, while no species showed correlation between Se and MeHg, indicating that the Se–Hg relationship occurs predominantly after MeHg demethylation. Subgroup analyses (sex, age, and location) were limited by sample size; however, descriptive observations suggest that ecological factors, such as diet, foraging behavior, and migratory routes, play a more relevant role in Hg exposure than isolated biological variables. When interpreted within the environmental context of the Santos Basin, the results suggest that, in addition to natural and dietary sources, offshore petroleum activities may contribute to Hg availability, supported by recent evidence of Hg accumulation and mobilization in production pipelines. Overall, the findings highlight the importance of continuous environmental monitoring in regions under strong industrial influence and advance the understanding of Hg bioaccumulation, speciation, and detoxification processes in Brazilian marine vertebrates.

Keywords: mercury; methylmercury; selenium; bioaccumulation; marine vertebrates.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Área de estudo referente a Bacia de Santos onde foram coletadas todas as amostras analisadas. Abrange os estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina.....	24
Figura 2 - Esquema do preparo de amostra utilizado para quantificação de MeHg. Adaptado de Bramanti <i>et al.</i> (2005).....	30
Figura 3 - Esquema de análise de amostras para quantificação de MeHg no fígado de tetrápodes marinhos.....	32
Figura 4 - Concentração hepática média de MeHg para as espécies estudadas.	37
Figura 5 - Exemplo de cromatograma gerado pela análise da amostra PT2710 (<i>Pontoporia blainvillei</i>), mostrando os tempos de retenção para Hg (~4 minutos), MeHg (~6,5 minutos) e terceiro pico desconhecido (~13 minutos).....	38
Figura 6 - Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie <i>C. mydas</i>	51
Figura 7 - Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie <i>P. blainvillei</i>	52
Figura 8 - Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie <i>S. guianensis</i>	52
Figura 9 - Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie <i>S. magellanicus</i>	53
Figura 10 - Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie <i>L. dominicanus</i>	53
Figura 11 - Regressão linear simples entre Se e MeHg para a espécie <i>L. dominicanus</i>	54
Figura 12 - Regressão linear simples para a espécie <i>S. magellanicus</i>	54
Figura 13 - Regressão linear simples para a espécie <i>P. blainvillei</i>	55
Figura 14 - Regressão linear simples para a espécie <i>S. guianensis</i>	55
Figura 15 - Razão molar média observada para as espécies <i>C. mydas</i> , <i>L. dominicanus</i> , <i>P. blainvillei</i> , <i>S. guianensis</i> e <i>S. magellanicus</i> . As concentrações foram convertidas para Log10 para facilitar visualização.	58
Figura 16 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de <i>C. mydas</i>	88
Figura 17 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de <i>P. blainvillei</i>	88
Figura 18 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de <i>S. guianensis</i>	88
Figura 19 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de <i>S. magellanicus</i>	89
Figura 20 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de <i>L. dominicanus</i>	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações médias de mercúrio total (HgT) e selênio (Se) medidas para as espécies <i>Larus dominicanus</i> , <i>Spheniscus magellanicus</i> , <i>Chelonia mydas</i> , <i>Pontoporia blainvillei</i> e <i>Sotalia guianensis</i> (mínimo-máximo).	35
Tabela 2 - Concentração média de MeHg (incluindo desvio-padrão, valores mínimos, máximos de %MeHg em relação ao Hg total, quando disponível) para as cinco espécies estudadas e espécies comparativas (d.w. = peso seco; w.w. = peso úmido).	38
Tabela 3 - Resumo estatístico obtido na regressão linear simples realizada para cada espécie do estudo.....	51
Tabela 4 - Valor médio da razão molar entre selênio (Se) e mercúrio total (HgT), para as cinco espécies estudadas.	58
Tabela 5 - Concentrações dos reagentes utilizados para condições de operação otimizadas para determinação do teor de MeHg nas amostras.....	86
Tabela 6 – Condições instrumentais utilizadas para a determinação de MeHg por HPLC–CV-AFS.....	86
Tabela 7 – Resultado do p-valor para o teste de Shapiro-Wilk para análise da correlação entre Se e Hg nas diferentes espécies, onde todas são $\geq 0,05$, indicando normalidade na distribuição dos dados.	87
Tabela 8 – Valores de p obtidos para o teste de homoscedasticidade de Breusch-Pagan e para o teste de Durbin-Watson para as correlações entre Se e Hg das diferentes espécies.	87

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Referencial teórico.....	16
2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA	20
2.1. Justificativa.....	20
2.2. Objetivos gerais	21
2.3. Objetivo específicos	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Área de estudo	23
3.2. Coleta, conservação das amostras e técnicas analíticas.....	24
3.4. Métodos para análise e quantificação de mercúrio total (HgT).....	25
3.5. Métodos para análise e quantificação de selênio (Se).....	27
3.6. Métodos para análise e quantificação de metilmercúrio (MeHg).....	28
3.6.1. Reagentes, materiais e condições de armazenamento	28
3.6.2. Preparo de amostra — procedimentos e justificativas.....	29
3.6.3. Arranjo analítico e justificativa metodológica.....	30
3.6.4. Verificação de artefatos e controle de qualidade analítica.....	32
3.6.5. Tratamento de dados abaixo do limite de detecção	33
3.6.6. Tratamento estatístico e integração com dados de Se e Hg total.....	33
3.6.7. Considerações sobre aplicações e limitações	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. Quantificação de mercúrio total e selênio	35
4.2. Quantificação de metilmercúrio	37
4.3. Metilmercúrio no gaivotão (<i>Larus dominicanus</i>) e no pinguim-de-magalhães (<i>Spheniscus magellanicus</i>)	41
4.4. Metilmercúrio na tartaruga-verde (<i>Chelonia mydas</i>)	44

4.5. Metilmercúrio na toninha (<i>Pontoporia blainvillei</i>) e no boto-cinza (<i>Sotalia guianensis</i>).....	46
4.6. Metilmercúrio em animais marinhos.....	49
4.7. Correlação entre mercúrio e selênio	50
4.8. Diagnóstico dos pressupostos dos modelos.....	57
4.9. Razão molar Se:Hg.....	58
4.10. Evidências mecanísticas recentes (formação / detecção de HgSe).....	61
4.11. Análise dos subgrupos Sexo, Idade e Local	62
4.12. Presença de um pico cromatográfico adicional não identificado	63
4.13. Interpretação ecológica e toxicológica integrada	65
4.13.1. Discernimentos acerca de mercúrio e a produção de petróleo	65
4.13.2. Sugestões de aplicações e trabalhos futuros	67
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
REFERÊNCIAS	72
APÊNDICE	86

1. INTRODUÇÃO

A Bacia de Santos é uma das mais importantes bacias sedimentares do Brasil, localizada na margem continental sudeste do país, estendendo-se ao longo da costa dos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro, com área superior a 350.000 km² e grande relevância geológica e econômica (Mohriak *et al.*, 2008; ANP, 2022). Além de sua importância para a exploração de hidrocarbonetos, a região abriga ecossistemas marinhos e costeiros de elevada complexidade ambiental, sustentando alta biodiversidade e desempenhando papel fundamental para diversas espécies marinhas.

Essa área é reconhecida como habitat e rota migratória de numerosos vertebrados marinhos, incluindo mamíferos aquáticos, aves marinhas e quelônios, muitas das quais são consideradas endêmicas, vulneráveis ou ameaçadas de extinção, segundo critérios nacionais e internacionais de conservação (ICMBIO, 2018; IUCN, 2023). A produtividade biológica da região e a presença de áreas de alimentação e reprodução tornam a Bacia de Santos especialmente relevante do ponto de vista ecológico.

Nas últimas décadas, a exploração de petróleo e gás natural na Bacia de Santos experimentou crescimento expressivo, impulsionado principalmente pela descoberta e desenvolvimento das reservas de hidrocarbonetos associadas à camada do pré-sal. Situada abaixo de uma espessa sequência evaporítica, a província do pré-sal abriga volumes expressivos de petróleo e gás natural, desempenhando papel estratégico no cenário energético nacional e respondendo por parcela significativa da produção brasileira de hidrocarbonetos (Mohriak *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2019; ANP, 2022).

Entretanto, a intensificação das atividades de exploração e produção de petróleo e gás natural na Bacia de Santos, assim como outras atividades antrópicas associadas ao ambiente marinho, impõe desafios relevantes à conservação dos ecossistemas costeiros e oceânicos. Atividades industriais *offshore* podem ocasionar impactos ambientais por meio de derramamentos acidentais de óleo, emissões atmosféricas, descarte de efluentes e alterações físicas do ambiente marinho decorrentes da instalação e operação de infraestruturas, demandando medidas rigorosas de monitoramento, prevenção e gerenciamento ambiental (IMO, 2007; Sayed *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2023).

Essas preocupações incluem também a contaminação ambiental por elementos-traço potencialmente tóxicos, como o mercúrio (Hg). A produção de petróleo e gás natural nas bacias de Santos e Campos responde por parcela expressiva da produção nacional, o que reforça a

relevância de se avaliar potenciais fontes e vias de liberação de Hg associadas às atividades do setor petrolífero (Souza *et al.*, 2019; Paton *et al.*, 2025). O mercúrio é um metal não essencial, naturalmente presente na crosta terrestre, mas amplamente redistribuído no ambiente por atividades humanas, apresentando elevada toxicidade. A exposição ao Hg pode causar efeitos adversos ao sistema nervoso, imunológico e cardiovascular, além de comprometer processos reprodutivos e o desenvolvimento de organismos aquáticos e terrestres (Branquinho *et al.*, 1999; Clarkson & Magos, 2006).

O petróleo consiste em uma mistura complexa de hidrocarbonetos líquidos e gasosos, com ampla variação de peso molecular, além de conter heteroátomos como nitrogênio, enxofre e traços de metais. Sua composição química pode variar em função das condições de pressão, temperatura e do contexto geológico de ocorrência, bem como sofrer alterações após processos de intemperismo físico, químico e biológico, como aqueles observados em eventos de derramamento (Aguiar *et al.*, 2022; Corrêa *et al.*, 2024). Embora o mercúrio não constitua um componente majoritário do petróleo, sua presença em concentrações-traço e sua liberação associada às atividades de exploração e produção podem representar uma fonte adicional de Hg para o ambiente marinho, justificando a necessidade de monitoramento ambiental contínuo.

No entanto, o concernimento principal quanto ao mercúrio na indústria do petróleo se dá pela acumulação de mercúrio em dutos de petróleo e gás não corroídos, onde o sulfeto de hidrogênio (H₂S) transforma e libera o Hg no ambiente marinho (Paton *et al.*, 2025). Os resultados indicam que o Hg pode se acumular de forma significativa na parede interna dos dutos ao longo de meses ou anos, atingindo concentrações que podem representar risco de bioacumulação na biota marinha. A presença de H₂S reduz a fração de Hg mais facilmente solubilizada e mobilizável, alterando sua forma química e potencialmente influenciando sua biodisponibilidade (Paton *et al.*, 2025). Esses achados reforçam a preocupação com a contaminação por Hg e seus compostos orgânicos e inorgânicos na cadeia alimentar marinha, especialmente em áreas próximas às operações de exploração e produção de petróleo, onde resíduos acumulados podem ser liberados durante a desativação de infraestruturas *offshore* (Paton *et al.*, 2025). Assim, a presença de Hg na água e na biota marinha pode estar diretamente relacionada às atividades de petróleo, ressaltando a necessidade de monitoramento e avaliação de riscos ambientais associados a esses processos.

A determinação de mercúrio total, embora fundamental para avaliações ambientais, não é suficiente para caracterizar adequadamente o grau de contaminação e o risco ecotoxicológico associado a esse elemento. Em organismos marinhos, apesar de a principal via de exposição

ocorrer por meio do metilmercúrio (MeHg) adquirido pela alimentação piscívora, o mercúrio inorgânico também é amplamente identificado em tecidos biológicos, especialmente no fígado, como resultado de processos metabólicos internos, incluindo a desmetilação do MeHg (Palmisano *et al.*, 1995; Das *et al.*, 2003).

No ambiente, o mercúrio pode sofrer diversas transformações químicas e biológicas, originando diferentes espécies com propriedades físico-químicas e graus de toxicidade distintos. Essas espécies são geralmente classificadas em formas inorgânicas e orgânicas. Entre as formas orgânicas, os compostos organometálicos, particularmente o metilmercúrio, destacam-se pelo elevado potencial de bioacumulação e biomagnificação ao longo das cadeias tróficas aquáticas, afetando principalmente organismos piscívoros e predadores de níveis tróficos elevados (Barbosa *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2018).

O mercúrio, especialmente na forma de MeHg, apresenta elevada neurotoxicidade e capacidade de biomagnificação, resultando em concentrações progressivamente maiores em organismos situados nos níveis tróficos superiores da teia alimentar marinha (Scheuhammer *et al.*, 2007, 2015; Wiener *et al.*, 2007; Sandheinrich & Wiener, 2011; Kehrig *et al.*, 2013, 2017; Lavoie *et al.*, 2013; Fort *et al.*, 2015; Jonsson *et al.*, 2017).

Mesmo em concentrações relativamente baixas, o MeHg pode causar efeitos adversos significativos, incluindo neurotoxicidade, imunotoxicidade, nefrotoxicidade e genotoxicidade em mamíferos marinhos, especialmente em cetáceos. Entre os efeitos mais frequentemente documentados está a supressão da função imune, o que pode aumentar a susceptibilidade desses organismos a doenças infecciosas (Dietz *et al.*, 2013; Desforges *et al.*, 2016; Kershaw & Hall, 2019).

A exposição da biota aquática ao MeHg ocorre predominantemente por vias alimentares, em função de sua elevada persistência ambiental e mobilidade ao longo das cadeias tróficas aquáticas (Porcella, 1994; Morel *et al.*, 1998; Ullrich *et al.*, 2001; Sarica *et al.*, 2005; Moura *et al.*, 2012). Esse processo afeta de forma mais pronunciada espécies onívoras e carnívoras, sobretudo predadores de topo, nos quais os efeitos da biomagnificação tendem a ser mais evidentes (Aula *et al.*, 1994; Malm *et al.*, 1995, 1997; Lebel *et al.*, 1997; Evans *et al.*, 1998; Basu *et al.*, 2005; Markert, 2007; Molina *et al.*, 2010; Bossart, 2011).

O selênio, por sua vez, é reconhecido como um elemento-traço essencial, capaz de exercer papel modulador frente à toxicidade de metais não essenciais, como o mercúrio (U.S. EPA, 1997; Feroci *et al.*, 2005). A interação entre Se e Hg ocorre principalmente por meio da formação de complexos estáveis e pouco biodisponíveis, como o HgSe, sobretudo após a desmetilação do

MeHg nos tecidos, o que pode reduzir a toxicidade associada ao mercúrio inorgânico acumulado (Ganther *et al.*, 1972; Palmisano *et al.*, 1995; Feroci *et al.*, 2005).

Como o enxofre, o selênio apresenta elevada afinidade por grupamentos sulfidrila presentes em proteínas, favorecendo sua associação com o mercúrio em tecidos biológicos. Dessa forma, é esperado que ambos os elementos bioacumulem nos tecidos de organismos marinhos, especialmente no fígado, órgão central nos processos de metabolismo e detoxificação (Ganther *et al.*, 1972; Palmisano *et al.*, 1995).

Koeman *et al.* (1973) reportaram pela primeira vez uma correlação positiva entre Hg e Se no fígado e cérebro de cetáceos, demonstrando que o complexo HgSe é um produto do processo de desmetilação e um mecanismo para lidar com a toxicidade do mercúrio em cetáceos (Nakazawa *et al.*, 2011; Lailson-Brito *et al.*, 2012). Perrault *et al.* (2017) sugerem que a interação entre selênio e mercúrio poderia ter impacto no aumento ou na diminuição de pré-albumina em tartarugas e, conseqüentemente, ter ligação com hipotireoidismo nesses organismos (Donoghue, 2006; Meyer *et al.*, 2014).

Essa relação entre Hg e Se tem sido amplamente documentada em diferentes espécies de mamíferos marinhos ao longo das últimas décadas (Leonzio *et al.*, 1992; Palmisano *et al.*, 1995; Meador *et al.*, 1999; Capelli *et al.*, 2000; Dietz *et al.*, 2000; Wagemann *et al.*, 2000; Cardellicchio *et al.*, 2002; Endo *et al.*, 2002; Bustamante *et al.*, 2003; Law *et al.*, 2003; Kehrig *et al.*, 2004), incluindo a espécie *Sotalia guianensis* na costa brasileira (Kehrig *et al.*, 2004; Kunito *et al.*, 2004). Para *Pontoporia blainvillei*, estudos indicam que as concentrações de selênio frequentemente superam as de mercúrio, sugerindo um papel particularmente relevante do Se nos mecanismos fisiológicos de detoxificação dessa espécie (Kunito *et al.*, 2004; Seixas *et al.*, 2007).

1.1. Referencial teórico

A presença de mercúrio em ambientes marinhos costeiros do Brasil tem sido documentada em estudos anteriores, especialmente em contextos de impacto antrópico e contaminação ambiental em diferentes bacias costeiras (Lacerda *et al.*, 2007; Miranda *et al.*, 2007). Apesar dessas evidências gerais de contaminação por Hg em ecossistemas aquáticos brasileiros, ainda é pouco conhecido o impacto dessa contaminação na fauna marinha da Bacia de Santos, em particular no que se refere à especiação do mercúrio, bioacumulação e mecanismos de detoxificação. O mercúrio é um metal-traço natural encontrado em diversos compartimentos ambientais, considerado um contaminante prioritário devido à sua toxicidade e capacidade de biomagnificação em cadeias tróficas aquáticas, particularmente na forma de metilmercúrio (MeHg). A transformação do mercúrio inorgânico (Hg^{2+}) em metilmercúrio ocorre principalmente por meio de processos microbianos em ambientes reduzidos, nos quais microrganismos anaeróbicos mediadores de metilação convertem Hg^{2+} em MeHg (Regnell & Watras, 2019; Gilmour *et al.*, 2013). A ocorrência e os níveis de mercúrio em tecidos de cetáceos, quelônios marinhos e aves marinhas têm sido demonstrados em diversos estudos em diferentes regiões do mundo, incluindo trabalhos que relacionam concentração de Hg em pescados e animais marinhos à bioacumulação e à toxicidade ecológica (Rodrigues *et al.*, 2020; Kershaw & Hall, 2019).

Nos cetáceos, como na maioria dos organismos, o mercúrio causa efeitos adversos no sistema nervoso central e endócrino, levando a disfunções reprodutivas, na osmorregulação, localização de presas, orientação e comunicação interespecífica (Delgado-Suarez *et al.* 2023), danificando outros sistemas essenciais e podendo culminar em declínios populacionais (Jakimska *et al.* 2011a, Jakimska *et al.* 2011b, López-Berenguer *et al.* 2020). Dispõe-se pesquisas desde a década de 1970, com estudos de teor total de mercúrio (Gaskin *et al.* 1974, Nagakura *et al.* 1974, Arima & Nagakura 1979, Wagemann & Muir 1984), no entanto a análise de suas espécies orgânicas era muitas vezes negligenciada.

No geral, esses estudos concentraram-se na determinação do teor total de mercúrio (HgT), sem a identificação de suas diferentes espécies químicas, o que limita a avaliação de sua toxicidade e de seus impactos ecotoxicológicos para a fauna local (Das *et al.*, 2003; Wagemann *et al.*, 2000). Esses trabalhos também demonstraram que as maiores concentrações de mercúrio tendem a se acumular no fígado dos organismos marinhos, órgão central nos processos de metabolismo e detoxificação (Palmisano *et al.*, 1995; Kunito *et al.*, 2004). Essa predominância do fígado como compartimento de acumulação pode indicar a presença prévia de

metilmercúrio, uma vez que essa espécie é altamente biodisponível, lipofílica e adquirida principalmente por via alimentar, sendo posteriormente desmetilada e retida nos tecidos hepáticos (Palmisano *et al.*, 1995; Wagemann *et al.*, 2000). As espécies que apresentaram maiores níveis de mercúrio foram cetáceos de grande porte, podendo ter relação com o fato de corresponderem, em grande parte das vezes, a um maior nível trófico que mamíferos marinhos menores ou a grande quantidade de animais que consomem, resultando em bioacumulação e biomagnificação de Hg e MeHg em seus organismos (Caurant *et al.*, 1996; Hansen & Danscher, 1995; Nigro *et al.*, 2002; Hammerschmidt & Fitzgerald 2006; López-Berenguer *et al.*, 2020). É importante ressaltar que o selênio pode proteger mamíferos marinhos da contaminação por mercúrio através de diversos mecanismos de propriedades antioxidantes, competição por sítios de ligação nas moléculas e da formação de complexos inertes não-tóxicos (Civin-Aralar & Furness, 1991). Para o MeHg, os animais em questão são capazes de se desintoxicar mediante uma desmetilação no fígado, onde posteriormente as moléculas de Hg e de Se ligam e formam cristais insolúveis toxicologicamente inertes de HgSe (Caurant *et al.* 1996, Nigro & Leonzio 1996, Kershaw & Hall 2019).

No entanto, esse efeito pode resultar em uma deficiência de Se no organismo, fazendo com que o MeHg atue como inibidor altamente específico de selenoenzimas, afetando tanto sua síntese quanto atividade (Ralston & Raymond 2010), também causando efeitos neurotóxicos e miodegradação nutricional, por exemplo (Kehrig *et al.* 2013).

Há, sem dúvida, um limite para a concentração de mercúrio (ou qualquer metal tóxico) que um animal pode tolerar em seus tecidos. No geral, para os diversos efeitos neurotóxicos, as concentrações limites percebidas para mamíferos varia entre 0,1ppb w.w. e 6,75ppb w.w., implicando que mesmo concentrações baixas de mercúrio podem causar efeitos adversos nesses organismos, em especial cetáceos, que estão expostos a grandes concentrações de elemento (Krey *et al.*, 2015).

Porém, apesar do mercúrio ser um dos metais mais estudados nos cetáceos, há pouca informação quanto suas tolerâncias fisiológicas para contaminantes em animais de vida livre (Monk *et al.* 2014), tendo sido observados diferentes efeitos neurotóxicos em mamíferos para o Hg e para o MeHg, especialmente para cérebros em desenvolvimento (Andersen *et al.*, 2000). Os efeitos tóxicos do mercúrio podem variar amplamente entre diferentes espécies (Basu *et al.*, 2005).

O levantamento realizado por Delgado-Suarez *et al.* (2023) compila evidências recentes sobre a presença, distribuição e efeitos do mercúrio em cetáceos de diferentes regiões do globo,

destacando a marcante variabilidade entre espécies, populações e tecidos analisados. Os autores mostram que odontocetos de topo trófico, especialmente aqueles que consomem presas de maior nível trófico ou realizam mergulhos profundos, tendem a apresentar as maiores cargas corporais de Hg, refletindo processos intensos de bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia alimentar marinha. O estudo também evidencia que tecidos metabólicos ativos, como fígado e rins, acumulam predominantemente Hg inorgânico advindo da desmetilação do MeHg ingerido, ao passo que o cérebro pode reter quantidades expressivas de Hg, com potenciais consequências neurotóxicas.

Além disso, a revisão em questão enfatiza que fatores ecológicos, fisiológicos e ambientais são determinantes fundamentais para explicar a amplitude de variação observada entre os diferentes grupos de cetáceos. Assim, Delgado-Suarez *et al.* (2023) reforçam que a exposição ao mercúrio em cetáceos é um processo complexo, multifatorial e intimamente associado à posição trófica, às características fisiológicas de cada espécie e às condições ambientais dos ecossistemas que ocupam.

Ademais, a origem geográfica se mostrou um fator importante para a contribuição de variação inter e intraespecífica de concentração de Hg em cefalópodes (Bustamante *et al.* 2006), um alimento comum de vários mamíferos marinhos. É de relevância também citar que informações quanto aos efeitos adversos de Hg e MeHg para estes animais são escassos, tanto com relação aos seus limites de toxicidade quanto aos seus efeitos.

É possível que haja uma variação no modo que Hg entra na cadeia trófica e sofre biomagnificação, podendo haver variações em sua biodisponibilidade através de setores costeiros de domínio pelágico ou com um processo de biodiluição com as concentrações de Hg aumentando com o grau de bentivoria, ou seja, uma relação direta com a alimentação de cada animal, conforme mostrado por Fioramonti *et al.* (2022).

Capelli *et al.* (2008) e Bilandžić *et al.* (2012, 2015) indicam que há uma correlação entre maturidade e concentração de Hg para cetáceos, como já observado para outros mamíferos marinhos, tais quais os pinípedes, onde, aparentemente, a quantidade de mercúrio presente no fígado dos pinípedes aumenta de acordo com a idade do indivíduo (Gaskin *et al.* 1979; Sergeant 1980).

Dadas as informações acerca da presença e toxicidade do Hg e do MeHg, assim como da sua interação com Se, neste trabalho, foram analisadas amostras de fígado de tetrápodes marinhos provenientes da Bacia de Santos, a fim de entender a presença do mercúrio e do metilmercúrio

nos animais dessa região e se pode haver uma contaminação que comprometa as formas de vida locais.

Também inferiu-se sobre uma possível relação entre a presença de Hg e de Se, tal como de MeHg com Se na biota analisada, deduzindo sobre uma possível relação com a produção e exploração de petróleo e gás natural na região. Dada a importância ecológica dos organismos marinhos e os potenciais riscos associados à bioacumulação de mercúrio, especialmente na forma metálica (MeHg), se faz necessário aprofundar o conhecimento sobre a distribuição e especiação do mercúrio em diferentes espécies e tecidos.

Além disso, a razão Se:Hg tem sido proposta como um possível indicador de mecanismos de desintoxicação ou tolerância ao metal (Ralston, 2008; Burger *et al.*, 2012; Lailson-Brito *et al.*, 2012), o que reforça a relevância de investigar essa relação. Ao contribuir para o entendimento da dinâmica Hg-Se em organismos marinhos, esta pesquisa pode fornecer subsídios importantes para avaliação de risco ambiental e para o desenvolvimento de estratégias de conservação e monitoramento da qualidade ambiental marinha.

2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

2.1. Justificativa

As atividades antrópicas desenvolvidas na Bacia de Santos, especialmente aquelas associadas à exploração e produção de petróleo e gás natural, representam potenciais fontes de liberação de contaminantes para o ambiente marinho, com possíveis consequências para os ecossistemas e organismos que nele habitam. Dentre esses contaminantes, o mercúrio (Hg) destaca-se por sua elevada persistência ambiental, ampla distribuição global e potencial de causar efeitos adversos à biota, sobretudo quando presente em sua forma orgânica mais tóxica, o metilmercúrio (MeHg) (Morel *et al.*, 1998; Clarkson & Magos, 2006). Nesse contexto, torna-se fundamental compreender não apenas a carga total de Hg nos organismos marinhos, mas, principalmente, a forma química sob a qual esse elemento se encontra, uma vez que diferentes espécies químicas apresentam comportamentos ambientais, biodisponibilidade e toxicidade distintos (Hintelmann, 2010).

A contaminação por Hg em ambientes marinhos pode afetar múltiplos níveis tróficos, desde produtores primários, como fitoplâncton e zooplâncton, até predadores de topo, promovendo processos de bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia alimentar (Wiener *et al.*, 2007; Lavoie *et al.*, 2013). Esses processos podem resultar em impactos ecológicos amplos, com efeitos diretos e indiretos sobre espécies de interesse ecológico e conservacionista, além de potenciais implicações para a saúde humana. O episódio de Minamata, ocorrido na década de 1950, constitui um exemplo emblemático desses riscos, no qual a conversão microbiana de Hg inorgânico em MeHg levou à intensificação da contaminação ao longo da cadeia trófica, culminando em graves efeitos neurotóxicos em populações humanas consumidoras de pescado contaminado (Clarkson & Magos, 2006).

Nesse cenário, a especiação do mercúrio em tecidos biológicos mostra-se essencial para avaliações ecotoxicológicas mais precisas, uma vez que a determinação exclusiva de Hg total não permite inferir adequadamente sobre riscos ambientais, vias de exposição e mecanismos fisiológicos associados à contaminação (Hintelmann, 2010). O MeHg é reconhecido como a espécie de maior relevância toxicológica, devido à sua elevada capacidade de biomagnificação e ao seu potencial neurotóxico, sendo particularmente importante sua quantificação em tecidos metabólicos, como o fígado, órgão central nos processos de transformação, armazenamento e detoxificação de contaminantes em vertebrados marinhos (Ikemoto *et al.*, 2004).

Além disso, a interação entre Hg e selênio (Se) desempenha papel fundamental na modulação dos efeitos tóxicos do Hg, especialmente por meio da formação de complexos pouco biodisponíveis, como o HgSe, que podem atuar como mecanismo de detoxificação em mamíferos e aves marinhas (Ikemoto *et al.*, 2004; Lailson-Brito *et al.*, 2012). Dessa forma, a avaliação conjunta das concentrações de Hg, MeHg e Se, bem como das razões molares Se:Hg, constitui uma ferramenta relevante para investigar processos metabólicos, potenciais efeitos protetores e diferenças interespecíficas na resposta à contaminação por mercúrio (Ralston, 2008).

Do ponto de vista metodológico, a aplicação de técnicas analíticas baseadas na extração seletiva de MeHg e na detecção por cromatografia líquida acoplada à fluorescência atômica por vapor frio (HPLC–CV-AFS) permite a diferenciação confiável entre as espécies químicas de Hg, garantindo seletividade e sensibilidade adequadas para estudos de especiação em matrizes biológicas complexas (Bloom, 1989; Bramanti *et al.*, 2005; Hintelmann, 2010). Essa abordagem possibilita comparações robustas entre espécies, grupos ecológicos e estudos prévios da literatura, contribuindo para interpretações mais consistentes dos dados ecotoxicológicos.

Além de contribuir para o avanço do conhecimento científico sobre a dinâmica do mercúrio em vertebrados marinhos, este estudo fornece informações relevantes para o monitoramento ambiental da Bacia de Santos, especialmente em um contexto de intensa atividade petrolífera, que pode representar uma fonte adicional de Hg para o ambiente marinho (Lacerda *et al.*, 2007; Paton *et al.*, 2025). Os resultados obtidos podem subsidiar a avaliação de riscos ambientais, apoiar a formulação de políticas públicas e incentivar a adoção de práticas industriais mais seguras e sustentáveis. Ademais, ao alinhar-se aos princípios do desenvolvimento sustentável e aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável propostos pela Organização das Nações Unidas, esta pesquisa reforça a importância do conhecimento científico como base para a mitigação de impactos ambientais e a conservação dos ecossistemas marinhos (ONU, 2015).

2.2. Objetivos gerais

Investigar a especiação de mercúrio em fígados de vertebrados marinhos por meio de análises cromatográficas (HPLC–AFS), avaliando conjuntamente as concentrações de mercúrio total, metilmercúrio e selênio, bem como a razão molar Se:Hg, como ferramenta para a compreensão de mecanismos fisiológicos de detoxificação e das variações interespecíficas na acumulação desses elementos e de suas implicações ecotoxicológicas.

2.3. Objetivo específicos

Têm-se como objetivos específicos deste trabalho:

1. Quantificar as concentrações de metilmercúrio (MeHg) no fígado de diferentes espécies de vertebrados marinhos, incluindo o gaivotão (*Larus dominicanus*), o pinguim-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*), a tartaruga-verde (*Chelonia mydas*), a toninha (*Pontoporia blainvillei*) e o boto-cinza (*Sotalia guianensis*);
2. Determinar as concentrações de selênio (Se) e de mercúrio (Hg) nesses organismos, visando compreender a distribuição desses elementos em um tecido metabolicamente ativo e central nos processos de detoxificação;
3. Investigar as correlações entre as concentrações de Se e Hg e entre Se e MeHg, avaliando a existência de relações positivas ou negativas que possam indicar interações bioquímicas entre esses elementos, incluindo a possível formação de complexos Hg–Se como mecanismo fisiológico de detoxificação;
4. Calcular e analisar a razão molar Se:Hg para cada espécie estudada, avaliando variações interespecíficas e seu potencial significado ecotoxicológico;
5. Aplicar testes estatísticos apropriados (normalidade, homocedasticidade, regressões lineares e comparações entre espécies) para validar os modelos utilizados na análise dos dados e interpretar os resultados à luz da ecotoxicologia, discutindo o papel modulador do selênio frente à toxicidade do mercúrio em diferentes grupos de vertebrados marinhos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

A Bacia de Santos é uma das maiores e mais importantes bacias sedimentares da margem continental sudeste brasileira, estendendo-se desde o sul do estado do Rio de Janeiro até o norte do estado de Santa Catarina, abrangendo aproximadamente 350.000 km² (Figura 1). Localiza-se em ambiente predominantemente *offshore*, ocupando a plataforma, o talude e a elevação continental adjacente, integrando um dos setores mais dinâmicos do Atlântico Sudoeste (Mohriak *et al.*, 2008; ANP, 2017). A região apresenta profundidades variáveis, que vão desde áreas rasas próximas à costa, com menos de 100 metros, até porções profundas que ultrapassam 2.000 metros, refletindo forte heterogeneidade geomorfológica e oceanográfica na área de estudo (Petrobras, 2017).

Do ponto de vista oceanográfico, a Bacia de Santos é influenciada pela Corrente do Brasil, uma corrente quente e oligotrófica que flui para o sul ao longo da margem continental, exercendo papel fundamental na distribuição de nutrientes, na dispersão de organismos e no transporte de massas d'água (Campos *et al.*, 1995; Miranda *et al.*, 2007). Sua interação com ressurgências costeiras sazonais, especialmente no litoral paulista e fluminense, e com sistemas de frentes oceânicas, contribui para a elevada variabilidade espacial na produtividade biológica (Mahiques *et al.*, 2011; Brandini *et al.*, 2018). Essa diversidade de condições físico-químicas cria um mosaico ambiental que sustenta uma rica fauna marinha, especialmente aves, tartarugas e pequenos cetáceos, muitos dos quais podem utilizar a região como área de alimentação, deslocamento e repouso durante migrações.

A Bacia de Santos também possui importância econômica e estratégica, sendo historicamente reconhecida pela exploração de petróleo e gás, incluindo os megacampi do pré-sal (Mohriak *et al.*, 2008; ANP, 2017). Essa atividade, embora essencial para a matriz energética nacional, introduz desafios ambientais relacionados ao risco de derramamentos, ao aumento do tráfego marítimo e à necessidade de monitoramento constante de contaminantes metálicos e orgânicos. Em paralelo, a região recebe influência de grandes centros urbanos e industriais da costa sudeste, como Rio de Janeiro, Santos, São Sebastião e Baixada Santista, que contribuem para o aporte de contaminantes via rios, estuários e efluentes costeiros, podendo afetar níveis de metais traço, como o mercúrio, nos organismos marinhos (Malm *et al.*, 1995; Lacerda *et al.*, 1997).

Ecologicamente, a Bacia de Santos representa uma zona de transição entre ambientes costeiros e oceânicos, reunindo habitats essenciais para diferentes grupos de vertebrados marinhos. A

diversidade de peixes pelágicos e demersais, aliada à disponibilidade de presas em diferentes estratos da coluna d'água, torna a região particularmente relevante para predadores de topo, como *Sotalia guianensis*, *Pontoporia blainvillei*, *Spheniscus magellanicus*, *Larus dominicanus* e *Chelonia mydas*, espécies que compõem o foco deste estudo (Kehrig *et al.*, 2004; Seixas *et al.*, 2007). Assim, compreender as características oceanográficas, ecológicas e antrópicas da Bacia de Santos é fundamental para interpretar adequadamente os padrões de bioacumulação de mercúrio observados nos organismos analisados, uma vez que sua exposição depende diretamente da qualidade ambiental e da dinâmica trófica da região.

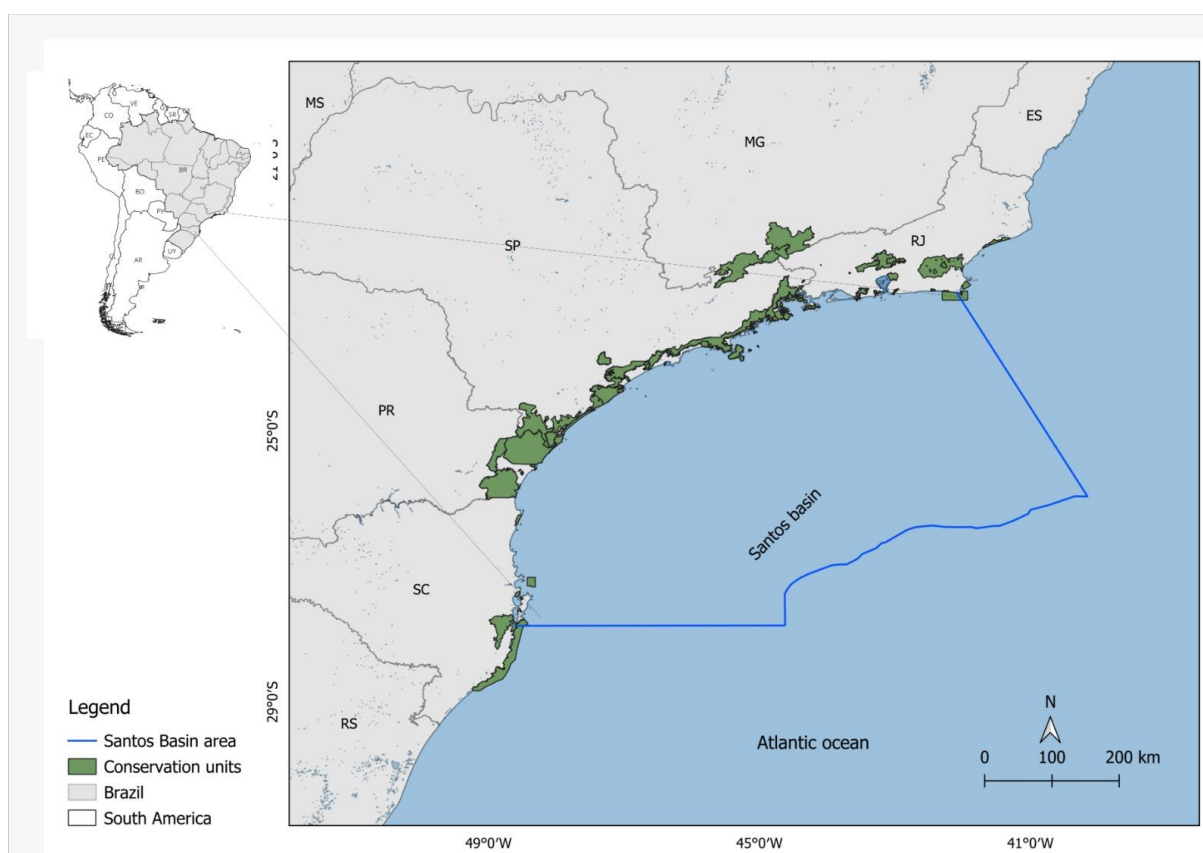


Figura 1 - Área de estudo referente a Bacia de Santos onde foram coletadas todas as amostras analisadas. Abrange os estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina.

3.2. Coleta, conservação das amostras e técnicas analíticas

As amostras de fígado de diversas espécies de tetrápode marinhos foram coletadas em diferentes sítios da Bacia de Santos, entre 2016 e 2023. São oriundas do Projeto de Monitoramento de Praias da Bacia de Santos (PMP-BS) em parceria com a Petrobras, projeto de monitoramento ambiental exigido pelo IBAMA no licenciamento ambiental de atividades envolvendo produção e escoamento de petróleo e gás natural no pré-sal.

As amostras, provenientes de indivíduos que morreram em um curto período após o atendimento veterinário ou que morreram durante o transporte, foram armazenadas em ultracongeladores a -80°C .

Para a determinação de MeHg, as amostras inicialmente foram submetidas a processo de extração e, em seguida, os analitos determinados por AFS (Millennium Merlin, P.S.Analytical) com geração de vapor frio acoplada a HPLC (123 Pump, Gilson).

3.3. Amostras, seleção e liofilização

As amostras avaliadas consistiram em fígados de tetrápodes marinhos (mamíferos, aves e quelônios), obtidos por recolhimento de animais encalhados e por amostragem de monitoramento regional na Baía de Santos. A seleção das amostras para especificação de mercúrio privilegiou indivíduos representativos de diferentes concentrações dos analitos de interesse, com o objetivo de relacionar diferenças de teor de metilmercúrio com fatores ecológicos e ambientais, além de tentar entender a relação entre mercúrio e selênio. Cada amostra foi processada em triplicata para permitir avaliação de repetibilidade analítica e controle de variabilidade experimental.

Inicialmente, foram pesados entre 3 e 5 g de amostra macerada, previamente armazenada a -80°C por, no mínimo, uma hora. As amostras congeladas foram transferidas para liofilização e mantidas a -40°C , sob vácuo de 0,12 mbar, por 72 horas ou até a obtenção de massa constante. Após a liofilização, as amostras foram acondicionadas em dessecador pressurizado até a realização do procedimento de digestão, garantindo estabilidade e evitando reabsorção de umidade.

3.4. Métodos para análise e quantificação de mercúrio total (HgT)

As amostras foram submetidas à digestão ácida assistida por micro-ondas. Inicialmente, tubos de digestão contendo 15 mL de ácido nítrico (HNO_3) foram aquecidos em sistema de micro-ondas a 170°C por 5 minutos, mantendo-se nessa temperatura por mais 5 minutos. Em seguida, a temperatura foi elevada a 200°C por 1 minuto e mantida por 15 minutos, sob potência máxima de 90% da capacidade do equipamento ($\approx 1100\text{ W}$), garantindo que a pressão interna não ultrapassasse 35 bar. Posteriormente, adicionaram-se 15 mL de água ultrapura a cada tubo, repetindo-se o mesmo ciclo de aquecimento.

Cerca de 500 mg de amostra in natura foram então transferidos para frascos de digestão, aos quais se adicionaram 2 mL de HNO₃ concentrado (65% v/v) e 6 mL de HCl concentrado (37% v/v), ambos destilados. Os ácidos permaneceram em contato com a amostra por, no mínimo, uma noite à temperatura ambiente, favorecendo a pré-digestão da matriz. Em seguida, as amostras foram digeridas em micro-ondas a 170 °C por 17 minutos, mantendo-se nessa temperatura por mais 5 minutos, sob potência máxima de 80% (≈980 W) e pressão máxima de 30 bar. Posteriormente, a temperatura foi elevada a 200 °C por 3 minutos e mantida por mais 20 minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, os extratos digeridos foram transferidos para tubos de centrifuga de 15 mL.

Para assegurar que todo o mercúrio estivesse presente na forma inorgânica oxidada (Hg²⁺), condição necessária para a análise instrumental, foi realizada uma etapa de oxidação química com solução de KBr (1,19% m/v) e KBrO₃ (0,28% m/v). A solução teste foi preparada transferindo-se 2 mL do extrato digerido para um tubo de 50 mL, adicionando-se 2 mL da solução oxidante e 2,5 mL de HCl concentrado. A manutenção da coloração amarela por, no mínimo, 30 minutos foi utilizada como critério para confirmar a oxidação completa do mercúrio, sendo adicionados volumes adicionais da solução de KBr/KBrO₃ quando necessário. Após esse período, o excesso de oxidante foi neutralizado com solução de cloridrato de hidroxilamina (12% m/v), adicionando-se 15 µL para cada 1 mL da solução oxidante utilizada. As amostras digeridas foram diluídas em três pseudorréplicas, transferindo-se 0,5 mL do extrato para tubos de 15 mL e ajustando-se o volume com solução do branco de diluição, preparada com a mesma proporção de KBr/KBrO₃ e HCl da solução teste, seguida da adição proporcional de cloridrato de hidroxilamina. Após 30 minutos de estabilização, as amostras foram encaminhadas para análise.

A determinação do HgT foi realizada por espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (CV-AFS). As soluções padrão foram preparadas com a mesma composição química das amostras, assegurando compatibilidade matricial. A redução de Hg²⁺ para Hg⁰ foi realizada online por meio de solução de SnCl₂ a 2% (m/v) em HCl a 10% (v/v).

O controle de qualidade analítica incluiu a aceitação de desvio-padrão relativo inferior a 15% para leituras consecutivas de soluções padrão, recuperações entre 90 e 110% para o Padrão de Verificação Inicial (PVI) e para o Padrão de Verificação Contínua (PVC), analisado a cada 10 amostras, além da análise de branco analítico a cada 20 amostras (valores < LoQ). A exatidão do método foi avaliada por meio de adições de mercúrio (*spike*) em amostras previamente digeridas (MS e MSD), utilizando amostras com concentrações conhecidas. Os limites de

quantificação foram determinados conforme as diretrizes do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO).

3.5. Métodos para análise e quantificação de selênio (Se)

A determinação das concentrações de selênio (Se) em fígado teve como objetivo subsidiar a interpretação ecotoxicológica dos mecanismos de interação entre Hg e Se em vertebrados marinhos. O procedimento de pré-digestão utilizado foi o mesmo descrito para HgT.

Posteriormente, foram adicionados aproximadamente 175 mg da amostra liofilizada a cada tubo, juntamente com 8 mL de HNO₃ bidestilado concentrado (65% m/v), mantendo-se o contato ácido por, no mínimo, 15 minutos. As amostras foram então submetidas à digestão em micro-ondas, aquecendo-se a 170 °C por 10 minutos, com manutenção por mais 5 minutos, seguida de elevação da temperatura a 200 °C por 3 minutos e manutenção por 20 minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, os extratos digeridos foram transferidos para tubos de centrífuga de 50 mL e completados com água ultrapura. Em seguida, alíquotas de 5 mL do extrato foram transferidas para tubos de 15 mL e diluídas com 10 mL de água ultrapura, em três pseudorréplicas.

A quantificação de selênio foi realizada por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). O equipamento foi otimizado diariamente por meio de solução de ajuste (“*tune*”) contendo 10 µg·L⁻¹ de Se em HNO₃ a 2% (v/v). As amostras digeridas foram analisadas utilizando padronização interna, com análise de padrão de verificação juntamente com o padrão de menor concentração da curva analítica a cada 10 amostras consecutivas.

Para correção de possíveis interferências provenientes da matriz, foi introduzida *online* uma solução contendo padrões internos (PI), permitindo o monitoramento e a correção de variações instrumentais e matriciais ($\leq 30\%$). Quando necessário, interferências espectrais foram corrigidas por meio do uso de Célula de Colisão e Reação (CCT), empregando gás hélio, ou por meio de equações de correção apropriadas. A exatidão do método foi avaliada com base em recuperações inferiores a 25% de variação em amostras fortificadas (*spikes*), as quais foram analisadas a cada 20 amostras.

Como material de referência, foi utilizada uma amostra certificada de fígado bovino (MR-05/12: Tecido animal – Fígado Bovino, EMBRAPA – Brasil), analisada a cada 20 amostras dos tetrápodes marinhos, juntamente com testes de recuperação. O limite aceitável de desvio-padrão relativo entre pseudorréplicas foi de 20%, e os limites de quantificação foram determinados

conforme as diretrizes do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO).

3.6. Métodos para análise e quantificação de metilmercúrio (MeHg)

3.6.1. Reagentes, materiais e condições de armazenamento

Foram utilizados reagentes de grau analítico ou HPLC conforme disponibilidade e boas práticas analíticas. Os reagentes utilizados contam com ácido clorídrico (HCl, 37% v/v) adquirido de Sigma-Aldrich Corporation, brometo de potássio (KBr), sulfato de hidrazina (em forma de sulfato, $N_2H_4 \cdot H_2SO_4$), boroidreto de sódio ($NaBH_4$) e tolueno de Dinâmica Química, L-Cisteína de Cayman Chemical Company, bromato de potássio ($KBrO_3$) de Êxodo Científica, hidróxido de sódio (NaOH) de MP Biomedicals, metanol grau HPLC de J.T. Baker (Avantar Science Central) e padrões certificados de mercúrio e metilmercúrio de SpecSol e Sigma-Aldrich, respectivamente.

Todas as soluções estoque foram protegidas da luz e armazenadas sob refrigeração (≈ 4 °C) quando aplicável; soluções redutoras instáveis ($NaBH_4$) foram preparadas diariamente para minimizar perda de eficiência por decomposição. As soluções de fase móvel e demais soluções aquosas foram filtradas em membrana 0,45 μm antes de uso para minimizar particulado. Para filtração das amostras finalizadas foi adotado filtro PTFE 0,45 μm por sua resistência química a tolueno e baixa tendência à adsorção de espécies metálicas. As concentrações utilizadas para os diferentes reagentes em suas respectivas soluções e demais parâmetros operacionais podem ser observados nos apêndices.

A instrumentação empregada incluiu o cromatógrafo líquido (HPLC, Gilson 123 Pump com válvula de injeção manual Rheodyne e loop de 50 μL), coluna analítica C18 (Phenomenex, 250 \times 4,6 mm, 5 μm) com pré-coluna de proteção, gerador de vapor frio para CVG e detector de fluorescência atômica (P. S. Analytical Millennium Merlin), centrífuga de bancada (CHRIST SL-700 Alpha 1-2 LDplus Solab Científica), cuba ultrassônica, agitador com aquecimento e sistema de filtração Nalgene. Todos os instrumentos e materiais consumíveis empregados encontram-se alocados no Centro de Estudos Ambientais (CEA/UNESP, Rio Claro).

3.6.2. Preparo de amostra — procedimentos e justificativas

O protocolo de preparo do tecido hepático foi adaptado de Bramanti *et al.* (2005) para acomodar as características da matriz biológica e as limitações e potencialidades instrumentais do laboratório, preservando a integridade da especiação. Trata-se de um protocolo específico para extração de metilmercúrio. As etapas foram realizadas conforme descrito a seguir.

Primeiramente procedeu-se à pesagem de massa de tecido liofilizado entre 0,1 g e 1,5 g conforme disponibilidade e teor de Hg total estimado, de modo a garantir sensibilidade analítica adequada sem saturação do sistema. A escolha da massa segue o princípio de otimização entre sensibilidade e representatividade da amostra; massas maiores foram empregadas em amostras com teor esperado mais baixo, baseado nos teores já conhecidos de Hg total.

Em seguida, adicionaram-se 11,5 mL de água Milli-Q e 11,5 mL de HCl bidestilado com o objetivo de promover a desagregação da matriz orgânica e a liberação das espécies de mercúrio de sítios de ligação a biomoléculas e frações minerais. A acidez controlada é crítica, pois além de favorecer a ruptura de ligações, mantém a estabilidade química das espécies liberadas e minimiza a volatilização de mercúrio que ocorre com maior probabilidade em meios neutro ou básicos (Bloom, 1989; US EPA, 2002; Clarkson & Magos, 2006; Hintelmann, 2010).

Para acelerar a extração e limitar o tempo de contato com altas temperaturas, os tubos foram aquecidos em banho-maria a 100 °C por 10 minutos; o aquecimento foi feito em banho para evitar contato direto com blocos secos que podem provocar deformação de recipientes plásticos e possível contaminação por liberação de compostos do material do tubo. Após aquecimento os tubos foram deixados para resfriar até temperatura ambiente antes de prosseguir.

A etapa de extração em fase orgânica seguiu com adição de 15 mL de tolueno à amostra ácida, seguida de sonicação em cuba ultrassônica por 20 minutos para assegurar íntima dispersão das fases e ampliação da área de contato, permitindo a transferência preferencial do MeHg, especialmente na forma de MeHgCl em meio ácido, para a fase orgânica apolar. Esse procedimento foi complementado por centrifugação a 4.500 rpm por 25 minutos para promover a separação física eficiente das fases. A seletividade da extração em tolueno decorre da maior solubilidade de compostos organometálicos apolares em solventes orgânicos, enquanto Hg²⁺ permanece predominantemente na fase aquosa.

Uma segunda extração foi realizada sobre o resíduo com 7,5 mL de tolueno, repetindo sonicação e centrifugação, para maximizar o rendimento de extração. Em cada extração a fase orgânica foi separada e submetida à retroextração para a fase aquosa na presença de L-Cisteína 0,1% (adicionou-se 5 mL de solução de cisteína ao sobrenadante orgânico), seguida de agitação

por 10 minutos e centrifugação por mais 10 minutos; a cisteína forma complexos estáveis com MeHg que migraram para a fase aquosa, tornando o analito compatível com a fase móvel aquosa do HPLC e reduzindo perdas por adsorção na coluna cromatográfica. O extrato aquoso final foi diluído em proporção 1:1 com a fase móvel inicial (solução de L-Cisteína 5 mmol·L⁻¹) e filtrado em PTFE 0,45 µm antes da injeção. A filtragem prévia busca proteger a coluna de partículas e garantir repetibilidade de injeção. O método foi adaptado de Bramanti *et al.* (2005), que, por sua vez, o desenvolveu com base em Westoo (1966), Medina *et al.* (1993), Lorenzo *et al.* (1999) e Rocha *et al.* (2001).

No delineamento experimental previu-se o controle rigoroso de pausas e armazenamentos: quando havia necessidade operacional de interromper o processo (por ex. limitação da centrífuga), os extratos foram mantidos sob refrigeração e protegidos da luz por períodos curtos, de modo a minimizar alterações na especiação. Pausas prolongadas em meio altamente ácido sem posterior recondicionamento foram evitadas, por risco de transformação das espécies. O pH das amostras variou entre 3,1 e 3,4. O esquema resumindo o preparo de amostra utilizado pode ser observado na Figura 2.

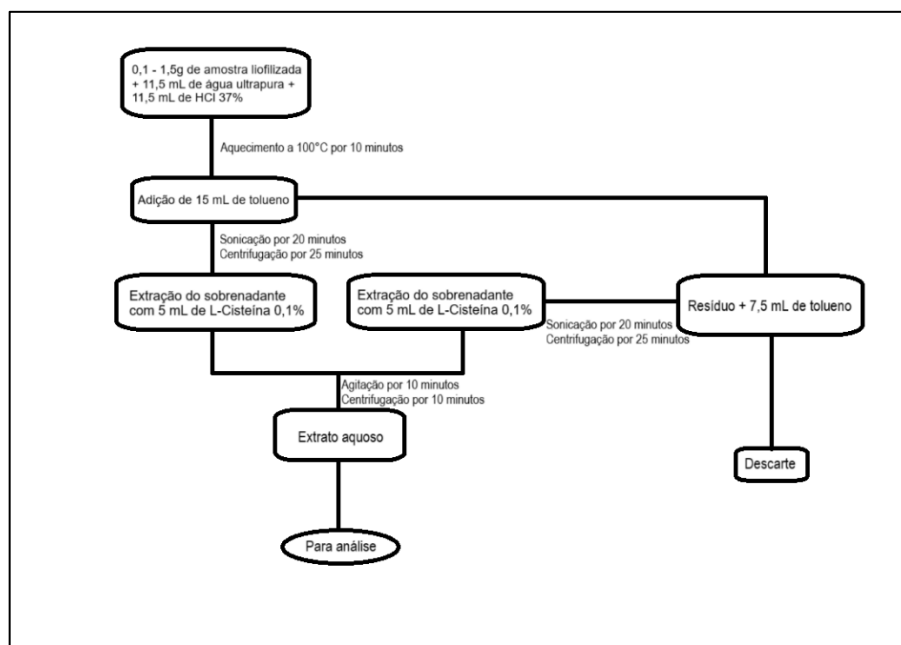


Figura 2 - Esquema do preparo de amostra utilizado para quantificação de MeHg. Adaptado de Bramanti *et al.* (2005).

3.6.3. Arranjo analítico e justificativa metodológica

A separação cromatográfica foi realizada em coluna C18 reversa, com fase móvel A composta de L-Cisteína 5 mmol·L⁻¹ e fase móvel B composta por 95% metanol e 5% de solução de

cisteína $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. O gradiente adotado iniciou por 2,5 minutos isocráticos em A, evoluiu em 2,5 minutos até 75% da solução B (participação orgânica elevada necessária para eluir MeHg) e incluiu etapa de limpeza com 100% B para redução do efeito de memória. Essa estratégia de eluição modulada permitiu separar analiticamente Hg^{2+} (elui primeiro por ser mais polar) de MeHg (elui mais tardiamente por caráter menos polar), maximizar resolução e reduzir interferências provenientes de compostos coextraídos da matriz. O gradiente para 75% da solução B demonstrou os melhores resultados para a separação de MeHg, mesmo quando comparado com os 50% sugeridos no trabalho de Bramanti *et al.* (2005). Os tempos de retenção para Hg e MeHg foram de 4 minutos e 6 minutos após o início da corrida, respectivamente. Em algumas amostras houve a presença de um terceiro pico ao final da corrida cromatográfica, aos 13 minutos, possivelmente correspondente a alguma outra espécie orgânica de mercúrio coextraída. As condições exatas de fluxo, tempos de retenção observados e demais parâmetros instrumentais são apresentados em apêndice técnico, assim como cromatogramas exemplificando picos de retenção para Hg e MeHg.

A detecção foi realizada por geração de vapor frio com oxidação prévia ($\text{KBr}/\text{KBrO}_3 + \text{HCl} \rightarrow \text{Br}_2$) convertendo as espécies a uma forma homogênea (Hg^{2+}) seguida de redução contínua com $\text{NaBH}_4/\text{N}_2\text{H}_4/\text{NaOH}$ para gerar Hg^0 deslocado para a fase gasosa e quantificado por fluorescência atômica (CVG-AFS). A sequência oxidação \rightarrow redução garante resposta comparável do detector às espécies separadas pela HPLC e é consistente com protocolos clássicos de CVG-AFS para especiação de Hg (Bramanti *et al.*, 2005). Soluções redutoras foram preparadas diariamente devido à instabilidade conhecida do NaBH_4 ; a eficiência do gerador de vapor foi monitorada através de padrões intermediários durante as corridas. O uso de hidrazina serve para controlar o potencial “quenching effect” (redução/extinção da fluorescência). Um esquema do procedimento analítico pode ser observado na Figura 3.

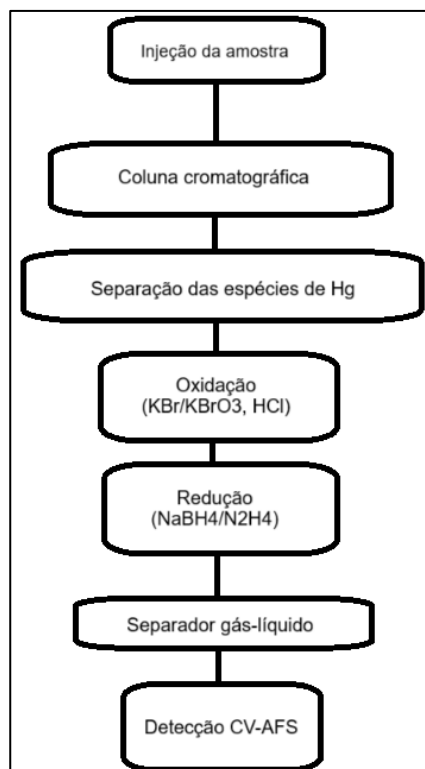


Figura 3 – Esquema de análise de amostras para quantificação de MeHg no fígado de tetrápodes marinhos.

3.6.4. Verificação de artefatos e controle de qualidade analítica

Para assegurar que os picos atribuídos a MeHg não fossem artefatos, adotaram-se controles integrados ao protocolo: inclusão de brancos de reagente e brancos de corrida, preparação de curvas de calibração em matriz compatível (cisteína) e execução de ensaios de recuperação via adição conhecida de analito (*spike*) em diferentes níveis.

A identidade cromatográfica do pico de MeHg foi verificada mediante crescimento do sinal com adição de padrão (*spike*) e comparação de tempos de retenção entre padrões e amostras; também se realizaram testes para detectar *carry-over* (injecção de branco imediato após padrão elevado) e testes de coeluição por variações instrumentais controladas no gradiente. A repetibilidade foi avaliada por triplicatas, aceitando-se preferencialmente como critério prático $RSD \leq 20\%$ para aceitação de uma série.

Os limites analíticos foram estimados segundo recomendações IUPAC e, para o método empregado, aproximaram-se de $3 \times 10^{-3} \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ($3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$) e $9,6 \times 10^{-3} \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ($9,6 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$) para o limite de detecção (LoD) e para o limite de quantificação (LoQ) de MeHg, respectivamente. Os resultados de recuperação obtidos por *spike* foram próximos a $93\% \pm 14\%$, o que é compatível

com literatura e com o método original adaptado e não se distancia do valor obtido pelos autores que desenvolveram o método ($85\% \pm 3\%$).

3.6.5. Tratamento de dados abaixo do limite de detecção

As amostras que apresentaram concentrações de metilmercúrio abaixo do limite de detecção do método analítico foram consideradas como dados censurados à esquerda ($< LD$). Esses valores não foram substituídos por zero ou por frações arbitrárias do limite de detecção, a fim de evitar vieses de subestimação ou superestimação das concentrações. Dessa forma, a interpretação dos resultados baseou-se principalmente nas médias das concentrações de MeHg, assim como na frequência de detecção e na amplitude das concentrações quantificáveis. Para o caso de *C. mydas*, onde a frequência de detecção é menor (30%), a média deve ser analisada com cautela, considerando, preferencialmente o valor da mediana obtido, nesse caso, a média aritmética foi utilizada apenas de forma complementar e interpretada com cautela.

3.6.6. Tratamento estatístico e integração com dados de Se e Hg total

As concentrações de Hg total e Se (obtidas previamente por AFS e ICP-MS, respectivamente, por membros do grupo) foram tratadas em conjunto com as medidas de MeHg para avaliações ecotoxicológicas e modelagem. Os dados foram transformados (\log_{10}) quando necessário e verificados quanto aos pressupostos da regressão linear simples (normalidade dos resíduos por Shapiro-Wilk, homocedasticidade por Breusch-Pagan, independência dos resíduos por Durbin-Watson e análise gráfica de resíduos). A regressão linear foi aplicada para quantificar a relação entre Hg e Se, tal qual MeHg e Se por espécie, interpretando-se r^2 e significância ($p < 0,05$) no contexto biológico e metodológico. A justificativa para a escolha desses testes foi baseada na necessidade de assegurar validade inferencial e detectar possíveis violações de pressupostos que exigiriam modelos alternativos.

O cálculo da razão molar Se:Hg foi feito através da fórmula proposta por Burger *et al.* (2012): Razão molar Se:Hg = $(C_{Se}/\text{Massa molar}_{Se}) \div (C_{Hg}/\text{Massa molar}_{Hg})$. Essa razão é amplamente utilizada como indicador do potencial protetor do Se frente à toxicidade do Hg, onde valores Se:Hg > 1 indicam condição potencialmente protetora, enquanto razões < 1 sugerem risco de toxicidade por excesso de Hg.

3.6.7. Considerações sobre aplicações e limitações

As adaptações necessárias ao método original (ajuste do gradiente, parâmetros de condicionamento, escolha de filtros, frequência de preparo de reagentes instáveis) resultaram em um protocolo que é robusto para análise de MeHg em fígado de vertebrados marinhos nas condições do CEA/UNESP. O método demonstrou potencial aplicação em estudos de biomonitoramento em ecossistemas costeiros. Contudo, reconhece-se a necessidade contínua de otimização e validação adicional, especialmente para quantificação de outras formas orgânicas de Hg eventualmente coextraídas (por ex., EtHg), e para assegurar comparabilidade plena com metodologias de referência. Além disso, a interpretação ecotoxicológica deve considerar limitações como limites analíticos e possíveis variabilidades de matriz.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Quantificação de mercúrio total e selênio

A quantificação das concentrações de mercúrio total (HgT) e selênio (Se) em fígado constitui um passo fundamental para a interpretação ecotoxicológica dos resultados deste estudo, uma vez que esses elementos estão diretamente envolvidos nos processos de bioacumulação, transformação metabólica e detoxificação em vertebrados marinhos (Palmisano *et al.*, 1995; Wagemann *et al.*, 2000; Kunito *et al.*, 2004). O fígado, por ser um órgão metabolicamente ativo, pode desempenhar papel central tanto na desmetilação do metilmercúrio quanto na interação bioquímica entre Hg e Se, refletindo a história de exposição e os mecanismos fisiológicos de resposta dos organismos analisados (Palmisano *et al.*, 1995; Kehrig *et al.*, 2004; Seixas *et al.*, 2007).

Dessa forma, a apresentação inicial das concentrações de HgT e Se permite estabelecer um panorama geral da carga desses elementos nas diferentes espécies estudadas, servindo como base para a interpretação dos resultados de especiação de mercúrio, das razões molares Se:Hg e das análises de correlação discutidas nos tópicos subsequentes. Os valores obtidos para HgT e Se no fígado das espécies analisadas encontram-se apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentrações médias de mercúrio total (HgT) e selênio (Se) medidas para as espécies *Larus dominicanus*, *Spheniscus magellanicus*, *Chelonia mydas*, *Pontoporia blainvillei* e *Sotalia guianensis* (mínimo-máximo).

Espécie	Local de coleta	N amostral	HgT ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{d.w.}$)	Se ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{d.w.}$)
<i>L. dominicanus</i>	Sudeste do Brasil	20	5,24 ±5,11 (0,39–16,35)	8,30 ±4,44 (3,35–19,14)
<i>S. magellanicus</i>	Sudeste do Brasil	20	15,16 ±17,68 (0,29–71,31)	21,92 ±26,25 (6,80–128,79)
<i>C. mydas</i>	Sudeste do Brasil	20	35,99 ±109,05 (0,10–463,05)	13,29 ±10,32 (0,96–40,35)
<i>P. blainvillei</i>	Sudeste do Brasil	20	7,18 ±9,60 (0,53–33,12)	9,82 ±8,58 (1,82–30,90)
<i>S. guianensis</i>	Sudeste do Brasil	19	78,82 ±91,90 (0,25–282,89)	24,43 ±35,75 (0,87–142,83)

As concentrações de mercúrio total (HgT) e selênio (Se) no fígado apresentaram elevada variabilidade intraespecífica e interespecífica, sem evidenciar um padrão consistente quando analisadas a partir das médias por espécie ou por grupo taxonômico. Observa-se que tanto HgT quanto Se exibiram amplas faixas de variação dentro de cada espécie, refletidas nos elevados desvios-padrão e na amplitude entre os valores mínimos e máximos, o que indica forte heterogeneidade individual na acumulação desses elementos.

Diferentemente do esperado para estudos ecotoxicológicos baseados exclusivamente na posição trófica, os valores médios de HgT não foram sistematicamente mais elevados em predadores de topo. Espécies pertencentes a diferentes grupos taxonômicos apresentaram concentrações médias e máximas sobrepostas, sugerindo que a acumulação de HgT no fígado não está diretamente associada apenas à posição trófica, mas também possivelmente a fatores como histórico individual de exposição, idade, estado fisiológico, dieta específica e processos metabólicos de transformação e detoxificação.

De forma semelhante, as concentrações de selênio não apresentaram um padrão claro de variação entre as espécies ou grupos analisados, tampouco uma relação visual direta com os valores de HgT. Embora ambas as variáveis apresentem amplitudes elevadas, a ausência de um padrão consistente entre HgT e Se nesta análise descritiva inicial sugere que a interação entre esses elementos não se expressa de maneira simples a partir das concentrações absolutas, reforçando a necessidade de abordagens integrativas, como a análise de razões molares e correlações estatísticas, discutidas nos tópicos subsequentes.

A elevada variabilidade observada, especialmente em espécies como *Chelonia mydas* e *Sotalia guianensis*, indica que poucos indivíduos com concentrações extremamente altas exercem forte influência sobre os valores médios, ressaltando a importância de interpretar as médias com cautela e considerar a distribuição completa dos dados. Nesse sentido, a apresentação conjunta de média, desvio-padrão e intervalo de variação fornece um panorama mais realista da carga de HgT e Se no fígado das espécies estudadas.

Esses resultados iniciais reforçam que a dinâmica de acumulação de HgT e Se em vertebrados marinhos é complexa e multifatorial, não sendo adequadamente explicada apenas por agrupamentos taxonômicos ou tróficos. Assim, a quantificação desses elementos no fígado estabelece a base necessária para a interpretação dos resultados de especiação de mercúrio, das razões molares Se:Hg e das análises de correlação apresentadas a seguir, que permitem uma

compreensão mais refinada dos mecanismos fisiológicos envolvidos na exposição e detoxificação do mercúrio.

4.2. Quantificação de metilmercúrio

No geral, as concentrações de MeHg encontradas para as espécies analisadas foi condizente com o que se tem na literatura (vide referências na Tabela 2), com exceção do gaivotão (*L. dominicanus*), cujo nenhum trabalho foi realizado para o fígado dessa espécie. A média da concentrações por espécie pode ser observada na Figura 4. Um exemplo de cromatograma obtido para a especiação de mercúrio pode ser observado na Figura 5. As concentrações encontradas podem ser observadas na Tabela 2, juntamente com resultados de estudos realizados para as espécies em questão e para outras espécies de cetáceos a fim de comparação.

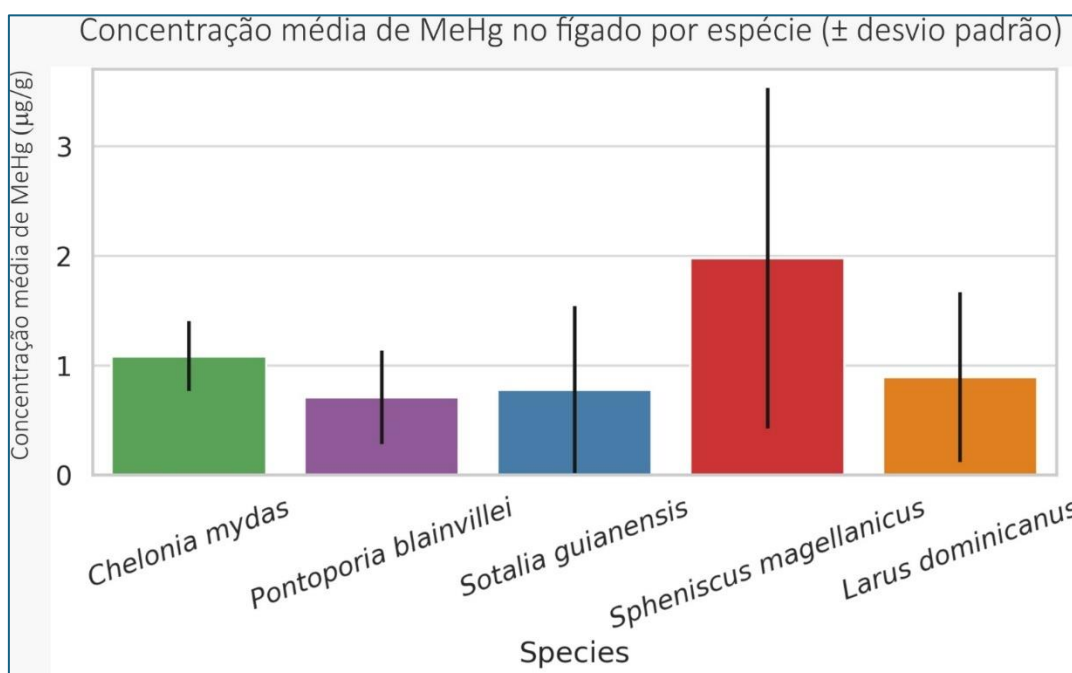


Figura 4 – Concentração hepática média de MeHg para as espécies estudadas.

As concentrações médias de MeHg no fígado variaram entre as espécies, com valores mais altos em *Spheniscus magellanicus* e mais baixos em *Pontoporia blainvillei*. As barras de erro representam o desvio padrão. No cromatograma, além dos picos de Hg inorgânico e MeHg e seus tempos de retenção, é possível observar um terceiro pico de origem desconhecida, que será discutido mais adiante no texto.

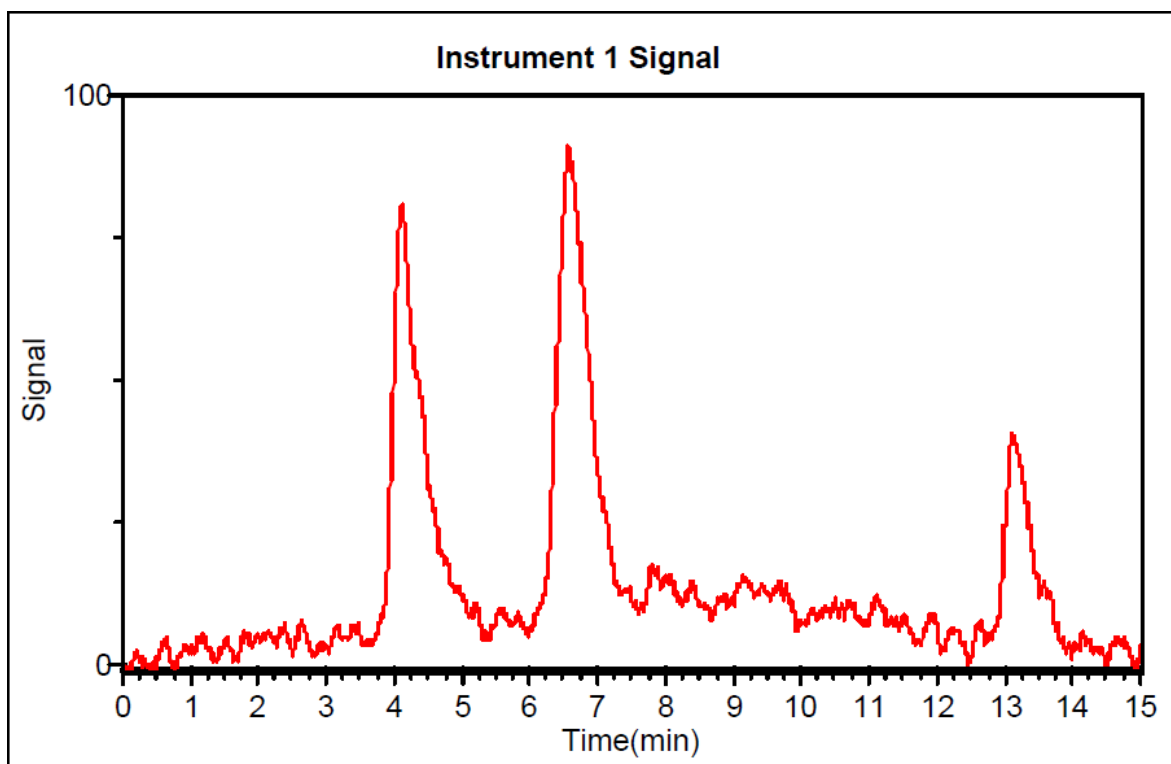


Figura 5 - Exemplo de cromatograma gerado pela análise da amostra PT2710 (*Pontoporia blainvillei*), mostrando os tempos de retenção para Hg (~4 minutos), MeHg (~6,5 minutos) e terceiro pico desconhecido (~13 minutos).

Tabela 2 - Concentração média de MeHg (incluindo desvio-padrão, valores mínimos, máximos de %MeHg em relação ao Hg total, quando disponível) para as cinco espécies estudadas e espécies comparativas (d.w. = peso seco; w.w. = peso úmido).

Espécie	Local	n	MeHg médio (mín-	Observações	Referência
			máx) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e %MeHg		
<i>Larus dominicanus</i>	Sudeste do Brasil	10	0,89 \pm 0,78 (0,07–2,64) d.w. 22,3 \pm 20% do HgT (9,2–75,9%)	Frequência de detecção = 100%	Este estudo
<i>Spheniscus magellanicus</i>	Rio Grande do Sul, Brasil	22	1,31 \pm 0,73 (0,46–3,26) d.w. 53,1% do HgT	Juvenis	Kehrig <i>et al.</i> , 2015
<i>Spheniscus magellanicus</i>	Sudeste do Brasil	10	1,97 \pm 1,56 (0,04–4,36) d.w. 28,4 \pm 32,1% do HgT (2,3–83,6%)	Frequência de detecção = 100%	Este estudo

Espécie	Local	n	MeHg médio (mín- máx) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e %MeHg		Observações	Referência
<i>Chelonia mydas</i>	Mar Mediterrâneo	6	MeHg estimado 0,05–0,1 d.w.		Juvenis e subadultos. Estimou MeHg com base em %MeHg.	Godley <i>et al.</i> (1999)
<i>Chelonia mydas</i>	Baja California, Mexico	8	0,0002–0,027 d.w.		Inclui adultos e imaturos	Kampalath <i>et al.</i> (2006)
<i>Chelonia mydas</i>	Sul da China	14	0,15 d.w.		Inclui adultos e imaturos	Ng <i>et al.</i> , 2018
<i>Chelonia mydas</i>	Bahia, Brasil	22	Mediana 0,055 ± 0,028 (0,00077–0,416) w.w. 8,8 ± 3,5% (0,1–58,7%) do HgT			Rodriguez <i>et al.</i> , 2020
<i>Chelonia mydas</i>	Sudeste do Brasil	3	1,08 ± 0,32 (0,90–1,46) d.w. 13,7 ± 3,3% (10,4–17%) do HgT		Mediana 13,82 – mais relevante considerando frequência de detecção = 30%	Este estudo
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Sudeste do Brasil	18	OrgHg mediana 0,75 (0,15–2,22) d.w.		OrgHg usado como proxy confiável; relação estreita Hg–Se	Seixas <i>et al.</i> , 2008
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Sul do Brasil	13	OrgHg mediana 1,25 (0,05–4,21) d.w.		OrgHg usado como proxy confiável; relação estreita Hg–Se	Seixas <i>et al.</i> , 2008
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Rio de Janeiro, Brasil	19	0,858 (0,11–1,92) w.w.		Altas concentrações, forte biomagnificação; MeHg correlacionado à idade	Lailson-Brito <i>et al.</i> , 2012

Espécie	Local	n	MeHg médio (mín- máx) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e %MeHg		Observações	Referência
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Rio de Janeiro, Brasil	11	MeHg _{juv} = 0,19 w.w. MeHg _{adulto} = 0,608 w.w.		Juvenis e adultos	Kehrig <i>et al.</i> , 2016
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Sudeste do Brasil	8	0,71 ± 0,43 (0,16–1,4) d.w. 9,4 ± 8,6% do HgT (2,1–25,7%)		Frequência de detecção = 80%	Este estudo
<i>Sotalia guinensis</i>	Rio de Janeiro, Brasil	29	0,78 d.w. 9% do HgT		Calculado a partir da % do Hg total medido	Kehrig <i>et al.</i> , 2008
<i>Sotalia guinensis</i>	Rio de Janeiro, Brasil	6	1,68 ± 1,09 d.w. 18 ± 8% do HgT		Analizou MeHg, Hg e Se na cadeia trófica	Seixas <i>et al.</i> , 2014
<i>Sotalia guinensis</i>	Rio de Janeiro, Brasil	14	MeHg _{juv} = 0,205 w.w. MeHg _{adulto} = 0,635 w.w.		Juvenis e adultos	Kehrig <i>et al.</i> , 2016
<i>Sotalia guinensis</i>	Rio de Janeiro, Brasil	81	MeHg _{antes} = 0,87 ± 0,8 (0,01–3,00) d.w. MeHg _{durante} = 0,43 ± 0,79 (0,02–2,61) d.w.		As amostras foram divididas em antes (n=61) e durante (n=20) evento incomum de mortalidade	Manhães <i>et al.</i> , 2021
<i>Sotalia guinensis</i>	Sudeste do Brasil	8	0,78 ± 0,76 (0,06–2,3) d.w. 0,5 ± 0,5% do HgT (0,02–1,8%)		Frequência de detecção = 80%	Este estudo
Beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>)	Ártico	150 (77 oeste, 73 leste)	Oeste = 1,87 ± 1,15 w.w. Leste = 1,39 ± 0,54 w.w.		MeHg ~6–12% do Hg, intensa demetilação	Wagemann <i>et al.</i> , 1998

Espécie	Local	n	MeHg médio (mín- máx) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e %MeHg		Observações	Referência
Narval (<i>Monodon monoceros</i>)	Ártico	121	Oeste = 1,03 ±0,88		Alta biomagnificação	Wagemann <i>et al.</i> , 1998
		(66 oeste, 55 leste)	w.w. Leste = 1,03 ±0,42 w.w.			
Golfinho- corcunda- indopacífico (<i>Sousa chinensis</i>)	Sul da China	28	0,79 ±0,61 d.w.		Espécie de cetáceo costeira do Oceano Índico e Pacífico Occidental	Gui <i>et al.</i> , 2014

Concentrações de MeHg para as espécies *Larus dominicanus*, *Spheniscus magellanicus*, *Chelonia mydas*, *Pontoporia blainvillei*, *Sotalia guianensis*, *Delphinapterus leucas*, *Monodon monoceros* e *Sousa chinensis*. As últimas três espécies não fazem parte do estudo em questão, estando presentes na tabela a fim de comparação com as espécies alvo. Todas as amostras da tabela são de fígado. Desvio-padrão (\pm SD) calculado como desvio-padrão amostral (n-1).

As concentrações encontradas, mesmo que semelhantes aos outros estudos realizados para esses organismos, ressaltam a relevância da presença de metilmercúrio em todas as espécies estudadas. A concentração de MeHg hepático variou entre as espécies e, diferentemente do esperado, as mais elevadas não foram as observadas nas espécies de cetáceos (*P. blainvillei* e *S. guianensis*), mas sim para as demais espécies, em especial para o pinguim-de-magalhães (*S. magellanicus*) que apresentou a maior média mesmo tendo presente apenas representantes juvenis, o que implicaria em menor tempo de exposição à bioacumulação e biomagnificação.

4.3. Metilmercúrio no gaivotão (*Larus dominicanus*) e no pinguim-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*)

Para as aves marinhas analisadas, *L. dominicanus* e *S. magellanicus*, as concentrações de MeHg observadas foram inesperadamente elevadas quando comparadas aos cetáceos estudados, especialmente no caso do pinguim-de-magalhães, que apresentou a maior concentração média de MeHg dentre todos os grupos analisados ($1,97 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). Para *L. dominicanus*, as concentrações foram próximas às registradas para os cetáceos deste estudo e da literatura (Kehrig *et al.*, 2008; Seixas *et al.*, 2008; Lailson-Brito *et al.*, 2012; Seixas *et al.*, 2014; Manhães

et al., 2021), ainda que inexistam estudos prévios de especiação de MeHg no fígado dessa ave, o que limita comparações diretas.

Em ambos os táxons, o percentual de MeHg em relação ao HgT foi o mais elevado entre todos os grupos estudados, sendo de 22% para o gaivotão e de 28% para o pinguim. Adicionalmente, essas espécies apresentaram a maior amplitude intraespecífica de %MeHg, indicando forte heterogeneidade individual na incorporação e retenção das formas orgânicas de Hg. Essa variação sugere que múltiplos fatores ecológicos e fisiológicos podem estar modulando a exposição e a bioacumulação de MeHg, incluindo diferenças individuais em nicho trófico, estado nutricional, área de forrageamento e rotas migratórias.

O achado de que todos os indivíduos analisados ($n = 10$ para cada espécie) apresentaram concentrações quantificáveis de MeHg também se destaca, uma vez que tal padrão não é usual para aves marinhas em comparação com cetáceos, nos quais a literatura registra maior prevalência de MeHg detectável em tecidos (Kehrig *et al.*, 2008; Seixas *et al.*, 2008; Lailson-Brito *et al.*, 2012; Seixas *et al.*, 2014; Kehrig *et al.*, 2016; Manhães *et al.*, 2021). No caso de *S. magellanicus*, concentrações proporcionalmente mais elevadas já foram relatadas na literatura, com Kehrig *et al.* (2015) observando que juvenis apresentaram proporções de MeHg correspondentes a aproximadamente 53% do HgT, evidenciando que a exposição desse grupo pode ser particularmente intensa em determinados contextos ecológicos. Mesmo assim, o percentual encontrado no presente estudo (28%) permanece relevante e reforça a natureza variável da bioacumulação em aves piscívoras migratórias.

A interpretação desses resultados quanto a detoxificação via formação de HgSe sugere um quadro complexo. Apesar de as proporções de MeHg serem mais elevadas que aquelas observadas em mamíferos marinhos, as razões molares Se:Hg encontradas foram altas (15,82 para *L. dominicanus* e 37,76 para *S. magellanicus*), o que, em princípio, indica disponibilidade substancial de selênio para complexação de Hg e formação do cristal inerte. Entretanto, razões elevadas não garantem necessariamente a neutralização completa do MeHg, uma vez que o processo de desmetilação pode ser menos eficiente em aves do que em cetáceos, e sua dinâmica depende tanto da concentração de Se quanto da capacidade metabólica da espécie. A coexistência de altos teores de Se e percentuais elevados de MeHg sugere que a taxa de entrada de MeHg, possivelmente pela dieta, pode superar parcialmente a taxa de detoxificação, especialmente em aves piscívoras que dependem de cardumes potencialmente contaminados, mas também pode sugerir que o processo de desmetilação do mercúrio nesses organismos seja mais lento ou menos eficiente do que o de outros grupos de animais marinhos.

A elevada concentração de MeHg encontrada nessas aves pode refletir processos de biomagnificação, tendo em vista que ambas as espécies apresentam dietas baseadas predominantemente em peixes. Normalmente, pinguins demonstram a capacidade de acumular grandes quantidades de mercúrio no fígado, em princípio por transferência através das suas presas (Monteiro & Furness, 1995; Furness & Camphuysen, 1997).

Considerando-se ainda que *S. magellanicus* é uma espécie migratória de longa distância (Mäder *et al.*, 2010; Silva, 2014), e que todos os indivíduos analisados neste estudo eram juvenis, os resultados indicam que tais aves podem ter sido expostas a áreas específicas de alimentação com elevados níveis de MeHg, ou a fontes pontuais de contaminação em rotas migratórias. A condição juvenil, que teoricamente implicaria menor tempo de exposição, torna esses achados ainda mais relevantes, sugerindo que a exposição pode ter sido recente e intensa ou que a espécie possui elevada taxa de incorporação de MeHg em tecidos hepáticos.

Ressalta-se que as concentrações para as fêmeas de *S. magellanicus* apresentaram valores extremos, ou seja, muito elevados ou muito baixos, enquanto os machos apresentaram valores intermediários. Essa observação pode ter relação com atividades metabólicas, assim como variações hormonais relacionadas a procriação e outras questões fisiológicas.

Outros fatores que podem explicar a grande amplitude do percentual de metilmercúrio (%MeHg) observada nessas espécies incluem diferenças individuais no estado fisiológico, no metabolismo e na condição corporal, bem como níveis de estresse e variações nas demandas energéticas associadas a processos como a migração. Ademais, variações no conteúdo lipídico do fígado podem influenciar a retenção e a transformação do MeHg, uma vez que esse composto apresenta elevada afinidade por tecidos ricos em lipídeos e sofre desmetilação e redistribuição metabólica nesse órgão (Palmisano *et al.*, 1995; Wagemann *et al.*, 2000; Scheuhammer *et al.*, 2007; Fort *et al.*, 2015; Kershaw & Hall, 2019). Além disso, considerando que aves marinhas podem ocupar diferentes microambientes ao longo da costa e enfrentar flutuações sazonais na disponibilidade de presas, é possível que a variabilidade espacial e temporal na contaminação ambiental contribua para os padrões observados, dificultando a atribuição de uma única fonte de exposição.

Assim, os resultados indicam que *Larus dominicanus* e *Spheniscus magellanicus* não apenas exibem concentrações elevadas de MeHg, mas também apresentam forte heterogeneidade intraespecífica e percentuais de MeHg relativamente altos quando comparados a cetáceos e tartarugas. Esses achados ressaltam a susceptibilidade dessas aves à contaminação por MeHg, possivelmente associada à biomagnificação, à dieta piscívora, à ecologia migratória e às

particularidades metabólicas das espécies. A complexidade dos padrões observados reforça a importância de estudos adicionais de especiação, incluindo séries temporais mais longas e amostragens geograficamente amplas, de modo a esclarecer os processos subjacentes à bioacumulação e detoxificação de Hg em aves marinhas do Atlântico Sul.

Ademais, a realização deste estudo representa um marco significativo para a ecotoxicologia marinha, pois se trata do primeiro trabalho a investigar a especiação de metilmercúrio (MeHg) especificamente no fígado de *Larus dominicanus*. A caracterização inédita da espécie química de Hg neste órgão permite ampliar o entendimento sobre o papel ecológico do gaivotão como bioindicadora de contaminação marinha, além de fornecer dados essenciais para comparações interespecies e para o avanço do conhecimento sobre a dinâmica e o risco ambiental do mercúrio em aves costeiras do Atlântico Sul.

4.4. Metilmercúrio na tartaruga-verde (*Chelonia mydas*)

No caso da tartaruga-verde (*C. mydas*), dentre as amostras de fígado analisadas para a presença de metilmercúrio (MeHg) (n = 10), apenas três indivíduos apresentaram concentrações quantificáveis, embora esses valores tenham sido substancialmente superiores aos reportados para a espécie em estudos anteriores (Godley *et al.*, 1999; Kampalath *et al.*, 2006; Ng *et al.*, 2018; Rodriguez *et al.*, 2020).

Essa discrepância pode indicar diferentes cenários interpretativos. Inicialmente, a baixa frequência de detecções (30%) limita a robustez estatística, sugerindo que a média elevada pode refletir a variabilidade natural associada ao reduzido tamanho amostral, e não necessariamente um padrão populacional. Dessa forma, embora a média das concentrações quantificáveis de MeHg tenha sido apresentada para fins descritivos, sua interpretação deve ser realizada com cautela, uma vez que o valor médio reflete exclusivamente os indivíduos detectáveis e não a totalidade da amostragem. Contudo, o fato de apenas alguns indivíduos apresentarem MeHg detectável, enquanto os demais exibiram concentrações abaixo do limite instrumental, sugere que a heterogeneidade intraespecífica pode estar relacionada a fatores individuais, tais como diferenças na ecologia alimentar recente, rotas migratórias, estado fisiológico ou histórico de exposição.

Geralmente, estudos em tartarugas tem dificuldade em quantificar MeHg. Mesmo no fígado, onde é mais comum, são encontradas baixas concentrações de HgT/Hg inorgânico (Simsek *et al.*, 2025). Anan *et al.* (2001) estudaram duas espécies de tartarugas, dentre elas *C. mydas*, e observaram que elas não acumularam Hg no fígado, somente Se, ao contrário do que estudos

anteriores mostraram para aves e mamíferos marinhos e do que foi observado para *C. mydas* no presente estudo.

Considerando que todos os indivíduos eram juvenis, estágio etário no qual se espera menor bioacumulação devido ao curto tempo de vida e, conseqüentemente, menor exposição, a presença de concentrações relativamente elevadas de MeHg em apenas três animais reforça a hipótese de que tais indivíduos possam ter experienciado episódios pontuais de exposição mais intensa, potencialmente relacionados a áreas de alimentação específicas ou fontes localizadas de contaminação. Isso é reforçado pela alimentação onívora pela espécie durante as fases iniciais da vida (Bjorndal, 1997; Arthur *et al.*, 2008; Cardona *et al.*, 2009).

Adicionalmente, a elevada razão molar Se:Hg observada na espécie ($=76,52$; $n=20$), frequentemente associada à detoxificação via formação de HgSe, não invalida a possibilidade de acúmulo de MeHg, uma vez que esse mecanismo é eficiente, mas não absoluto, podendo variar entre indivíduos em função de diferenças metabólicas, disponibilidade de selênio, capacidade antioxidante e taxas de desmetilação hepática.

Uma possível interpretação é a de que nesses organismos o MeHg ainda não foi desmetilado, para que então, na forma de Hg inorgânico, seja complexado com o Se. Ainda que o MeHg represente apenas uma fração (14%) do mercúrio total presente. Afinal, os valores encontrados anteriormente na literatura incluíam indivíduos adultos/subadultos (Godley *et al.*, 1999; Kampalath *et al.*, 2006; Ng *et al.*, 2018), onde esses organismos teriam tido mais tempo para realizar o processo de desmetilação e eliminação do MeHg.

Assim, a presença de poucos indivíduos com altas concentrações de MeHg pode refletir tanto variações fisiológicas quanto diferenças espaciais ou temporais de exposição. A interpretação desses resultados deve considerar as limitações analíticas associadas ao limite de detecção do método e à ocorrência de valores censurados (abaixo do limite de detecção), que tendem a inflar artificialmente a média quando poucos valores detectáveis são utilizados.

Portanto, a combinação de um baixo número de detecções, variabilidade individual e incertezas relacionadas ao comportamento migratório da espécie indica que tais resultados devem ser interpretados com cautela, reforçando a necessidade de amostragens mais amplas para a caracterização precisa da exposição ao MeHg em *C. mydas*.

4.5. Metilmercúrio na toninha (*Pontoporia blainvillei*) e no boto-cinza (*Sotalia guianensis*)

Para os cetáceos analisados, *P. blainvillei* e *S. guianensis*, as concentrações de metilmercúrio observadas (0,71 e 0,78 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente) foram inferiores ao esperado para mamíferos marinhos, principalmente quando comparados com os demais grupos, embora compatíveis com valores previamente descritos para essas espécies (Kehrig *et al.*, 2008; Seixas *et al.*, 2008; Lailson-Brito *et al.*, 2012; Seixas *et al.*, 2014; Kehrig *et al.*, 2016; Manhães *et al.*, 2021). O percentual de MeHg em relação ao HgT foi relativamente baixo para *P. blainvillei* (9%) e ainda menor para *S. guianensis* (0,5%). Esses achados sugerem que uma parcela significativa do Hg acumulado no fígado desses animais encontra-se na forma inorgânica, possivelmente complexada como HgSe nesse órgão, como sugerido por Caurant *et al.* (1996) e Wagemann *et al.* (1998).

A formação desse complexo é reconhecida como um dos principais mecanismos de detoxificação em cetáceos (Palmisano *et al.*, 1995; Kunito *et al.*, 2004; Lailson-Brito *et al.*, 2012; Nakazawa *et al.*, 2011), resultando na redução da proporção de MeHg tecidual pela desmetilação hepática ao longo do tempo. Assim, a baixa fração de MeHg encontrada pode indicar que o mecanismo de detoxificação via Hg–Se está efetivamente atuando, especialmente considerando que as razões molares Se:Hg observadas neste estudo foram superiores aos valores usualmente reportados na literatura para *P. blainvillei* (razão = 14,37) e semelhantes aos padrões descritos para *S. guianensis* (razão = 4,7) (veja comparações na Tabela 4). Razões molares Se:Hg elevadas tendem a refletir disponibilidade de selênio suficiente para participar dos mecanismos fisiológicos de detoxificação do mercúrio, favorecendo, após a desmetilação do metilmercúrio, a formação de complexos estáveis e pouco biodisponíveis, como o HgSe, e reduzindo a toxicidade associada ao mercúrio inorgânico acumulado nos tecidos (Palmisano *et al.*, 1995; Kunito *et al.*, 2004; Ralston, 2008; Lailson-Brito *et al.*, 2012).

É importante observar que o boto-cinza possui essencialmente uma dieta piscívora altamente variada, (Di Benedetto & Ramos, 2004), enquanto a toninha se alimenta principalmente de peixes pequenos e cefalópodes (Di Benedetto & Ramos, 2004), o que justificaria as concentrações mais elevadas de MeHg encontradas em alguns indivíduos da última espécie no presente estudo, assim como a menor razão Se:Hg em comparação a toninha. Como já observado por Watanabe *et al.* (2002), mamíferos marinhos de alimentação preferencialmente piscívora tendem a acumular maiores concentrações de mercúrio no fígado.

Sakamoto *et al.* (2015) sugere que a desmetilação do MeHg ocorra no músculo dos odontocetos (subgrupo ao qual fazem parte *P. blainvillei* e *S. guianensis*), onde pode haver a acumulação de Hg inerte do músculo esquelético (razão Se:Hg próxima de 1). Dessa forma, o MeHg seria desmetilado e complexado com o Se, se mantendo principalmente na forma inerte de HgSe. Lailson-Brito *et al.* (2012), por sua vez, observaram a presença dos complexos de HgSe no fígado do boto-cinza (*S. guianensis*). Os resultados desta pesquisa sugerem que algo semelhante deve estar ocorrendo para os cetáceos analisados.

Lailson-Brito *et al.* (2012) também notaram que o boto-cinza possuía %MeHg variando entre 17,8–96% (média de 70%) em relação ao total de OrgHg, indicando a presença de outras espécies orgânicas de mercúrio além do metilmercúrio. Essa observação corrobora com o observado neste estudo, onde há suspeita da presença de demais espécies orgânicas nas amostras de fígado analisadas.

Outro aspecto relevante é que, diferentemente do observado para *Chelonia mydas*, a maioria das amostras dessas duas espécies apresentou MeHg detectável, o que é coerente com o maior número de estudos de especiação realizados em cetáceos (conforme observado na Tabela 2) e com sua posição elevada nas redes tróficas marinhas.

Ambas as espécies ocupam nichos costeiros e se alimentam de presas que tendem a acumular mercúrio por biomagnificação, como peixes demersais e pequenas presas neríticas, o que pode contribuir para a exposição crônica ao Hg nesses organismos (Di Benedetto & Ramos, 2001; Di Benedetto & Ramos, 2004; Kehrig *et al.*, 2004; Seixas *et al.*, 2007). Assim, a presença consistente de MeHg é biologicamente plausível e esperada em predadores de topo, em função dos processos de bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia trófica. No entanto, a baixa proporção relativa de MeHg, apesar de sua detecção frequente, pode estar relacionada ao longo tempo de residência do mercúrio no fígado e à eficiência dos mecanismos fisiológicos de desmetilação e transformação do MeHg em formas menos tóxicas, como o mercúrio inorgânico complexado ao selênio. Esse padrão é uma característica amplamente documentada em odontocetos, especialmente associada à formação de complexos estáveis do tipo HgSe no tecido hepático (Palmisano *et al.*, 1995; Wagemann *et al.*, 2000; Kunito *et al.*, 2004; Nakazawa *et al.*, 2011; Lailson-Brito *et al.*, 2012).

Seixas *et al.* (2008) observaram uma relação linear inversa significativa entre os teores de mercúrio total e o percentual de mercúrio orgânico (%OrgHg) no fígado de toninhas no sul e sudeste brasileiro ($R^2 = 0,52$; $p < 0,001$), onde concentrações mais altas de Hg hepático correspondem a menores concentrações de %OrgHg. Os autores relacionaram essas correlações

a eficiência do processo de eliminação das formas orgânicas de mercúrio dos órgãos internos. Algo similar, mas não estritamente linear, foi observado no presente estudo.

Além disso, fatores individuais como idade, dieta, estado fisiológico e exposição prévia podem modular a capacidade de detoxificação, explicando por que a proporção MeHg/HgT apresenta amplitude considerável mesmo dentro de uma mesma espécie. Usualmente, os peixes são alimentos essenciais para animais de níveis tróficos superiores, como os cetáceos, sendo também sua principal fonte de mercúrio e de selênio (Kubota *et al.*, 2001; Monteiro-Neto *et al.*, 2003), podendo facilitar a biomagnificação e bioacumulação de mercúrio nesses animais.

Outro fator a se considerar é que todas as amostras do boto-cinza eram de indivíduos adultos, o que pode ter contribuído para a baixa proporção entre MeHg e HgT, assim como para a razão Se:Hg. Em um estudo com as toninhas (*P. blainvillei*), Seixas *et al.* (2008) perceberam um decaimento na proporção de Hg orgânico com os estágios de crescimento desses animais, onde adultos maduros apresentaram o menor percentual (5–30%). Essa proporção sugere um processo de eliminação por desmetilação mais eficaz das formas mais tóxicas de Hg nos órgãos analisados (rim e fígado).

No contexto ecológico, a contaminação observada pode refletir tanto os processos de bioacumulação e biomagnificação do mercúrio ao longo da cadeia alimentar quanto particularidades ambientais associadas a regiões costeiras, como maior influência antrópica e elevada disponibilidade de presas contaminadas (Scheuhammer *et al.*, 2007; Wiener *et al.*, 2007; Lavoie *et al.*, 2013). Além disso, a ampla movimentação espacial dessas espécies, ainda que predominantemente costeiras, pode diluir ou dificultar a atribuição direta de um local específico como fonte predominante de contaminação, uma vez que os indivíduos exploram diferentes áreas de alimentação ao longo de seus deslocamentos (Di Benedetto & Ramos, 2001; Di Benedetto & Ramos, 2004). Deve-se também considerar que, embora o número amostral seja adequado ($n = 8$ detectáveis para cada espécie), a variação geográfica e temporal das capturas pode introduzir heterogeneidade nos padrões de exposição, o que reforça a importância de interpretar os resultados à luz da ecologia alimentar, do comportamento migratório e da fisiologia de detecção e eliminação do Hg.

Portanto, a combinação de baixas concentrações relativas de MeHg quando comparadas aos demais grupos, proporções reduzidas de MeHg/HgT e razões Se:Hg elevadas sugere que os mecanismos de detoxificação e desmetilação estão atuando de maneira eficaz nessas espécies, ao mesmo tempo em que indica exposição contínua, porém controlada, ao Hg orgânico. Esses achados reafirmam a necessidade de compreender os processos de bioacumulação e

desmetilação em pequenos cetáceos costeiros, bem como sua relevância para avaliações ecotoxicológicas e para o monitoramento ambiental em regiões estuarinas e costeiras brasileiras.

4.6. Metilmercúrio em animais marinhos

De forma integrada, os resultados obtidos para tartarugas marinhas, cetáceos e aves marinhas revelam padrões contrastantes de bioacumulação e especiação do mercúrio, destacando a complexidade dos processos ecológicos e fisiológicos que modulam a exposição ao MeHg em organismos marinhos do Atlântico Sul.

Nas tartarugas-verdes, a baixa frequência de detecção de MeHg, aliada às elevadas razões molares Se:Hg, sugere um cenário de exposição pontual e possivelmente recente, em que poucos indivíduos concentraram grande parte do Hg orgânico detectado, reforçando a heterogeneidade intraespecífica e as limitações do pequeno número de detecções.

Em contraste, os cetáceos apresentaram concentrações de MeHg compatíveis com a literatura (Tabela 2) e percentuais reduzidos de MeHg, refletindo a ação efetiva dos mecanismos de detoxificação via formação de HgSe, especialmente em *Sotalia guianensis* e *Pontoporia blainvillei*, cujos resultados indicam um equilíbrio fisiológico típico de predadores costeiros com longa expectativa de vida e histórico crônico de exposição.

Já as aves marinhas exibiram o padrão oposto: apresentaram elevadas concentrações de MeHg e os maiores percentuais relativos entre os grupos analisados, com todas as amostras detectáveis, sugerindo exposição intensa e contínua, possivelmente associada à dieta piscívora, à elevada taxa metabólica e à natureza migratória dessas espécies, que podem atravessar regiões com diferentes graus de contaminação.

A marcada diferença entre os grupos evidencia que a bioacumulação de MeHg não depende apenas da posição trófica, mas também das particularidades fisiológicas, da ecologia espacial, do metabolismo e da eficiência dos mecanismos de detoxificação, reforçando a necessidade de abordagens ecotoxicológicas integradas para compreender a dinâmica do Hg em ambientes marinhos.

Dietz *et al.* (1990) sugere que raramente as concentrações de MeHg superam 2,0 µg/g em animais saudáveis, graças ao processo de desmetilação, corroborando com resultados obtidos em outros estudos (Julshamn *et al.* 1987; Wagemann *et al.*, 1998; Lailson-Brito *et al.*, 2012), inclusive neste, no qual as concentrações médias ficaram todas abaixo desse limiar. Isso se deve,

possivelmente, a capacidade do fígado de mamíferos marinhos de manter o MeHg em baixos níveis (Dietz *et al.*, 1990).

Um outro fator de extrema importância a se considerar para a conservação de espécies marinhas atualmente são as mudanças climáticas, que alteram parâmetros físico-químicos da água, assim como o ciclo biogeoquímico do mercúrio (Krabbenhoft & Sunderland, 2013). Estudos preveem um aumento de 0,4 a 1°C para os próximos séculos, acrescido de um aumento de 1,7 a 4,4% nas concentrações de Hg disponível para a biota (Booth & Zeller, 2005). Esse fator é agravado se considerarmos que em meios ácidos e anóxicos a taxa de metilação é ainda mais alta, urgindo a preocupação com relação a um aumento nos teores de MeHg biodisponíveis (Miranda *et al.*, 2007; Kershaw & Hall, 2019).

Em conjunto, os achados deste estudo ampliam o entendimento sobre como diferentes organismos respondem à presença de MeHg e destacam a importância de investigações específicas por grupo taxonômico, considerando que fatores como migração, dieta, fisiologia e desenvolvimento podem alterar de forma substancial a forma e a intensidade da exposição ao mercúrio, além de ressaltar as espécies estudadas como importantes bioindicadores de contaminação e toxicidade aquática marinha.

4.7. Correlação entre mercúrio e selênio

Mesmo com a presença de MeHg nos organismos marinhos, um fator adicional e particularmente relevante para a compreensão da toxicidade do mercúrio nesses animais está relacionado à interação bioquímica entre mercúrio e selênio. A análise da correlação entre as concentrações de Hg e Se permite avaliar de que forma a presença de um elemento influencia a do outro, fornecendo subsídios para inferir sobre a eficácia dos mecanismos fisiológicos de detoxificação descritos na literatura, especialmente aqueles associados à desmetilação do MeHg e à formação de complexos estáveis de HgSe nos tecidos, em particular no fígado (Palmisano *et al.*, 1995; Kunito *et al.*, 2004; Nakazawa *et al.*, 2011; Lailson-Brito *et al.*, 2012).

As correlações foram avaliadas considerando tanto o mercúrio total (Hg) quanto sua fração metilada (MeHg), por meio de regressões lineares simples, correlações paramétricas (Pearson) e não-paramétricas (Spearman e Kendall), complementadas por testes de diagnóstico dos modelos e representações gráficas exploratórias.

De forma geral, observou-se que o selênio apresenta um padrão de associação distinto com o mercúrio total e com o metilmercúrio, refletindo a natureza química e fisiológica das espécies de Hg nos organismos analisados. A relação entre Se e HgT apresentou coeficientes de

determinação (r^2) mais elevados e significativos, enquanto a relação entre Se e MeHg demonstrou associações inexistentes, com r^2 variando entre 0,05 e 0,12, assim como $p > 0,05$ nas regressões por espécie, como pode ser visto na Tabela 3. Em seguida, encontram-se os gráficos das correlações (Figuras 6–14).

Tabela 3 - Resumo estatístico obtido na regressão linear simples realizada para cada espécie do estudo.

Espécie	r^2 Hg–Se	p-valor Hg–Se	r^2 MeHg–Se	p-valor MeHg–Se
<i>L. dominicanus</i>	0,19	0,05	0,12	0,33
<i>S. magellanicus</i>	0,25	0,001	0,05	0,53
<i>C. mydas</i>	0,29	0,01	-	0,78
<i>P. blainvillei</i>	0,48	0,001	0,05	0,61
<i>S. guianensis</i>	0,49	0,001	0,08	0,50

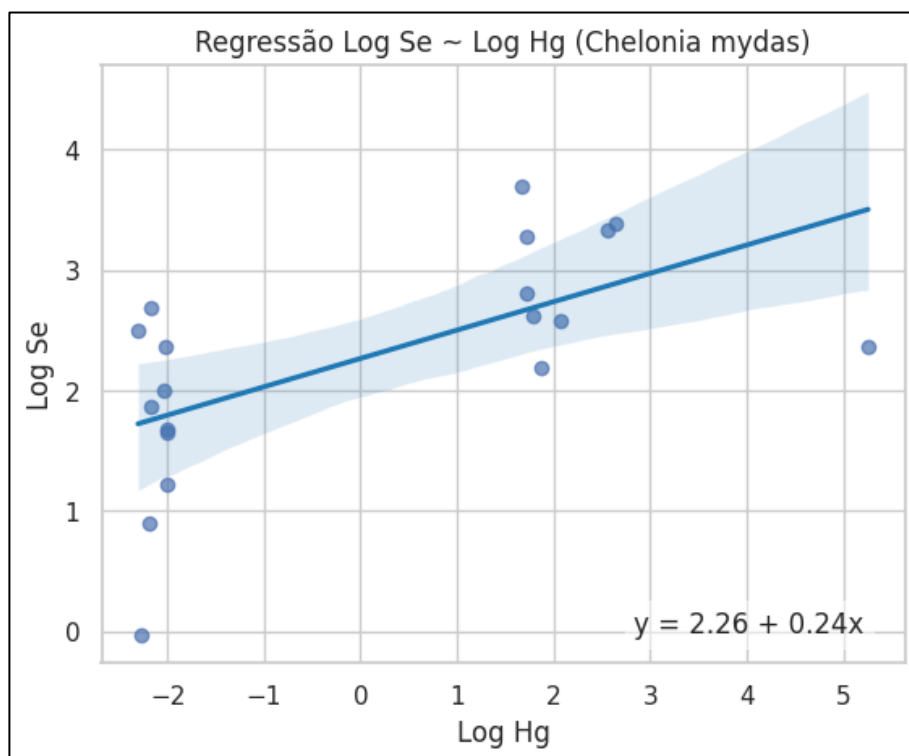


Figura 6 – Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie *C. mydas*.

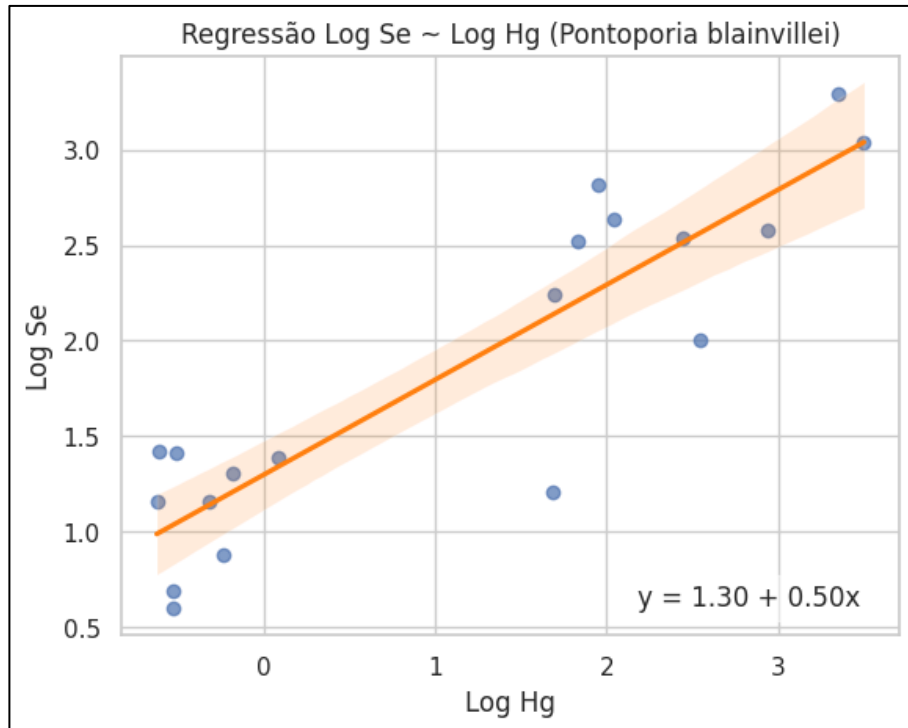


Figura 7 - Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie *P. blainvillei*.

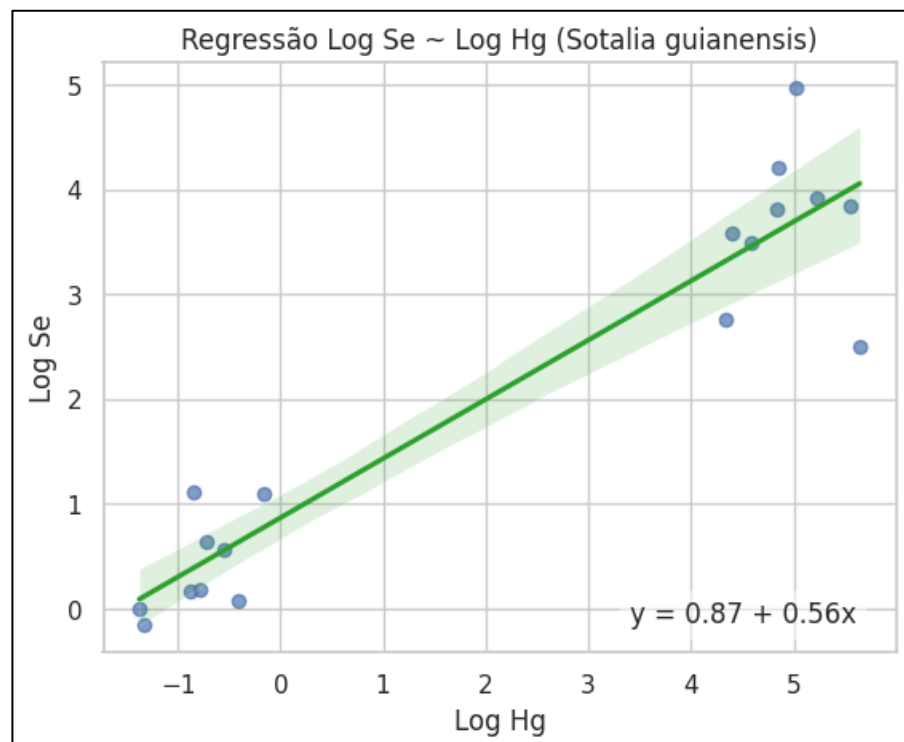


Figura 8 – Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie *S. guianensis*.

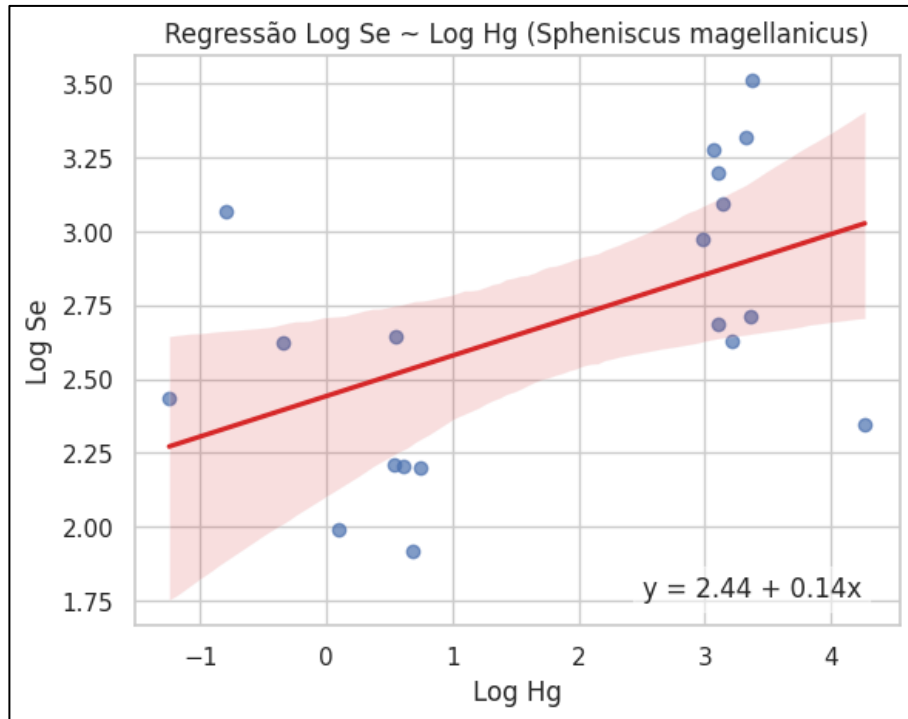


Figura 9 – Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie *S. magellanicus*.

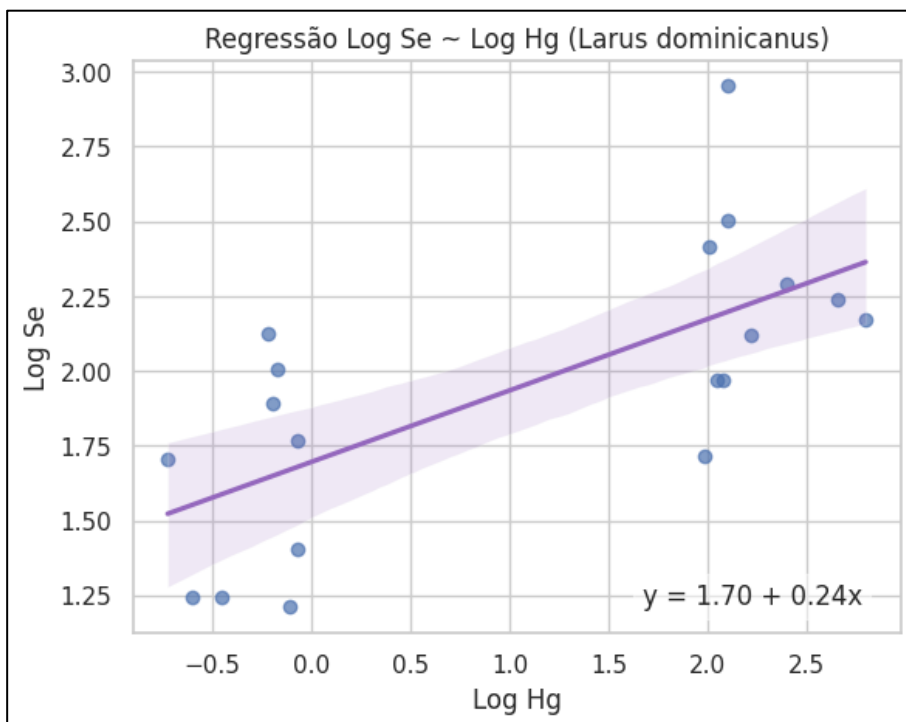


Figura 10 - Regressão linear simples entre Se e Hg para a espécie *L. dominicanus*.

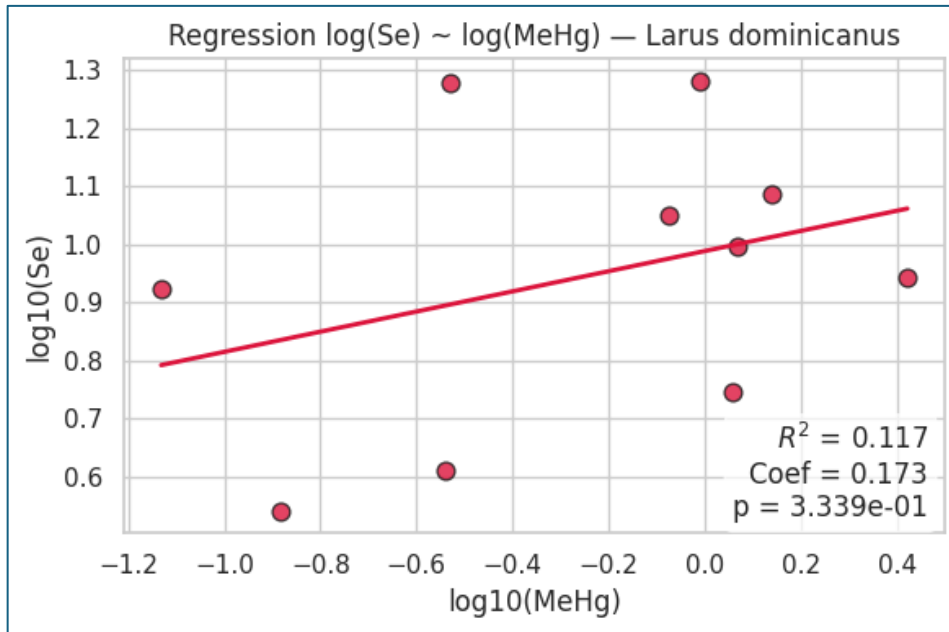


Figura 11 - Regressão linear simples entre Se e MeHg para a espécie *L. dominicanus*.

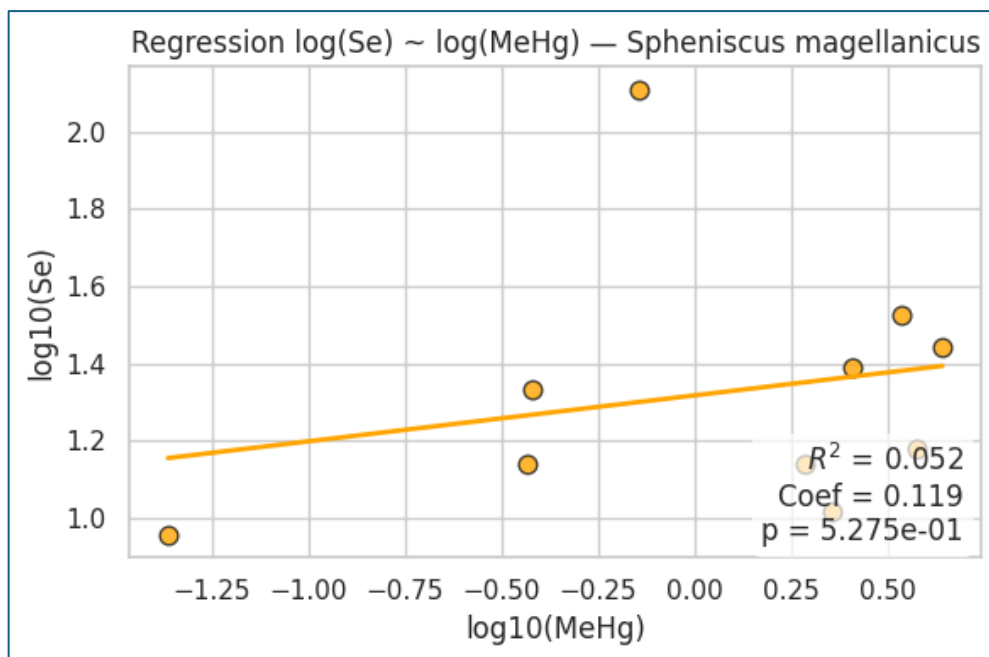


Figura 12 – Regressão linear simples para a espécie *S. magellanicus*.

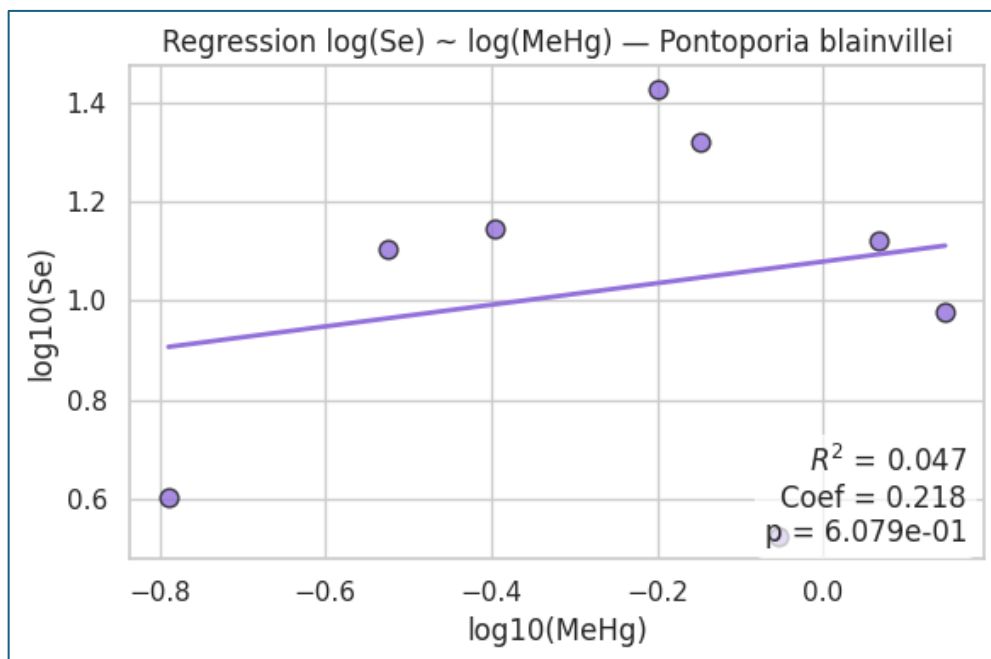


Figura 13 - Regressão linear simples para a espécie *P. blainvillei*.

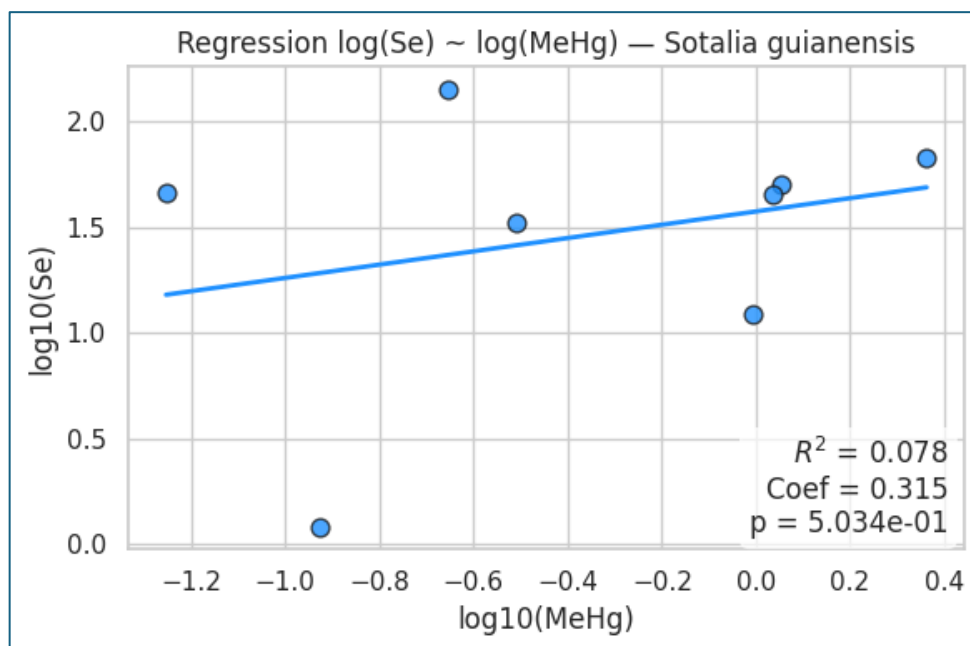


Figura 14 - Regressão linear simples para a espécie *S. guianensis*.

A análise das correlações entre Hg e Se evidencia diferenças marcantes entre os grupos estudados quanto à relação entre esses dois elementos. Ao observar os valores de coeficiente de determinação (r^2) obtidos, verifica-se que os cetáceos apresentaram os maiores valores ($r^2 = 0,48$ para *Pontoporia blainvillei* e $R^2 = 0,49$ para *Sotalia guianensis*), sugerindo a existência de uma relação moderada entre as concentrações de Hg e Se nesses organismos.

Esses resultados condizem com o que é amplamente documentado na literatura, a qual descreve mecanismos eficientes de detoxificação em odontocetos por meio da desmetilação do MeHg e da subsequente formação de complexos estáveis de sulfeto de mercúrio e selênio (HgSe) no fígado, reduzindo a biodisponibilidade e a toxicidade do mercúrio acumulado nesses organismos (Palmisano *et al.*, 1995; Kunito *et al.*, 2004; Nakazawa *et al.*, 2011; Lailson-Brito *et al.*, 2012). A correlação relativamente elevada entre Hg total e Se nesses cetáceos indica, portanto, que a acumulação de Hg inorgânico está, de fato, associada à disponibilidade de Se, reforçando o papel fisiológico desse elemento na neutralização do Hg em mamíferos marinhos. Para as demais espécies (*Chelonia mydas*, *Larus dominicanus* e *Spheniscus magellanicus*), os valores de r^2 obtidos foram substancialmente menores, sugerindo correlação fraca entre Hg e Se. Essa menor força da relação pode refletir tanto diferenças fisiológicas nos mecanismos de detoxificação quanto maior heterogeneidade individual em processos de desmetilação, tempos de residência do Hg no fígado e disponibilidade de Se. Em aves e quelônios, tais mecanismos parecem ser mais variáveis entre indivíduos, o que reduz a coerência estatística observada entre as concentrações dos elementos.

O padrão positivo observado entre Se e Hg total para cetáceos indica que o Se está envolvido em mecanismos de detoxificação via formação de HgSe (seleneto de mercúrio) ou complexação com selenoproteínas, reduzindo a toxicidade do Hg^{2+} e protegendo tecidos de danos oxidativos. Tal processo é amplamente reconhecido em mamíferos marinhos, em que o Se desempenha papel essencial na neutralização da fração inorgânica do Hg (Clarkson & Magos, 2006; Ralston *et al.*, 2019).

Entretanto, quando analisadas as correlações entre Se e MeHg, o padrão muda de maneira consistente em todas as espécies. Os valores de r^2 diminuíram consideravelmente em comparação à correlação entre Se e Hg total, além de todos os p-valores apresentarem valores superiores a 0,05, indicando ausência de significância estatística. Esse resultado sugere que não há relação linear robusta entre Se e MeHg nos organismos estudados.

A interpretação mais plausível para esse padrão é de natureza fisiológica: a maior parte do Hg presente nos tecidos analisados encontra-se na forma inorgânica, produto da desmetilação do MeHg, processo que antecede a formação do complexo HgSe. Assim, a correlação observada entre Hg total e Se reflete principalmente essa etapa posterior da detoxificação, na qual o Hg já não se encontra mais na forma orgânica e passa a interagir com Se de modo mais estável. Como a desmetilação reduz a quantidade de MeHg presente e converte-o em Hg inorgânico, não se

espera que o MeHg remanescente apresente correlação significativa com Se, o que é corroborado pelos resultados estatísticos.

Portanto, os padrões observados permitem concluir que a relação entre Se e Hg decorre majoritariamente da interação entre Se e Hg inorgânico resultante da desmetilação, e não da interação direta com MeHg. A ausência de correlação entre Se e MeHg, combinada à presença de correlação entre Se e Hg total, sugere que a relação bioquímica entre esses elementos ocorre preferencialmente após a transformação do MeHg dentro do organismo, reforçando a relevância dos processos metabólicos de detoxificação na determinação das concentrações e proporções de Hg observadas nos diferentes grupos estudados.

Por fim, a diferença entre os resultados obtidos para as correlações Se–Hg e Se–MeHg reforça a necessidade de se considerar a especiação química do Hg na avaliação dos mecanismos de detoxificação. Estudos baseados apenas em concentrações totais podem superestimar a associação direta entre Se e Hg, sem capturar as transformações internas que modulam a toxicidade do metal.

4.8. Diagnóstico dos pressupostos dos modelos

A validade dos modelos de regressão linear foi verificada por meio dos testes de normalidade dos resíduos (Shapiro–Wilk), homoscedasticidade (Breusch–Pagan) e independência (Durbin–Watson), bem como pela inspeção visual dos gráficos de resíduos (histograma, QQ-plot e residuais vs ajustados). Os valores obtidos para os testes estatísticos, assim como os gráficos para análise estatística visual podem ser encontrados nos apêndices.

O p-valor para o teste de normalidade dos resíduos de Shapiro-Wilk foi maior que 0,05 para todas as espécies e juntamente aos histogramas e QQ-plots apresentaram distribuição normal, com resíduos bem concentrados em torno da média e sem tendência sistemática aparente nos gráficos de resíduos versus valores ajustados.

O teste de Breusch–Pagan indicou homocedasticidade ($p \geq 0,05$), e o teste de Durbin–Watson apresentou valores entre 1,43 e 1,95, dentro da faixa ideal para ausência de autocorrelação entre os resíduos. Esses resultados demonstram que os modelos lineares ajustados atendem satisfatoriamente aos pressupostos estatísticos, garantindo confiabilidade às regressões realizadas.

4.9. Razão molar Se:Hg

Dados os conhecimentos acerca do papel do selênio na detoxificação do mercúrio e para melhor compreensão desses processos nos organismos estudados e potenciais impactos do MeHg, foi calculada a razão molar entre esses elementos. No geral, acredita-se que a razão molar entre selênio e mercúrio seja mais importante para inferir sobre a contaminação de animais marinhos do que as concentrações de mercúrio propriamente ditas (Lailson-Brito *et al.*, 2012). Os valores médios obtidos para cada espécie (Log10) podem ser observados na Figura 15 e uma comparação com estudos anteriores podem ser observados na Tabela 4.

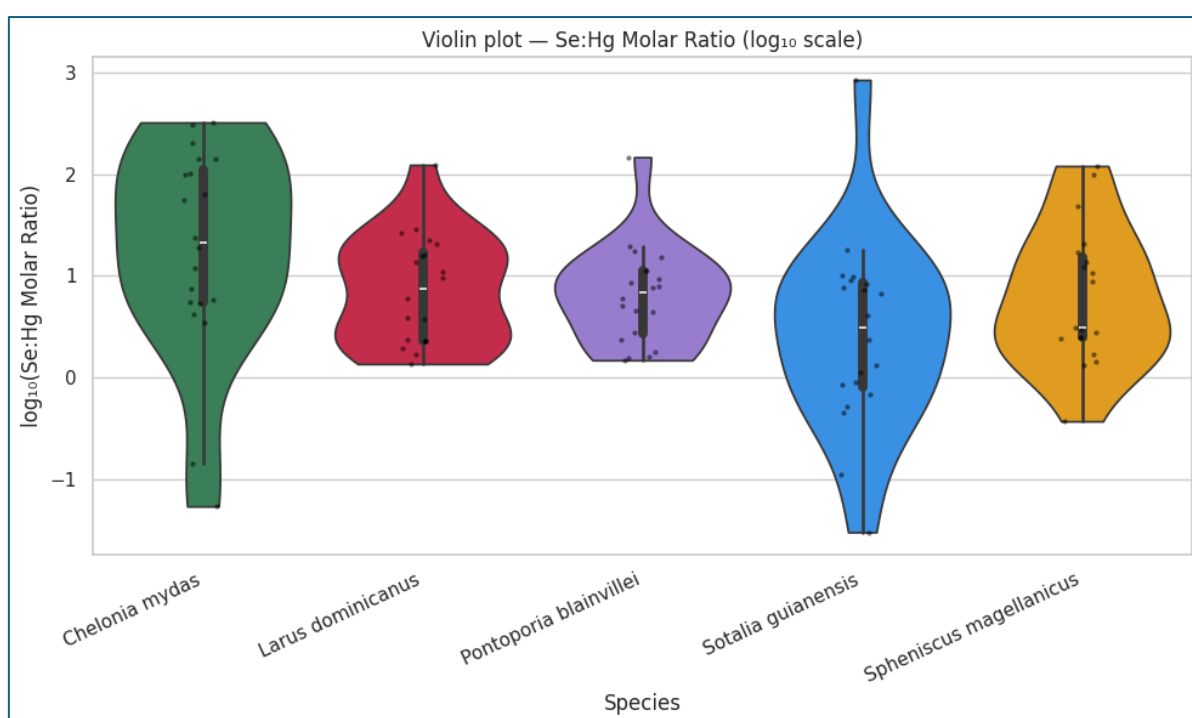


Figura 15 - Razão molar média observada para as espécies *C. mydas*, *L. dominicanus*, *P. blainvillei*, *S. guianensis* e *S. magellanicus*. As concentrações foram convertidas para Log10 para facilitar visualização.

Tabela 4 - Valor médio da razão molar entre selênio (Se) e mercúrio total (HgT), para as cinco espécies estudadas.

Espécie	Local	n	Se:Hg (mín-máx)	Observações	Referência
<i>Larus dominicanus</i>	Rio Grande do Sul, Brasil	9	1,87	Razões molares Se:Hg>1 também foram observadas para demais aves marinhas do estudo. Todos os indivíduos eram adultos.	Moura <i>et al.</i> , 2018

Espécie	Local	n	Se:Hg (mín-máx)	Observações	Referência
<i>Larus dominicanus</i>	Sudeste do Brasil	20	15,82 ±26,95 (1,36–123,85)		Este estudo
<i>Spheniscus magellanicus</i>	Sudeste do Brasil	20	37,76 ±87,25 (0,37–380,46)		Este estudo
<i>Chelonia mydas</i>	Sudeste do Brasil	20	76,52 ±101,4 (0,05–324)		Este estudo
<i>Pontoporia blainvillei</i>	São Paulo e Paraná, Brasil	23	8,3	Alta razão molar Se:Hg	Kunito <i>et al.</i> , 2004
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Sul e sudeste do Brasil	31	4	Relação linear Se–Hg altamente significativa	Seixas <i>et al.</i> , 2008
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Rio de Janeiro, Brasil	19	2,2	Formação clara de HgSe; forte demetilação	Lailson-Brito <i>et al.</i> , 2012
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Argentina	40 (sendo 9 filhotes, 22 juvenis e 9 adultos)	Filhote = 4,68–2,18 Juvenil = 5,49 ±1,94 Adulto = 5,62 ±4,49		Romero <i>et al.</i> , 2016
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Rio de Janeiro, Brasil	16	2,89 ±1,27		Baptista <i>et al.</i> , 2016

Espécie	Local	n	Se:Hg (mín-máx)	Observações	Referência
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Rio de Janeiro, Brasil	11	1,1	Imaturos = Se maior que Hg no fígado Maduros = para ambos os grupos	Kehrig <i>et al.</i> , 2016
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Sudeste do Brasil	20	14,37 ±31,8 (1,46– 147,5)		Este estudo
<i>Sotalia guianensis</i>	São Paulo e Paraná, Brasil	20	1,2		Kunito <i>et al.</i> , 2004
<i>Sotalia guianensis</i>	Rio de Janeiro, Brasil	6	2 ±1		Seixas <i>et al.</i> , 2014
<i>Sotalia guianensis</i>	Rio de Janeiro, Brasil	28	1,17 ±0,81		Baptista <i>et al.</i> , 2016
<i>Sotalia guianensis</i>	Rio de Janeiro, Brasil	14	2,8	Imaturos = 4 Maduros = Se maior que Hg no fígado para ambos os grupos	Kehrig <i>et al.</i> , 2016
<i>Sotalia guianensis</i>	Rio de Janeiro, Brasil	81	Razão Hg:Se>1	Aqui a razão calculada foi Hg:Se, implicando, portanto, que todo o Se está sendo complexado em HgSe.	Manhães <i>et al.</i> , 2021
<i>Sotalia guianensis</i>	Sudeste do Brasil	19	4,7 ± 4,92 (0,03– 17,91)		Este estudo

Valores da razão molar Se:Hg para as espécies *Larus dominicanus*, *Spheniscus magellanicus*, *Chelonia mydas*, *Pontoporia blainvillei* e *Sotalia guianensis*. Todas as amostras da tabela são de fígado. Desvio-padrão (±SD) calculado como desvio-padrão amostral (n-1).

De modo geral, a razão Se:Hg apresenta-se como indicador bioquímico mais robusto e fisiologicamente significativo do que a simples correlação entre Se e MeHg, pois representa o balanço efetivo entre o metal tóxico e o elemento protetor. Os valores consistentemente acima de 1 indicam que todas as espécies estudadas dispõem de reservas de Se suficientes para promover a detoxificação do MeHg, ainda que em graus variados de eficiência.

Segundo Ikemoto (2004), a razão Se:Hg é próxima a 1:1 apenas quando as concentrações hepáticas de Hg são maiores que $200 \mu\text{g g}^{-1}$ (d.w.). Os valores observados por Seixas *et al.*, (2008) corroboram com a teoria, tendo em vista que a concentração máxima obtida para a toninha foi de $51,65 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. Igualmente, os valores observados para os cetáceos neste estudo não ultrapassaram tal limiar ($\text{HgT} = 7,18 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. para *P. blainvillei* e $78,82 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. para *S. guianensis*), correspondendo a razões Se:Hg maiores que 1 (14,37 para *P. blainvillei* e 4,7 para *S. guianensis*).

A ausência de correlação estatisticamente significativa entre as concentrações de selênio e metilmercúrio, associada à presença de correlações positivas entre selênio e mercúrio total, reforça a interpretação de que o papel protetor do selênio não se exerce diretamente sobre o metilmercúrio ingerido, mas sim sobre o mercúrio inorgânico resultante de processos de desmetilação que ocorrem no organismo, possivelmente no próprio fígado. Assim, a razão molar Se:Hg reflete predominantemente a capacidade do organismo de lidar com o mercúrio já transformado metabolicamente, e não um mecanismo de neutralização direta do metilmercúrio circulante.

4.10. Evidências mecanísticas recentes (formação / detecção de HgSe)

Trabalhos de toxicologia e análises microestruturais confirmam a presença de agregados ou micropartículas de HgSe em tecidos de mamíferos marinhos, com imagens ao nível microscópico e caracterização por técnicas instrumentais (SEM/TEM, EDS), reforçando o papel do Se na imobilização do Hg inorgânico (Ewald *et al.*, 2019; Hellfeld *et al.*, 2024). Estes achados experimentais sustentam a interpretação de que razões Se:Hg altas e correlações Se–Hg(total) fortes podem refletir processos de detoxificação efetivos. Esses estudos não apenas descrevem o fenômeno, mas também apontam que a morfologia e distribuição do HgSe podem variar entre órgãos e espécies, o que exige cuidados ao extrapolar a partir de um único tecido.

4.11. Análise dos subgrupos Sexo, Idade e Local

A análise dos subgrupos formados por sexo, faixa etária e local de ocorrência não pôde ser conduzida estatisticamente devido ao reduzido número de indivíduos em cada categoria, o que comprometeria a robustez dos testes e aumentaria substancialmente o risco de erros. Ainda assim, algumas observações descritivas podem ser feitas, permitindo uma interpretação preliminar dos padrões de distribuição de MeHg e das razões molares Se:Hg entre os grupos biológicos avaliados.

No subgrupo referente ao sexo, nenhuma espécie apresentou variação considerável entre machos e fêmeas, de modo a não se observar tendência consistente de maior bioacumulação de MeHg em um dos sexos. De forma semelhante, não foram encontradas diferenças aparentes nas razões molares Se:Hg entre machos e fêmeas em nenhuma das espécies analisadas. Esse padrão sugere que, no contexto das amostras disponíveis, o sexo não desempenha papel determinante na dinâmica de bioacumulação de Hg ou nos processos de detoxificação associados ao Se.

Embora diferenças sexuais na bioacumulação possam ocorrer em algumas espécies devido a estratégias reprodutivas, variação metabólica ou transferência de Hg para filhotes, tais processos não foram evidentes no conjunto amostral deste estudo. Isso corrobora com o observado por estudos anteriores, onde normalmente mamíferos marinhos não apresentam diferenças de gênero quanto a acumulação de elementos traço, conforme observado para *P. blainvillei* das costas sul e sudeste brasileiras (Kunito *et al.*, 2004; Seixas *et al.*, 2007) e da costa da província de Buenos Aires, Argentina (Gerpe *et al.*, 2002).

Quanto ao subgrupo relacionado à idade, observou-se que a maior parte dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* eram adultos, com apenas poucos juvenis ou filhotes representados, dificultando comparações mais detalhadas entre classes etárias. Alguns autores sugerem que a taxa de desmetilação decaia durante o envelhecimento de mamíferos marinhos (Wagemann *et al.*, 1998), já outros, que essa taxa se mantém ativa em botos-cinza em idades mais avançadas (Lailson-Brito *et al.*, 2012). Em *Larus dominicanus*, houve melhor distribuição entre juvenis e adultos, porém sem diferenças visíveis nas concentrações de MeHg ou nas razões molares Se:Hg. Para *Sotalia guianensis*, as amostras eram compostas principalmente por adultos, o que pode refletir no baixo %MeHg encontrado por conta do maior tempo para desmetilação pelo organismo, ao passo que *Chelonia mydas* e *Spheniscus magellanicus* apresentaram exclusivamente indivíduos juvenis.

Esses padrões etários limitam a inferência sobre bioacumulação ao longo da vida, mas não impedem reflexões importantes: a ausência de diferenças claras entre juvenis e adultos nas

espécies em que ambos os grupos estavam representados sugere que a taxa de incorporação de MeHg pode ser mais influenciada por fatores ambientais e ecológicos (como dieta e área de forrageamento) do que pelo tempo de vida ou estágio de desenvolvimento. Além disso, o fato de *S. magellanicus* e *C. mydas* apresentarem concentrações de MeHg detectáveis mesmo sendo juvenis indica exposição precoce a fontes relevantes de MeHg, o que reforça a importância de áreas específicas de alimentação utilizadas durante a fase inicial de vida.

No subgrupo referente ao local de ocorrência, observou-se que todas as espécies exibiram indivíduos com razões molares Se:Hg elevadas no estado de São Paulo, com *Larus dominicanus* apresentando também valores altos no Rio de Janeiro e Santa Catarina. Entretanto, a interpretação desses padrões espaciais deve ser feita com cautela, uma vez que se tratam de espécies costeiras com ampla mobilidade, como *S. guianensis* e *P. blainvillei*, ou mesmo espécies altamente migratórias, como *L. dominicanus*, *S. magellanicus* e *C. mydas*.

Dessa forma, o local de enalhe ou coleta nem sempre representa o local efetivo de exposição ao contaminante, podendo refletir apenas o ponto final de um trajeto alimentado por diferentes áreas de forrageamento. Além disso, diferenças regionais podem estar relacionadas não somente à contaminação local, mas também à composição das presas disponíveis, ao uso de áreas específicas de alimentação e às características oceanográficas regionais, como ressurgência, produtividade primária e aporte de nutrientes ou contaminantes.

Em conjunto, a análise descritiva dos subgrupos sugere que variáveis como sexo e idade não aparentam exercer influência determinante sobre a bioacumulação de MeHg ou sobre as relações Se:Hg nos indivíduos estudados, ao passo que o local apresenta padrões que devem ser interpretados conforme a ecologia espacial de cada táxon. Esses resultados reforçam que a dinâmica de contaminação por MeHg em organismos marinhos é fortemente modulada por fatores ecológicos e comportamentais, como dieta, amplitude de movimento e uso de habitat, e que inferências mais conclusivas sobre diferenças entre subgrupos requerem amostragens maiores e espacialmente mais controladas.

4.12. Presença de um pico cromatográfico adicional não identificado

Durante as análises cromatográficas para a especiação de mercúrio, foi observado, além dos picos correspondentes ao metilmercúrio e ao mercúrio inorgânico, um terceiro pico recorrente, com tempo de retenção distinto dos padrões analíticos utilizados, cuja identidade não pôde ser determinada nas condições experimentais empregadas. A ausência de um padrão analítico

específico impossibilitou a identificação inequívoca dessa espécie, motivo pelo qual o pico não foi quantificado nem incluído nos cálculos de concentração.

A ocorrência de picos adicionais em análises de especiação de mercúrio já foi reportada na literatura e pode estar associada à presença de outras espécies organomercuriais além do metilmercúrio, bem como a compostos intermediários formados durante processos metabólicos e ambientais de transformação do Hg (Bloom, 1989; Hintelmann, 2010). Em tecidos biológicos, especialmente no fígado, esses sinais adicionais podem refletir produtos intermediários da desmetilação do MeHg ou espécies de Hg ligadas a biomoléculas endógenas, como compostos sulfurados (Palmisano *et al.*, 1995; Ikemoto *et al.*, 2004).

Além disso, interferências de matriz e fenômenos de coeluição são reconhecidos como limitações comuns em análises cromatográficas de tecidos ricos em proteínas e lipídios, podendo resultar no surgimento de picos não resolvidos ou outros compostos de mercúrio (Tseng *et al.* 1999; Favilli *et al.*, 2022). Considerando o uso de cisteína como agente complexante e estabilizante durante o preparo das amostras, é plausível que o pico adicional esteja relacionado à formação de complexos mercúrio–tiol, os quais apresentam comportamento cromatográfico distinto do MeHg e do Hg²⁺ livre, conforme já descrito para sistemas biológicos e experimentais (Feroci *et al.*, 2005; Hintelmann, 2010).

Alternativamente, esse pico pode estar associado a espécies intermediárias relacionadas aos mecanismos de detoxificação do mercúrio, particularmente àqueles envolvendo a interação entre Hg e selênio no fígado, processo amplamente descrito para mamíferos marinhos e aves, no qual ocorre a conversão do Hg em formas menos biodisponíveis, como o HgSe (Ikemoto *et al.*, 2004; Lailson-Brito *et al.*, 2012). Embora esses compostos apresentem baixa solubilidade e reatividade, sua presença pode influenciar o perfil cromatográfico observado, especialmente em análises de especiação que dependem de extração química seletiva.

A observação desse pico cromatográfico adicional ressalta as limitações inerentes aos métodos de especiação baseados exclusivamente em padrões analíticos disponíveis e reforça a necessidade de estudos futuros empregando técnicas complementares, como cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (HPLC–ICP–MS) ou abordagens de alta resolução, para a elucidação da natureza química dessas espécies de mercúrio ainda não caracterizadas.

4.13. Interpretação ecológica e toxicológica integrada

Os resultados obtidos revelam um panorama complexo sobre a dinâmica do mercúrio e do selênio em vertebrados aquáticos. A ausência de correlação entre Se e MeHg, contrastando com a correlação positiva entre Se e HgT, indica que o Se atua como mediador de processos de detoxificação secundários, possivelmente após a desmetilação do MeHg. Embora a razão Se:Hg apresente grande variabilidade intraespecífica, o padrão geral sugere que o Se presente nos tecidos é suficiente para complexar parte significativa do Hg, mesmo quando o MeHg representa uma fração expressiva do metal.

De forma geral, os resultados indicam que a interação Se–Hg é multifatorial, podendo ser influenciada pela ecologia alimentar, idade, caminho migratório e metabolismo. O Se atua, portanto, principalmente na detoxificação direta, pela formação de compostos de HgSe, desempenhando papel central na mitigação dos efeitos tóxicos do mercúrio em vertebrados marinhos.

Além disso, a predominância de razões Se:Hg > 1 em todas as espécies estudadas sugere que, mesmo em organismos expostos a níveis relativamente altos de MeHg, há reserva bioquímica de Se suficiente para mitigar os efeitos tóxicos. Essa relação quantitativa entre ambos é considerada mais preditiva de toxicidade do que as concentrações absolutas (Ralston *et al.*, 2019).

Assim sendo, ainda que as correlações lineares sejam fracas, os dados obtidos não invalidam a importância fisiológica do selênio na regulação do metilmercúrio. Pelo contrário, reforçam a ideia de que a ausência de correlação direta reflete a dinâmica complexa da especiação e da detoxificação, onde o Se participa mais ativamente na retenção do Hg inorgânico resultante da biotransformação do MeHg.

4.13.1. Discernimentos acerca de mercúrio e a produção de petróleo

A Bacia de Santos é uma das regiões mais ativas em termos de exploração e produção de petróleo e gás no Brasil, concentrando grande parte das operações do pré-sal em ambiente *offshore*. Nesse contexto, os resultados obtidos neste estudo devem ser interpretados de acordo com o crescente corpo de evidências que relacionam a presença de Hg em organismos marinhos com processos associados à indústria de óleo e gás (Hohemberger *et al.*, 2006; Lacerda *et al.*, 2007; Paton *et al.*, 2025).

Paton *et al.* (2025) demonstraram que dutos de aço carbono utilizados no transporte de petróleo e gás podem acumular Hg em quantidades significativamente altas ao longo de meses ou anos, mesmo na ausência de corrosão visível. A cinética de deposição observada pelos autores evidencia que concentrações superiores a $0,001 \text{ g Hg} \cdot \text{m}^{-2}$ podem ser atingidas em apenas alguns meses, chegando a valores próximos de $0,8 \text{ g Hg} \cdot \text{m}^{-2}$ após 36 meses de exposição ao Hg^0 . Esses achados revelam que a infraestrutura *offshore* atua como um reservatório de Hg, cuja liberação pode ocorrer durante operações de manutenção, intervenções técnicas ou especialmente durante o descomissionamento de estruturas.

Outro aspecto crítico levantado por Paton *et al.* (2025) refere-se à influência do H_2S , gás comum em fluxos de petróleo e gás, sobre a especiação do Hg depositado nos dutos. A presença de H_2S reduz a fração de Hg mais solúvel e facilmente mobilizável, favorecendo a formação de compostos menos biodisponíveis, como sulfetos de mercúrio (HgS). Ainda assim, cerca de 15% do Hg acumulado permaneceu mobilizável em água do mar, indicando que, mesmo em condições de transformação química que reduzam a toxicidade imediata, parte do Hg pode ser liberado e entrar na cadeia alimentar marinha. Isso é particularmente relevante para a Bacia de Santos, uma vez que a região abriga intensa atividade petrolífera e populações de organismos costeiros e pelágicos que se deslocam amplamente entre áreas produtivas, estuarinas e oceânicas.

Os organismos analisados neste estudo utilizam a Bacia de Santos como área de alimentação, reprodução, passagem ou migração. A presença de MeHg detectável em praticamente todas as espécies, ainda que com intensidades diferentes, reflete processos de biomagnificação, mas pode também refletir a contribuição antrópica associada às atividades de petróleo na região. A liberação contínua ou episódica de Hg mobilizável a partir de dutos, aliada a possíveis descargas residuais e ao transporte atmosférico de Hg associado à queima de gás ou ao refino, cria um cenário no qual organismos de diferentes níveis tróficos podem ser expostos ao Hg tanto de fontes naturais quanto industriais.

A heterogeneidade observada nas concentrações de MeHg e nas razões molares Se:Hg entre espécies e indivíduos pode, portanto, ser interpretada também sob o prisma da exposição ambiental diferenciada, possivelmente associada à proximidade de áreas de produção de petróleo. Aves e cetáceos, que apresentam maior mobilidade e abrangência espacial, podem interceptar áreas mais contaminadas ou regiões de hidrodinâmica favorável à dispersão de Hg. Tartarugas, especialmente juvenis, podem ser afetadas por *hotspots* localizados de

contaminação, inclusive em zonas costeiras onde resíduos de atividades *offshore* podem se depositar.

Dessa forma, embora os resultados deste estudo não permitam atribuir de forma direta a origem do Hg detectado à exploração petrolífera, a literatura recente demonstra que a infraestrutura *offshore* constitui um reservatório significativo de Hg capaz de contribuir para a contaminação marinha (Paton *et al.*, 2025). Isso reforça a necessidade de monitoramento contínuo em regiões de exploração e produção, especialmente em áreas de influência da Bacia de Santos, onde o risco de liberação de Hg a partir de dutos e estruturas metálicas é concreto e pode afetar espécies localizadas em diferentes níveis tróficos. Assim, os padrões observados neste estudo devem ser compreendidos dentro de um contexto ambiental que inclui tanto processos naturais quanto fontes antrópicas associadas à indústria petrolífera, destacando a importância de avaliações integradas para a compreensão da ciclagem do Hg em ambientes marinhos altamente antropizados.

4.13.2. Sugestões de aplicações e trabalhos futuros

Apesar dos avanços obtidos neste trabalho, algumas lacunas ainda permanecem e abrem espaço para investigações futuras. A primeira delas diz respeito à especificação química detalhada das diferentes formas de selênio e mercúrio presentes nos tecidos analisados. Embora este estudo tenha abordado a relação entre as concentrações totais e as frações metiladas de Hg, a caracterização das espécies moleculares (como Se orgânico, Se inorgânico, Hg^{2+} e HgSe) permitiria compreender de forma mais precisa os mecanismos de complexação e imobilização do mercúrio em vertebrados marinhos.

Outra lacuna importante é a ausência de informações sobre isótopos estáveis de carbono e nitrogênio ($\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$), que poderiam esclarecer o papel da dieta e da posição trófica na variação das razões Se:Hg entre espécies e indivíduos. A inclusão dessas variáveis ecológicas, associadas a modelos estatísticos multivariados, pode elucidar de que forma os fatores biológicos e ambientais modulam a bioacumulação e a detoxificação do mercúrio.

Também se destaca a necessidade de estudos espaciais e temporais de maior abrangência, considerando a natureza migratória de parte das espécies analisadas. Tais análises poderiam revelar possíveis gradientes de contaminação e permitir inferir a influência de fontes antrópicas regionais. Além disso, estudos quanto a contribuição da indústria do petróleo para emissão de

Hg na região, seja pela degradação de dutos ou outras fontes, também são de extrema relevância para endereçar as fontes dessa contaminação.

Por fim, recomenda-se a aplicação de técnicas de microscopia eletrônica e mapeamento elementar para verificar diretamente a formação de partículas de HgSe nos tecidos hepáticos, confirmando experimentalmente o mecanismo de detoxificação proposto. Esses avanços integrariam evidências químicas, morfológicas e ecológicas, fortalecendo o entendimento da dinâmica Se–Hg–MeHg em ecossistemas marinhos e consolidando o presente estudo como uma base para futuras investigações em ecotoxicologia comparada.

Em suma, os resultados concordam com os padrões gerais relatados na literatura: (i) razões Se:Hg consistentemente > 1 , (ii) dissociação entre Se–Hg(total) e Se–MeHg devido à demetilação e subsequente formação de HgSe, e (iii) elevada variabilidade individual que exige cautela na interpretação exclusivamente por médias. Ao mesmo tempo, o estudo oferece contribuições originais, especialmente sobre *Larus dominicanus*, mas também para *Spheniscus magellanicus* e *Chelonia mydas*, ao documentar detecção de altas concentrações MeHg concomitante a razões Se:Hg que indicam contaminação por metilmercúrio, mas ainda deixam lacunas quanto a real existência do mecanismo de detoxificação para os grupos, um achado que merece investigação complementar por especiação e caracterização microestrutural.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam a complexidade dos processos de bioacumulação, especiação e detoxificação do mercúrio em diferentes grupos de vertebrados marinhos do Atlântico Sul, destacando como fatores ecológicos, fisiológicos e ambientais interagem para moldar os padrões observados de Hg total (HgT), metilmercúrio (MeHg) e selênio (Se). A análise integrada de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*), cetáceos (*Pontoporia blainvillei* e *Sotalia guianensis*) e aves marinhas (*Larus dominicanus* e *Spheniscus magellanicus*) demonstrou que cada grupo responde de maneira distinta à exposição ao Hg, evidenciando que a dinâmica desse metal nos ecossistemas marinhos depende não apenas da posição trófica, mas também da fisiologia, da ecologia espacial e da capacidade de detoxificação das espécies.

Nas tartarugas-verdes, observou-se baixa frequência de detecção de MeHg e resultados que apontam para grande heterogeneidade intraespecífica, possivelmente associada à exposição pontual, diferenças individuais no uso do habitat ou características próprias do estágio juvenil. Apesar de poucas amostras apresentarem MeHg quantificável, aquelas que apresentaram revelaram concentrações relativamente elevadas, sugerindo episódios localizados de maior exposição. A alta razão Se:Hg encontrada reforça a ideia de que processos de desmetilação e formação de HgSe podem estar atuando de maneira eficiente, ainda que não uniforme entre indivíduos.

Os cetáceos analisados apresentaram padrões contrastantes, com concentrações de HgT compatíveis com a literatura e percentuais reduzidos de MeHg, fortemente indicativos de desmetilação hepática e subsequente complexação com selênio. As correlações mais altas entre Hg e Se, quando comparadas aos demais grupos, reforçam a robustez dos mecanismos de detoxificação conhecidos para odontocetos. Os valores de r^2 observados sugerem que a relação entre Se e Hg é mais consistente nos cetáceos, refletindo processos metabólicos melhor estabelecidos para lidar com a exposição crônica ao Hg em predadores de longa longevidade.

As aves marinhas, por sua vez, exibiram os maiores valores de MeHg, tanto em termos absolutos quanto relativos ao HgT, com 100% das amostras apresentando MeHg quantificável. Esse padrão é compatível com a dieta piscívora e com a alta taxa metabólica dessas espécies, mas também surpreende diante da magnitude dos valores observados, especialmente para o pinguim-de-magalhães. A alta amplitude intraespecífica de %MeHg sugere forte variação individual na exposição, possivelmente relacionada a diferenças no forrageamento durante rotas

migratórias. As razões molares Se:Hg elevadas encontradas para ambas as espécies indicam disponibilidade de Se suficiente para complexação, mas não impediram a retenção de MeHg em níveis significativos, sinalizando que a taxa de entrada de MeHg por meio da dieta pode superar parcialmente a capacidade de detoxificação.

A análise dos subgrupos (sexo, idade e local) não revelou padrões claros que expliquem as variações observadas, em parte devido ao tamanho amostral reduzido, mas também porque tais variáveis parecem exercer influência menor do que fatores ecológicos, dietéticos e fisiológicos. Diferenças tróficas, estratégias de forrageamento, ciclos de vida e rotas de migração parecem desempenhar papel mais determinante na exposição ao MeHg do que sexo ou faixa etária isoladamente. Do mesmo modo, a interpretação espacial dos dados é limitada pela ampla mobilidade das espécies analisadas, que dificulta a atribuição da contaminação ao local de encalhe ou captura.

Os resultados indicam que o selênio não exerce efeito protetor direto sobre o metilmercúrio, mas desempenha papel central na detoxificação do mercúrio após sua desmetilação no organismo, especialmente no fígado, evidenciado pelas correlações observadas entre Hg total e Se e pela ausência de correlação entre Se e MeHg.

Por fim, ao relacionar esses resultados com a área de estudo, a Bacia de Santos, e com as atividades de exploração e produção de petróleo que ocorrem intensamente na região, observa-se que a presença de Hg na biota marinha pode refletir tanto processos naturais de biomagnificação quanto fontes antrópicas associadas à indústria *offshore*. Estudos recentes, como o de Paton *et al.* (2025), demonstram que dutos e infraestrutura de aço carbono utilizados pela indústria petrolífera podem acumular quantidades substanciais de Hg ao longo do tempo e liberar frações mobilizáveis no ambiente marinho, mesmo na ausência de corrosão. Esses achados reforçam a necessidade de considerar a influência potencial das atividades petrolíferas sobre os níveis de Hg em organismos costeiros e migratórios, especialmente em regiões altamente antropizadas como a Bacia de Santos.

Em síntese, este estudo contribui para o entendimento da distribuição e das formas químicas do Hg em diferentes táxons marinhos, destacando que os processos de bioacumulação e detoxificação são específicos a cada grupo e dependem de fatores ecológicos e fisiológicos complexos. Os resultados obtidos demonstram a importância de análises integradas que considerem tanto características individuais das espécies quanto fatores ambientais e antrópicos mais amplos, reforçando a relevância do monitoramento contínuo da contaminação por Hg na costa brasileira, particularmente em áreas com intensa atividade industrial e petrolífera. Essa

abordagem integrada é essencial para a gestão ambiental, para a avaliação de riscos à fauna marinha e para o aprimoramento de políticas de conservação e mitigação dos impactos da contaminação por mercúrio no ambiente marinho.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. *et al.* Comprehensive composition and comparison of acidic nitrogen- and oxygen-containing compounds from pre- and post-salt Brazilian crude oil samples by ESI(-) FT-ICR MS. *Fuel*, v. 326, 2022.
- ALAVA, Juan José; CALLE, Paola; TIRAPÉ, Ana; BIEDENBACH, George; CADENA, Omar Alvarado; MARUYA, Keith; LAO, Wenjian; AGUIRRE, Windsor; JIMÉNEZ, Pedro J.; DOMÍNGUEZ, Gustavo A.; BOSSART, Gregory D.; FAIR, Patricia A. Persistent Organic Pollutants and Mercury in Genetically Identified Inner Estuary Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*) Residents of the Guayaquil Gulf, Ecuador: Ecotoxicological Science in Support of Pollutant Management and Cetacean Conservation. *Frontiers in Marine Science*, v. 7, 2020. DOI: 10.3389/fmars.2020.00122.
- ANAN, Y.; ISHIWATA, K.; SUZUKI, N.; TANABE, S.; OGRA, Y. Speciation and identification of low molecular weight selenium compounds in the liver of sea turtles. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 26, p. 80–85, 2011. DOI: 10.1039/C0JA00031K.
- ANAN, Y.; KUNITO, T.; WATANABE, I.; SAKAI, H.; TANABE, S. Trace element accumulation in hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Japan. *Environ. Toxicol. Chem.* 20, p. 2802–2814, 2000.
- ANDERSEN, H. R.; NIELSEN, J. B.; GRANDJEAN, P. Toxicologic evidence of developmental neurotoxicity of environmental chemicals. *Toxicology*, v. 144, n. 1–3, p. 121–127, 2000. DOI: 10.1016/S0300-483X(99)00198-5.
- ANP – AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Bacias sedimentares brasileiras*. Rio de Janeiro: ANP, 2017.
- ANP – AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis*. Rio de Janeiro: ANP, 2022.
- AOAC. Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. AOAC International, 2002.
- ARIMA, S.; NAGAKURA, K. Mercury and selenium content of Odontoceti. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, v. 45, p. 623–626, 1979.
- ARTHUR, K. E.; BOYLE, M. C.; LIMPUS, C. J. Ontogenetic changes in diet and habitat use in green sea turtles (*Chelonia mydas*): evidence from stable isotopes. *Marine Ecology Progress Series*, v. 362, p. 303–313, 2008.
- AULA, I.; BRAUNSCHWEILER, H.; LEINO, T.; MALIN, I.; PORVARI, P.; HATANAKA, T.; LODENIUS, M.; JURAS, A. Levels of mercury in the Tucuruí Reservoir and its surrounding area in Pará, Brazil. In: WATRAS, C.J.; HUCKABEE, J.W. (Eds.). *Mercury Pollution: Integration and Synthesis*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. p. 21–40.
- BAPTISTA, G.; KEHRIG, H. A.; DI BENEDETTO, A. P. M.; HAUSER-DAVIS, R. A.; ALMEIDA, M. G.; REZENDE, C. E.; SICILIANO, S.; MOURA, J. F.; MOREIRA, I. Mercury, selenium and stable isotopes in four small cetaceans from the Southeastern Brazilian coast: Influence of feeding strategy. *Environmental Pollution*, v. 218, p. 1298–1307, 2016. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.08.088.
- BARBOSA, A. C.; JARDIM, W. F.; DÓREA, J. G.; FADINI, P. S. Mercury biomagnification in a tropical black water, Rio Negro, Brazil. *Chemosphere*, v. 52, n. 10, p. 1711–1720, 2003.
- BASTOS, W. R.; LACERDA, L. D. A contaminação por mercúrio na Bacia do Rio Madeira: uma revisão. *Geochimica Brasiliensis*, v. 18, n. 2, p. 99–114, 2004.

- BASU, N.; HEAD, J. Mammalian wildlife as complementary models in environmental neurotoxicology. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 32, n. 1, 2010.
- BASU, N.; STAMLER, C. J.; LOUA, K. M.; CHAN, H. M. An interspecies comparison of mercury inhibition on muscarinic acetylcholine receptor binding in the cerebral cortex and cerebellum. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 205, n. 1, p. 71–76, 2005. DOI: 10.1016/j.taap.2004.09.009.
- BASU, Niladri; SCHEUHAMMER, A.; GROCHOWINA, N.; KLENAVIC, K.; EVANS O'BRIEN, M.; CHAN, H. M. Effects of mercury on neurochemical receptors in wild river otters (*Lontra canadensis*). *Environmental Science and Technology*, v. 39, 2005, p. 3585–3591. DOI: 10.1021/es0483746.
- BELLANTE, A. *et al.* Stranded cetaceans as indicators of mercury pollution in the Mediterranean Sea. *Italian Journal of Zoology*, v. 79, p. 151–160, 2012. DOI: 10.1080/11250003.2011.621072.
- BELTER, P. A.; CUSSLER, E. L.; HU, W. S. *Bioseparations: Downstream Processing for Biotechnology*. 1. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 1988.
- BILANDŽIĆ, N. *et al.* Toxic element concentrations in the bottlenose (*Tursiops truncatus*), striped (*Stenella coeruleoalba*) and Risso's (*Grampus griseus*) dolphins stranded in the eastern Adriatic Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 89, p. 467–473, 2012.
- BILANDŽIĆ, N. *et al.* Concentration of mercury and selenium in tissues of five cetacean species from Croatian coastal waters. *Archives of Biological Sciences*, v. 67, p. 1377–1389, 2015.
- BJORNDAL, K. A. Foraging ecology and nutrition of sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (eds.). *The Biology of Sea Turtles*. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 199–231.
- BLOOM, N. S. Determination of picogram levels of methylmercury by aqueous phase ethylation, followed by cryogenic gas chromatography with cold vapor atomic fluorescence detection. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 46, n. 7, p. 1131–1140, 1989.
- BOOTH, S.; ZELLER, D. Mercury, food webs, and marine mammals: implications of diet and climate change for human health. *Environmental Health Perspectives*, v. 113, n. 5, p. 521–526, 2005.
- BOSSART, Gregory D. Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Veterinary Pathology*, v. 48, n. 3, 2011, p. 676–690. DOI: 10.1177/0300985810388525.
- BRAMANTI, E. *et al.* Mercury speciation by liquid chromatography coupled with on-line chemical vapour generation and atomic fluorescence spectrometric detection (LC-CVGAFS). *Talanta*, v. 66, n. 3, p. 762–768, 2005.
- BRANDINI, F. P. *Phytoplankton assemblages of the subtropical South West Atlantic: composition and dynamics in relation to physical and chemical processes. Plankton ecology of the southwestern atlantic*. Cham: Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77869-3_7. Acesso em: 08 julho. 2026.
- BRANQUINHO, C.; CATARINO, F.; BROWN, D. H.; PEREIRA, M. J.; SOARES, A. Improving the use of lichens as biomonitors of atmospheric metal pollution. *Sci. Total Environ.*, v. 232, n. 1-2, p. 67–77, 1999. doi: 10.1016/s0048-9697(99)00111-4.
- BRAVO, A. G.; COSIO, C. Biotic formation of methylmercury: a bio-physico-chemical conundrum. *Limnology and Oceanography*, v. 65, n. 5, p. 1010–1027, 2020.
- BURGER, J.; GOCHFELD, M. Selenium and mercury molar ratios in saltwater fish from New Jersey: individual and species variability complicate use in human health fish consumption advisories. *Environmental Research*, v. 114, p. 12–23, 2012.

- BURGER, Joanna; GOCHFELD, Michael; JEITNER, C.; *et al.* Selenium: mercury molar ratios in freshwater fish from Tennessee. *EcoHealth*, v. 9, 2012, p. 171–182.
- BUSTAMANTE, P. *et al.* Total and organic mercury concentrations in cephalopods from the north-eastern Atlantic waters: influence of geographical origin and feeding ecology. *Science of The Total Environment*, v. 368, p. 585–596, 2006.
- BUSTAMANTE, P.; GARRIGUE, C.; BREAU, L.; CAURANT, F.; DABIN, W.; GREAVES, J.; DODEMONT, R. Trace elements in two odontocete species (*Kogia breviceps* and *Globicephala macrorhynchus*) stranded in New Caledonia. *Environmental Pollution*, v. 124, 2003, p. 263–271.
- CAMPOS, E. 1. D. 1995. Estudos da circulação oceânica no Atlântico tropical e região oeste do Atlântico Subtropical Sul. Tese de livre docência. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico. 114p.
- CAPELLI, R. *et al.* Distribution of trace elements in organs of six species of cetaceans from the Ligurian Sea (Mediterranean), and the relationship with stable carbon and nitrogen ratios. *Science of The Total Environment*, v. 390, p. 569–578, 2008.
- CAPELLI, R.; DRAVA, G.; DE PELLEGRINI, R.; MINGANTI, V.; POGGI, R. Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins found dead along the Ligurian coasts (Italy). *Advances in Environmental Research*, v. 4, 2000, p. 31–43.
- CARDELLICCHIO, N.; DECATALDO, A.; DI LEO, A.; MISINO, A. Accumulation and tissue distribution of mercury and selenium in striped dolphin from the Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, v. 116, 2002, p. 265–271.
- CARDONA, L.; AGUILAR, A.; PAZOS, L. Delayed ontogenetic dietary shift and high levels of omnivory in green turtles (*Chelonia mydas*) from the NW coast of Africa. *Marine Biology*, v. 156, p. 1487–1495, 2009.
- CASTRO, B. M.; BRANDINI, F.; PIRES-VANIN, A. M.; MIRANDA, L. B. Multidisciplinary Oceanographic Processes On the Western Atlantic Continental Shelf Between 4N and 34S. *The Sea*. New York: Wiley, 2006. v. 14, p. 259–293.
- CAURANT, F.; NAVARRO, M.; AMIARD, J.-C. Mercury in pilot whales: possible limits to the detoxification process. *Science of the Total Environment*, v. 186, 1996, p. 95–104.
- CECÍLIO, P. *et al.* Relationships between total and organic mercury concentrations in tissues and length of common dolphins (*Delphinus delphis*) from the Portuguese coast. *Ciencias Marinas*, v. 32, p. 379–387, 2006.
- CHANG, L.; MUNRO, S. L.; RICHARDSON, S. J.; SCHREIBER, G. Evolution of thyroid hormone binding by transthyretins in birds and mammals. *European Journal of Biochemistry*, v. 259, 1999, p. 534–542.
- CHEN, C. *et al.* Methylmercury in marine ecosystems: spatial patterns and processes of production, bioaccumulation, and biomagnification. *EcoHealth*, v. 5, n. 4, p. 399–408, 2008. DOI: 10.1007/s10393-008-0201-1.
- CHOI, A. L. *et al.* Methylmercury exposure and adverse cardiovascular effects in Faroese whaling men. *Environmental Health Perspectives*, v. 117, n. 3, p. 367–372, 2009.
- CLARKSON, T. W.; MAGOS, L.; MYERS, G. J. The toxicology of mercury: current exposures and clinical manifestations. *New England Journal of Medicine*, v. 349, n. 18, p. 1731–1747, 2003.
- CLARKSON, T. W.; MAGOS, L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, v. 36, n. 8, p. 609–662, 2006.
- CORRÊA, A. *et al.* Hydrocarbon composition of oils spilt on the Brazilian coast in 2019 and 2022. *Marine Pollution Bulletin*, v. 207, 2024.

- CUVIN-ARALAR, M. L. A.; FURNESS, R. W. Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 21, p. 348–364, 1991.
- CÁCERES-SAEZ, I. *et al.* Mercury and selenium in Subantarctic Commerson's dolphins (*Cephalorhynchus c. commersonii*). *Biological Trace Element Research*, v. 151, p. 195, 2013. DOI: 10.1007/s12011-012-9555-x.
- CÁCERES-SAEZ, Iris; HARO, Daniela; BLANK, Olivia; LOBO, Anelio Aguayo; DOUGNAC, Catherine; ARREDONDO, Cristóbal; CAPPOZZO, H. Luis; GUEVARA, Sergio Ribeiro. High status of mercury and selenium in false killer whales stranded in Southern South America. *Chemosphere*, v. 199, 2018, p. 637–646. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.046.
- DANTAS, R. C. *et al.* Evidence for methane seepage in South Atlantic from the occurrence of authigenic gypsum and framboidal pyrite in deep-sea sediments. *Marine and Petroleum Geology*, v. 142, 2022.
- DAS, K.; DEBACKER, V.; PILLET, S.; BOUQUEGNEAU, J.; VOS, J.; BOSSART, G.; FOURNIER, M.; O'SHEA, T. Heavy metals in marine mammals. In: (Eds.). *Toxicology of Marine Mammals*. Washington D.C.: Taylor and Francis Publishers, 2003. p. 135–167.
- DAY, R. D. *et al.* Relationship of blood mercury levels to health parameters in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Environmental Health Perspectives*, v. 115, p. 1421–1428, 2007.
- DEEM, S. L.; DIERENFELD, E. S.; SOUNGUET, G. P.; ALLEMAN, A. R.; CRAY, C.; POPPENG, R. H.; NORTON, T. M.; KARESH, W. B. Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 37, 2006, p. 464–471.
- DELGADO-SUAREZ, I. *et al.* Metal and trace element concentrations in cetaceans worldwide: a review. *Marine Pollution Bulletin*, v. 192, p. 115010, 2023.
- DESFORGES, J.-P. W.; SONNE, C.; LEVIN, M.; SIEBERT, U.; DE GUISE, S.; DIETZ, R. Immunotoxic effects of environmental pollutants in marine mammals. *Environment International*, v. 86, 2016, p. 126–139. DOI: 10.1016/j.envint.2015.10.007.
- DI BENEDITTO, Ana Paula M.; RAMOS, R. M. A. Biology and conservation of the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) in the north of Rio de Janeiro State, Brazil. *Journal of Cetacean Research and Management*, v. 3, 2001, p. 185–192.
- DI BENEDITTO, Ana Paula M.; RAMOS, R. M. A. Biology of the marine tucuxi dolphin (*Sotalia fluviatilis*) in south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, v. 84, 2004, p. 1245–1250.
- DIETZ, R. *et al.* What are the toxicological effects of mercury in Arctic biota? *Science of The Total Environment*, v. 443, p. 775–790, 2013.
- DIETZ, R.; NIELSEN, C. O.; HANSEN, M. M.; HANSEN, C. T. Organic mercury in Greenland birds and mammals. *Science of the Total Environment*, v. 95, p. 41–51, 1990.
- DIETZ, R.; RIGET, F.; BORN, E. W. An assessment of selenium to mercury in Greenland marine animals. *Science of the Total Environment*, v. 245, 2000, p. 15–24.
- DONOGHUE, S. Nutrition. In: MADER, D. R. (Ed.). *Reptile Medicine and Surgery*. 2. ed. St. Louis: Elsevier, 2006. p. 251–298.
- ENDO, T.; HARAGUCHI, K.; SAKATA, M. Mercury and selenium concentrations in the internal organs of toothed whales and dolphins marketed for human consumption in Japan. *Science of The Total Environment*, v. 300, p. 15–22, 2002.
- ENDO, T. *et al.* Contamination level of mercury in red meat products from cetaceans available from South Korea markets. *Marine Pollution Bulletin*, v. 54, p. 669–677, 2007.
- EVANS, R. D.; ADDISON, E. M.; VILLENEUVE, J. Y.; MACDONALD, K. S.; JOACHIM, D. G. An examination of spatial variation in mercury concentrations in otter (*Lutra canadensis*) in south-central Ontario. *Science of the Total Environment*, v. 213, 1998, p. 239–245.

EWALD, Jessica D.; KIRK, Jane L.; LI, Miling; SUNDERLAND, Elsie M. Organ-specific differences in mercury speciation across ringed seal life stages. *Science of the Total Environment*, v. 650, 2019, p. 2013–2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.299.

FAVILLI, L.; GIACOMINO, A.; MALANDRINO, M.; INAUDI, P.; DIANA, A.; ABOLLINO, O. Strategies for mercury speciation with single and multi-element approaches by HPLC-ICP-MS. *Front. Chem*, v. 10, 2022. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.1082956>.

FEROCI, G.; BADIELLO, R.; FINI, A. Interactions between different selenium compounds and zinc, cadmium and mercury. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 18, 2005, p. 227–234.

FIORAMONTI, N. E. *et al.* Mercury transfer in coastal and oceanic food webs from the Southwest Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, v. 175, 113365, 2022.

FITZGERALD, W. F. *et al.* Modern and historic atmospheric mercury fluxes in northern Alaska: global sources and Arctic depletion. *Environmental Science & Technology*, v. 39, n. 15, p. 557–568, 2005.

FORT, J.; LACOUÉ-LABARTHE, T.; NGUYEN, H.; BOUÉ, A.; SPITZ, J.; BUSTAMANTE, P. Mercury in wintering seabirds. *Science of the Total Environment*, v. 527, 2015, p. 448–454. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.05.018.

FRANÇA, D.; COUTINHO, D. M.; BARRA, T.; XAVIER, R. S. Molecular-level characterization of Brazilian pre-salt crude oils by advanced analytical techniques. *Fuel*, v. 293 (10):120474, 2021. DOI:10.1016/j.fuel.2021.120474.

FURNESS, R. W.; CAMPHUYSEN, K. C. J. Seabirds as monitors of the marine environment, *ICES Journal of Marine Science*, Volume 54, Issue 4, August 1997, Pages 726–737, <https://doi.org/10.1006/jmsc.1997.0243>.

GAJDOSECHOVA, Z.; LAWAN, M.; URGAST, D. *et al.* In vivo formation of natural HgSe nanoparticles in the liver and brain of pilot whales. *Scientific Reports*, v. 6, 34361, 2016. DOI: 10.1038/srep34361.

GANTHER, H. E. *et al.* Selenium: relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. *Science*, v. 175, p. 1122–1124, 1972.

GASKIN, D. E. *et al.* Mercury, DDT, Dieldrin, and PCB in two species of Odontoceti (Cetacea) from St. Lucia, Lesser Antilles. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, v. 31, n. 7, p. 1235–1239, 1974.

GASKIN, D. E. *et al.* Changes in mercury levels in harbor porpoises from the Bay of Fundy, Canada, and adjacent waters during 1969–1977. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 8, p. 733–762, 1979.

GERPE, M. S.; RODRIGUEZ, D. H.; MORENO, V. J.; BASTIDA, R. O.; MORENO, J. A. E. Accumulation of heavy metals in the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from Buenos Aires Province, Argentina. *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, v. 1, n. 1, 2002, p. 95–106.

GIBB, H.; O’LEARY, K. G. Mercury exposure and health impacts among individuals in the artisanal and small-scale gold mining community: a comprehensive review. *Environmental Health Perspectives*, v. 122, n. 7, p. 667–672, 2014.

GICKING, J. C.; FOLEY, A. M.; HARR, K. E.; RASKIN, R. E.; JACOBSON, E. Plasma protein electrophoresis of the Atlantic loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, v. 14, 2004, p. 13–18.

GILMOUR, C. C.; PODAR, M.; BULLOCK, A. L.; GRAHAM, A. M.; BROWN, S. D.; SOMENAHALLY, A. C.; JOHS, A.; HURT JR, R. A.; BAILEY, K. L.; ELIAS, D. A. Mercury methylation by novel microorganisms from new environments. *Environ. Sci. Technol.*, v. 47, n. 20, p. 11810–20, 2013. DOI: 10.1021/es403075t.

- GODLEY, B. J.; THOMPSON, D. R.; FURNESS, R. W. Do heavy metal concentrations pose a threat to marine turtles? *Marine Pollution Bulletin*, v. 38, n. 6, p. 497–502, 1999.
- GUARI, E. B.; VANNUCI-SILVA, M.; MANHÃES, B. M. R.; *et al.* Mercury concentrations in two populations of the most endangered dolphin (*Pontoporia blainvillei*) from the Southwestern Atlantic Ocean. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 112, 2024, p. 82. DOI: 10.1007/s00128-024-03904-y.
- GUI, D. *et al.* Mercury and Selenium in Stranded Indo-Pacific Humpback Dolphins and Implications for Their Trophic Transfer in Food Chains. *PLOS ONE*, v. 9, n. 10, e110336, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0110336.
- HACON, S. *et al.* An overview of mercury contamination research in the Amazon basin with an emphasis on Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 24, n. 7, p. 1479–1492, 2008.
- HAMMERSCHMIDT, C. R.; FITZGERALD, W. F. Bioaccumulation and trophic transfer of methylmercury in Long Island Sound. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 51, n. 3, p. 416–424, 2006.
- HANSEN, J. C.; DANSCHER, G. Quantitative and qualitative distribution of mercury in organs from arctic sledgedogs: an atomic absorption spectrophotometric and histochemical study of tissue samples from natural long-termed high dietary organic mercury-exposed dogs from Thule, Greenland. *Pharmacol Toxicol.* 1995 Sep;77(3):189-95. doi: 10.1111/j.1600-0773.1995.tb01011.x. PMID: 8884882.
- HINTELMANN, H. Organomercurials: Their formation and pathways in the environment. *Metals Ions in Life Sciences*, v. 7, p. 365–401, 2010.
- HOHENBERGER, J. M.; BERGMANN, C. P.; IONESCU, L. G. Presence of mercury in petroleum. *Southern Brazilian Journal of Chemistry*, v. 14, n. 14, p. 17–25, 2006.
- HOPKINS, B. C.; HEPNER, M. J.; HOPKINS, W. A. Non-destructive techniques for biomonitoring mercury and maternal transfer in turtles. *Environmental Pollution*, v. 177, 2013, p. 164–170.
- ICMBIO – INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. *Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção*. Brasília: ICMBio, 2018.
- IKEMOTO, T.; KUNITO, T.; TANAKA, H.; BABA, N.; MIYAZAKI, N.; TANABE, S. Detoxification mechanism of heavy metals in marine mammals and seabirds: interaction of selenium with mercury, silver, copper, zinc, and cadmium in liver. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 47, 2004, p. 402–413. DOI: 10.1007/s00244-004-3188-9.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). *Safety Evaluation of Certain Contaminants in Food*. Geneva: World Health Organization, 2011.
- IMO – INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION. *Revised MARPOL Annex I: Regulations for the prevention of pollution by oil*. London: IMO, 2007.
- INMETRO. *Orientação sobre validação de métodos analíticos*. Brasília: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, 2018. (DOQ-CGCRE-008, Revisão 05). IUPAC. *Compendium of Analytical Nomenclature: The Orange Book*. 3. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997.
- IUCN – INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE. *The IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2023-2. Gland: IUCN, 2023.
- JAKIMSKA, A.; KONIECZKA, P.; SKÓRA, K.; NAMIEŚNIK J. Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, Part I: the role and impact of heavy metals on organisms. *Pol. J. Environ. Stud.*, 20 (2011), pp. 1117-1125.
- JAKIMSKA, A.; KONIECZKA, P.; SKÓRA, K.; NAMIEŚNIK J. Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, Part II: metal concentrations in animal tissues. *Pol. J. Environ. Stud.*, 20 (2011), pp. 1127-1146.

- Ji, X. *et al.* Identification of mercury-containing nanoparticles in the liver and muscle of cetaceans. *Journal of Hazardous Materials*, v. 424, Part D, 2022.
- JONSSON, S.; ANDERSSON, A.; NILSSON, M. B.; SKYLLBERG, U.; LUNDBERG, E.; SCHAEFER, J. K.; *et al.* Terrestrial discharges mediate trophic shifts and enhance methylmercury accumulation in estuarine biota. *Science Advances*, v. 3, 2017, e1601239. DOI: 10.1126/sciadv.1601239.
- JULSHAMN, K.; ANDERSEN, A.; RINGDAL, O.; MØRKØRE, J. Trace elements intake in the Faroe Islands I. Element levels in edible parts of pilot whales (*Globicephalus meleanus*). *Science of the Total Environment*, v. 65, p. 53–62, 1987.
- KAMPALATH, R.; GARDNER, S. C.; MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, L.; JAY, J. A. Total and methylmercury in three species of sea turtles of Baja California Sur. *Marine Pollution Bulletin*, v. 52, 2006, p. 1816–1823. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2006.09.019.
- KEHRIG, H. A. *et al.* Mercury and selenium biomagnification in a Brazilian coastal food web using nitrogen stable isotope analysis: a case study in an area under the influence of the Paraíba do Sul River plume. *Marine Pollution Bulletin*, v. 75, p. 283–290, 2013.
- KEHRIG, H. A.; SEIXAS, T. G.; PALERMO, E. A.; DI BENEDITTO, A. P. M.; SOUZA, C. M. M.; MALM, O. Different species of mercury in the livers of tropical dolphins. *Analytical Letters*, v. 41, n. 9, p. 1691–1699, 2008. DOI: 10.1080/00032710802122677.
- KEHRIG, H. A. *et al.* Mercury species, selenium, metallothioneins and glutathione in two dolphins from the southeastern Brazilian coast: Mercury detoxification and physiological differences in diving capacity. *Environmental Pollution*, v. 213, p. 785–792, 2016. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.03.041.
- KEHRIG, H. A. *et al.* Trace-elements, methylmercury and metallothionein levels in Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) found stranded on the Southern Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin*, v. 96, p. 450–455, 2015. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.05.006.
- KEHRIG, H. A.; BAPTISTA, G.; DI BENEDITTO, A. P. M.; ALMEIDA, M. G.; REZENDE, C. E.; SICILIANO, S.; *et al.* Biomagnificación de mercurio en la cadena trófica del Delfín Moteado del Atlántico usando isótopos de nitrógeno. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, v. 52, 2017, p. 233–244. DOI: 10.4067/s0718-19572017000200004.
- KEHRIG, H. A.; SEIXAS, T. G.; BAÊTA, A. P.; LAILSON-BRITO JR., J.; MOREIRA, I.; MALM, O. Total mercury, methylmercury and selenium in the livers and muscle of different fishes and a marine mammal from a tropical estuary. *RMZ – Materials and Geoenvironment*, v. 51, 2004, p. 1111–1114.
- KERSHAW, J. L.; HALL, A. J. Mercury in cetaceans: exposure, bioaccumulation and toxicity. *Science of the Total Environment*, v. 694, 133683, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.133683.
- KHAN, M. A. K.; WANG, F. Mercury–selenium compounds and their toxicological significance: toward a molecular understanding of the mercury–selenium antagonism. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 28, p. 1567–1577, 2009. DOI: 10.1897/08-375.1.
- KIM, B. S. M. *et al.* Understanding Hg distribution in sediments from the Santos and São Vicente Estuarine System, southeastern Brazil. *Journal of Trace Elements and Minerals*, v. 2, 2022.
- KOEMAN, J. H. *et al.* Mercury–selenium correlations in marine mammals. *Nature*, v. 245, p. 385–386, 1973.
- KRABBENHOFT, D. P.; SUNDERLAND, E. M. Global change and mercury. *Science*, v. 341, p. 1457–1458, 2013. DOI: 10.1126/science.1242838.

KREY, A.; OSTERTAG, S. K.; CHAN, H. M. Assessment of neurotoxic effects of mercury in beluga whales, ringed seals, and polar bears from the Canadian Arctic. *Science of the Total Environment*, v. 509, p. 237–247, 2015. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.05.134.

KUBOTA, R.; KUNITO, T.; TANABE, S. Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. *Environmental Pollution*, v. 115, p. 303–312, 2001.

KUNITO, T. *et al.* Concentration and subcellular distribution of trace elements in liver of small cetaceans incidentally caught along the Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin*, v. 49, p. 574–587, 2004.

LACERDA, L. D.; MARINS, R. V. Anthropogenic mercury emissions to the atmosphere in Brazil: The impact of gold mining. *Journal of Geochemical Exploration*, Volume 58 (2–3), 1997, p. 223–229, ISSN 0375-6742, [https://doi.org/10.1016/S0375-6742\(96\)00068-4](https://doi.org/10.1016/S0375-6742(96)00068-4).

LACERDA, L. D. de; SANTOS, A. F. dos; MARINS, R. V. Emissão de mercúrio pela queima de gás natural no Brasil. *Química Nova*, v. 30, n. 2, 2007, p. 366–369. DOI: 10.1590/S0100-40422007000200024.

LAILSON-BRITO, J.; CRUZ, R.; DORNELES, P. R.; ANDRADE, L.; AZEVEDO, A. de F.; FRAGOSO, A. B.; *et al.* Mercury-selenium relationships in liver of Guiana dolphin: possible role of Kupffer cells in tiemannite formation. *PLoS One*, v. 7, 2012, e42162. DOI: 10.1371/journal.pone.0042162.

LAVOIE, R. A.; JARDINE, T. D.; CHUMCHAL, M. M.; KIDD, K. A.; CAMPBELL, L. M. Biomagnification of mercury in aquatic food webs: a global meta-analysis. *Environmental Science & Technology*, v. 47, 2013, p. 13385–13394. DOI: 10.1021/es403103t.

LAW, R. J.; MORRIS, R. J.; ALLCHIN, C. R.; JONES, B. R.; NICHOLSON, M. D. Metals and organochlorines in small cetaceans stranded on the east coast of Australia. *Marine Pollution Bulletin*, v. 46, 2003, p. 1200–1211.

LEBEL, J.; ROULET, M.; MERGLER, D.; LUCOTTE, M.; LARRIBE, F. Fish diet and mercury exposure in a riparian Amazonian population. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 97, 1997, p. 31–44.

LEONZIO, C.; FOCARDI, S.; FOSSI, C. Heavy metals and selenium in stranded dolphins of the Northern Tyrrhenian. *Science of the Total Environment*, v. 119, 1992, p. 77–84.

LI, J. *et al.* Editorial: Waste management of petroleum hydrocarbons in marine environment. *Frontiers in Environmental Science*, v. 11, 2023.

LICHT, P.; DENVER, R. J.; STAMPER, D. L. Relation of plasma thyroxine binding to thyroidal activity in a turtle. *General and Comparative Endocrinology*, v. 80, 1990, p. 238–256.

LOCKHART, W. L. *et al.* Concentrations of mercury in tissues of beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from several communities in the Canadian Arctic from 1981 to 2002. *Science of the Total Environment*, v. 351–352, p. 391–412, 2005. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.01.050.

LODENIUS, M.; Malm, O. Mercury in the Amazon. *Rev Environ Contam Toxicol*. 1998;157:25-52. doi: 10.1007/978-1-4612-0625-5_2. PMID: 9666740.

LÓPEZ-BERENGUER, G.; PEÑALVER, J.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, E. A critical review about neurotoxic effects in marine mammals of mercury and other trace elements. *Chemosphere*, v. 246, 2020, 125688. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.125688.

LORENZO, R. A.; VAZQUEZ, M. J.; CARRO, A. M.; CELA R. Methylmercury extraction from aquatic sediments: A comparison between manual, supercritical fluid and microwave-assisted techniques. *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999), p. 410.

- MÄDER, A.; SANDER, M.; CASA JR, G. Ciclo sazonal de mortalidade do pinguim-de-magalhães, *Spheniscus magellanicus* influenciado por fatores antrópicos e climáticos na costa do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Ornitologia*, v. 18, n. 3, p. 228-233, 2010.
- Silva, L.; Saporit, F.; Vales, D. *et al.* Differences in diet composition and foraging patterns between sexes of the Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) during the non-breeding period as revealed by $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in feathers and bone. *Mar. Biol.* V. 161, p. 1195–1206, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2410-1>.
- MAHIQUES, M. M.; SOUSA, S. H. M.; BURONE, L.; NAGAI, R. H.; SILVEIRA, I. C. A.; FIGUEIRA, R. C. L.; SOUTELINO, R. G.; PONSONI, L.; KLEIN, D. A. Radiocarbon geochronology of the sediments of the São Paulo Bight (southern Brazilian upper margin). *Anais Da Academia Brasileira De Ciências*, 83(3), 817–834, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652011005000028>.
- MAHN, A. V.; TOLEDO, H. M.; RUZ, M. Dietary supplementation with selenomethylselenocysteine produces a differential proteomic response. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 20, 2009, p. 791–799.
- MALM, O.; CASTRO, M. B.; BASTOS, W. R.; BRANCHES, F. J. P.; BRANCHES, J. R. D.; GUIMARAES, C. E.; ZUFO, E. C.; PFEIFFER, W. C. An assessment of Hg pollution in different gold mining areas of the Amazon. *Science of the Total Environment*, v. 17, 1995, p. 127–140. DOI: 10.1016/0048-9697(95)04909-6.
- MALM, O.; GUIMARAES, J. R. D.; CASTRO, M. B.; BASTOS, W. R.; VIANA, J. P.; PFEIFFER, W. C. Follow-up of mercury levels in fish and humans in the Madeira and Tapajós basins. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 97, 1997, p. 45–51.
- MANHÃES, B. M. R. *et al.* Changes in mercury distribution and its body burden in delphinids affected by a morbillivirus infection: Evidences of methylmercury intoxication in Guiana dolphin. *Chemosphere*, v. 263, 128286, 2021. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.128286.
- MARKERT, B. Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2007, p. 77–82.
- MARTÍNEZ-LÓPEZ, E. *et al.* Trace metals in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded along the Murcia coastline, Mediterranean Sea, during the period 2009–2015. *Chemosphere*, v. 229, 2019.
- MASON, R. P. *et al.* Mercury in the Chesapeake Bay. *Marine Chemistry*, v. 65, p. 77–96, 1999.
- MEADOR, J. P.; ERNEST, D.; HOHN, A. A.; TILBURY, K.; GORZELANY, J.; WORTHY, G.; STEIN, J. E. Comparison of elements in bottlenose dolphins stranded in Texas and Florida. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 36, 1999, p. 87–98.
- MEDINA, I.; RUBY, E.; MEJUTO, M. C.; CELA R. Speciation of organomercurials in marine samples using capillary electrophoresis. *Talanta*, 40 (1993), p. 1631.
- MEYER, E.; EAGLES-SMITH, C. A.; SPARLING, D.; BLUMENSHINE, S. Mercury exposure and altered plasma thyroid hormones in the declining western pond turtle. *Environmental Science & Technology*, v. 48, 2014, p. 2989–2996.
- MIRANDA, M. R.; COELHO-SOUZA, S. A.; GUIMARÃES, J. R. D. *et al.* Mercúrio em sistemas aquáticos: fatores ambientais que afetam a metilação. *Oecologia Brasiliensis*, v. 11, p. 240–251, 2007. DOI: 10.4257/oeco.2007.1102.08.
- MOHRIAK, W. U.; NEMČOK, M.; ENCISO, G. South Atlantic divergent margin evolution: rift-border uplift and salt tectonics in the basins of SE Brazil. *Geological Society, London, Special Publications*, v. 294, p. 365–398, 2008. DOI: 10.1144/SP294.19.
- MOLINA, C. I.; GIBON, F. M.; DUPREY, J. L.; DOMÍNGUEZ, E.; GUIMARÃES, J. R.; ROULET, M. Transfer of mercury and methylmercury along macroinvertebrate food chains. *Science of the Total Environment*, v. 408, 2010, p. 3382–3391.

- MONK, A. *et al.* Comparison of mercury contamination in live and dead dolphins from a newly described species, *Tursiops australis*. PLoS ONE, v. 9, n. 8, e104887, 2014.
- MONTEIRO, L. R.; FURNESS, R. W. Seabirds as monitors of mercury in the marine environment. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 80, 1995, p. 851–870.
- MONTEIRO-NETO, C.; ITAVO, R. V.; MORAES, L. E. S. Concentrations of heavy metals in *Sotalia fluviatilis* of Ceará, Brazil. *Environmental Pollution*, v. 123, p. 319–324, 2003.
- MOREL, F. M. M.; KRAEPIEL, A. M. L.; AMYOT, M. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 29, 1998, p. 543–566.
- MOURA, J. F. *et al.* Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*, Van Benédén 1864) as indicators of the bioaccumulation of total mercury along the coast of Rio de Janeiro State, southeastern Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 88, p. 54–59, 2012.
- MOURA, J. F. *et al.* Interspecific variation of essential and non-essential trace elements in sympatric seabirds. *Environmental Pollution*, v. 242, p. 470–479, 2018. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.06.092.
- NAÇÕES UNIDAS. Assembleia Geral. Transforming our World: the 2030 Agenda for Sustainable Development (Resolução A/RES/70/1, 25 de setembro de 2015). Nova Iorque: ONU, 2015. Disponível em: https://sdgs-un.org.translate.goog/2030agenda?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt&_x_tr_pto=tc. Acesso em: 06 de abril de 2025.
- NAGAKURA, K.; ARIMA, S.; KURIHAMA, M.; KOGA, T.; FUJITA, T. Mercury content of whales. *Bulletin of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, v. 78, p. 41–46, 1974.
- NAKAZAWA, E.; IKEMOTO, T.; HOKURA, A.; TERADA, Y.; KUNITO, T.; TANABE, S.; NAKAI, I. The presence of mercury selenide in various tissues of the striped dolphin: evidence from μ -XRF-XRD and XAFS analyses. *Metallomics*, v. 3, 2011, p. 719–725. DOI: 10.1039/C0MT00106F.
- NG, C. K. Y. *et al.* Levels of trace elements, methylmercury and PBDEs in foraging green turtles in the South China region. *Environmental Pollution*, v. 234, p. 735–742, 2018. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.11.100.
- NIGRO, M.; LEONZIO, C. Intracellular storage of mercury and selenium in different marine vertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, v. 135, p. 137–143, 1996.
- NIGRO, M. *et al.* Mercury exposure and elimination rates in captive bottlenose dolphin. *Marine Pollution Bulletin*, v. 44, p. 1071–1075, 2002.
- NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M. (eds.). *Handbook on the Toxicology of Metals*. 4. ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2014.
- OLIVEIRA, L. C. *et al.* Distribuição de mercúrio em diferentes solos da Bacia do médio Rio Negro-AM: influência da matéria orgânica no ciclo biogeoquímico do mercúrio. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 274–280, 2007.
- OSBORNE, A. G.; JACOBSON, E. R.; BRESSETTE, M. J.; SINGEWALD, D. A.; SCARPINO, R. A.; BOLTEN, A. B. Reference intervals and relationships between health status, carapace length, body mass and environmental factors in Atlantic loggerhead and green turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 237, 2010, p. 561–567.
- PALMISANO, F.; CARDELLICCHIO, N.; ZAMBONIN, P. G. Speciation of mercury in dolphin liver: a two-stage mechanism for the demethylation process and role of selenium. *Marine Environmental Research*, v. 40, n. 2, 1995, p. 109–121.

PATON, Lhiam; KIESEL, Sandra; FELDMANN, Jörg. The impact of H₂S on Hg accumulation on non-corroded pipelines and implications for risk assessment in offshore decommissioning. *Fuel Communications*, v. 25, 2025, 100149. DOI: 10.1016/j.jfueco.2025.100149.

PERRAULT, J.; WYNEKEN, J.; THOMPSON, L. J.; JOHNSON, C.; MILLER, D. L. Why are hatching and emergence success low? Mercury and selenium concentrations in nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) and their young in Florida. *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, p. 1671–1682, 2011. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2011.06.009.

PERRAULT, J. R.; WYNEKEN, J.; PAGE-KARJIAN, A.; MERRILL, A.; MILLER, D. L. Seasonal trends in nesting leatherback turtle serum proteins further support the capital-breeding hypothesis. *Conservation Physiology*, v. 2, 2014, article cou002.

PERRAULT, J. R.; STACY, N. I.; LEHNER, A. F.; MOTT, C. R.; HIRSCH, S.; GORHAM, J. C.; BUCHWEITZ, J. P.; BRESSETTE, M. J.; WALSH, C. J. Potential effects of brevetoxins and toxic elements on various health variables in Kemp's ridley (*Lepidochelys kempii*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles after a red tide bloom event. *Science of The Total Environment*, Volumes 605–606, 2017, p. 967-979, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.149>.

PETROBRAS. Informe Bacia de Santos Março/2017. Edição 06. Santos: Petrobras, 2017.

PONTON, D. *et al.* Mercury, selenium and arsenic concentrations in Canadian freshwater fish and a perspective on human consumption intake and risk. *Journal of Hazardous Materials Advances*, v. 6, 2022.

PORCELLA, D. B. Mercury in the environment: biogeochemistry. In: WATRAS, C. J.; HUCKABEE, J. W. (Eds.). *Mercury Pollution: Integration and Synthesis*. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 3–19.

POTTER, S.; MATRONE, G. Effect of selenite on the toxicity of dietary methylmercury and mercuric chloride in the rat. *Journal of Nutrition*, v. 104, p. 638–647, 1974.

QUEIPO-ABAD, S. *et al.* New insights into the biomineralization of mercury selenide nanoparticles through stable isotope analysis in giant petrel tissues. *Journal of Hazardous Materials*, v. 425, 2022.

RALSTON, N. V. C.; RALSTON, C. R.; BLACKWELL, J. L. 3rd; RAYMOND, L. J. Dietary and tissue selenium in relation to methylmercury toxicity. *Neurotoxicology*, v. 29, n. 5, p. 802–811, 2008. DOI: 10.1016/j.neuro.2008.07.007.

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

RALSTON, N. V. C.; KANEKO, J. J.; RAYMOND, L. J. Selenium health benefit value provides a reliable index of seafood benefits versus risks. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 55, p. 50–57, 2019.

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

RAWSON, A. J. *et al.* Liver abnormalities associated with chronic mercury accumulation in stranded Atlantic bottlenose dolphins. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 25, p. 41–47, 1993. DOI: 10.1006/eesa.1993.1005.

REGNELL, O.; WATRAS, C. J. Microbial mercury methylation in aquatic environments: a critical review of published field and laboratory studies. *Environmental Science & Technology*, v. 53, n. 1, p. 4–19, 2019.

RESTEK CORPORATION. Syringe Filters Solvent Compatibility Chart. Bellefonte, PA, 2021. Disponível em: <https://discover.restek.com/articles/GNSS2122/syringe-filters-solvent-compatibility-chart/>. Acesso em: 21 mar. 2025.

ROCHA, M.; SOLDADO, A.; BLANCO, E.; SANZ-MEDEL, A. Speciation of mercury using capillary electrophoresis coupled to volatile species generation–inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 16, p. 951–956, 2001.

RODRIGUES, J. L. *et al.* Methylmercury and inorganic mercury determination in blood by using liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry and a fast sample preparation procedure. *Talanta*, v. 80, n. 3, p. 1158–1163, 2010.

RODRIGUES, P. A. *et al.* Mercury in aquatic fauna contamination: a systematic review on its dynamics and potential health risks. *Journal of Environmental Sciences (China)*, v. 84, p. 205–218, 2019.

RODRIGUES, C. A. B.; DE LACERDA, L. D.; BEZERRA, M. F.; MOURA, V. L.; REZENDE, C. E.; BASTOS, W. R. Influence of size on total mercury (THg), methyl mercury (MeHg), and stable isotopes of N and C in green turtles (*Chelonia mydas*) from NE Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, v. 27 (16), p. 20527–20537, 2020. DOI: 10.1007/s11356-020-08623-5.

RODRIGUEZ, C. A. B. *et al.* Mercury and methylmercury in carapace of the marine turtle *Caretta caretta*, in northeastern Brazil and its potential for environmental monitoring. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, n. 2, p. e20180672, 2019.

RODRIGUEZ, C. A. B. *et al.* Influence of size on total mercury and methylmercury in green turtles from NE Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, p. 20527–20537, 2020. DOI: 10.1007/s11356-020-08623-5.

ROMERO, M. B.; POLIZZI, P.; CHIODI, L.; DAS, K.; GERPE, M. The role of metallothioneins, selenium and maternal transfer in mercury detoxification in Franciscana dolphins (*Pontoporia blainvillei*). *Marine Pollution Bulletin*, v. 109, n. 1, 2016, p. 650–654. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.05.012.

RÍO-SEGADE, S. On-line high-performance liquid-chromatographic separation and cold vapor atomic absorption spectrometric determination of methylmercury and inorganic mercury. *Talanta*, v. 48, n. 2, p. 477–484, 1999.

SAKAMOTO, M.; ITAI, T.; YASUTAKE, A.; IWASAKI, T.; YASUNAGA, G.; FUJISE, Y.; NAKAMURA, M.; MURATA, K.; CHAN, H. M.; DOMINGO, J. L.; MARUMOTO, M. Mercury speciation and selenium in toothed-whale muscles. *Environmental Research*, v. 145, 2015, p. 55–61.

SANDHEINRICH, M.; WIENER, J. Methylmercury in freshwater fish: recent advances in assessing toxicity of environmentally relevant exposures. In: *Environmental Contaminants in Biota*. Boca Raton: CRC Press, 2011. p. 169–190. DOI: 10.1201/b10598-6.

SANTOS, J. P.; MEHMETI, L.; SLAVEYKOVA, V. I. Simple acid digestion procedure for the determination of total mercury in plankton by cold vapor atomic fluorescence spectroscopy. *Methods and Protocols*, v. 5, n. 2, p. 29, 2022. SARTORIUS. Selection Guide for Syringe Filters. Göttingen, 2022. Disponível em: . Acesso em: 21 mar. 2025.

SARICA, S.; AMYOT, M.; HARE, L.; BLANCHFIELD, P.; BODALY, R.; HINTELMANN, H.; LUCOTTE, M. Mercury transfer from fish carcasses to scavengers in boreal lakes: the use of stable isotopes. *Environmental Pollution*, v. 134, 2005, p. 13–22. DOI: 10.1016/j.envpol.2004.07.020.

SAYED, K.; BALOO, L.; SHARMA, N. K. Bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) by bioaugmentation and biostimulation in water with floating oil spill containment booms as bioreactor basin. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 18, n. 5, p. 2226, 2021.

SCHEUHAMMER, A. M.; MEYER, M. W.; SANDHEINRICH, M. B.; MURRAY, M. W. Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals and fish. *AMBIO*, v. 36, 2007, p. 12–20.

- SCHEUHAMMER, A.; BRAUNE, B.; CHAN, H. M.; FROUIN, H.; KREY, A.; LETCHER, R.; *et al.* Recent progress on understanding biological effects of mercury in Arctic wildlife. *Science of the Total Environment*, v. 509, 2015, p. 91–103.
- SEIXAS, T. G.; MOREIRA, I.; SICILIANO, S.; MALM, O.; KEHRIG, H. A. Mercury and selenium in tropical marine plankton and their trophic successors. *Chemosphere*, v. 111, p. 32–39, 2014. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.03.003.
- SEIXAS, T. G. *et al.* Total mercury, organic mercury and selenium in liver and kidney of a South American coastal dolphin. *Environmental Pollution*, v. 154, p. 98–106, 2008. DOI: 10.1016/j.envpol.2008.01.030.
- SEIXAS, T. G.; KEHRIG, H. A.; FILLMANN, G.; DI BENEDITTO, A. P. M.; SOUZA, C. M. M.; SECCHI, E. R.; MOREIRA, I.; MALM, O. Ecological and biological determinants of trace-element accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvillei*. *Science of the Total Environment*, v. 385, 2007, p. 208–220.
- SERGEANT, D. E. Levels of mercury and organochlorines: residues in tissues of sea mammals from the St. Lawrence Estuary. *C.I.E.M. Marine Environment Quality Committee*. 1980, CM/1980/E, 55.
- SHOHAM-FRIDER, E. *et al.* Trace elements in tissues of cetacean species rarely stranded along the Israeli Mediterranean coast. *Marine Pollution Bulletin*, v. 83, n. 1, p. 35–39, 2014.
- SIMSEK, I. *et al.* Assessment of metal distribution patterns in loggerhead sea turtles: A comparative analysis based on sex and tissue type. *Marine Pollution Bulletin*, v. 219, 118339, 2025. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2025.118339.
- SOUZA, S. S. *et al.* A fast sample preparation procedure for mercury speciation in hair samples by high-performance liquid chromatography coupled to ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 25, n. 1, p. 79–83, 2010.
- SOUZA, L.; SGARBI, G. N. C. Bacia de Santos no Brasil: geologia, exploração e produção de petróleo e gás natural. *Boletín de Geología*, v. 41, p. 175–195, 2019.
- STADTMAN, T. C. Selenium biochemistry. *Annual Review of Biochemistry*, v. 59, p. 111–127, 1990. DOI: 10.1146/annurev.bi.59.070190.000551.
- STORELLI, M. M.; CECI, E.; MARCOTRIGIANO, G. O. Comparison of total mercury, methylmercury, and selenium in muscle tissues and in the liver of *Stenella coeruleoalba* (Meyen) and *Caretta caretta* (Linnaeus). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 61, p. 541–547, 1998.
- STORELLI, M. M. *et al.* Trace elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the eastern Mediterranean Sea: overview and evaluation. *Environmental Pollution*, v. 135, n. 1, p. 163–170, 2005.
- THOMAS, R. *et al.* *Measuring Elemental Impurities in Pharmaceuticals: A Practical Guide*. New York: Springer, 2016.
- TORRES, L. *et al.* Use of near-infrared spectroscopy for the online monitoring of natural gas composition (hydrocarbons, water and CO₂ content) at high pressure. *Vibrational Spectroscopy*, v. 131, 2023.
- TSENG, C. M.; DIEGO, A.; WASSERMAN, J. C.; AMOUROUX, D.; DONARD, O. F. X. Potential interferences generated during mercury species determination using acid leaching, aqueous ethylation, cryogenic gas chromatography and atomic spectrometry detection techniques. *Chemosphere*, v. 39 (7), 1999, p. 1119–1136.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). *Global Mercury Assessment 2018: Sources, Emissions, Releases, and Environmental Transport*. Geneva: UNEP Chemicals and Health Branch, 2018.

U.S. EPA. Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories. Washington, DC: EPA, 1997. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 1631, Revision E: Mercury in Water.... Washington, D.C.: EPA, 2002.

U.S. EPA. Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories. 3. ed. Washington, DC: EPA, 1997.

ULLRICH, S. M.; TANTON, T. W.; ABDRAHIMOVA, S. A. Mercury in the aquatic environment: factors affecting methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 31, 2001, p. 241–293. DOI: 10.1080/20016491089226.

VON HELLFELD, Rebecca; GADE, Christoph; TEN DOESCHATE, Mariel; DAVISON, Nicolas J.; BROWNLOW, Andrew; MBADUGHA, Lenka; HASTINGS, Astley; PATON, Graeme. High-resolution visualization of tiemannite microparticles in marine mammals. *Environmental Pollution*, v. 342, 2024, 123027. DOI: 10.1016/j.envpol.2023.123027.

WAGEMANN, R.; MUIR, D. C. G. Concentrations of heavy metals and organochlorines in marine mammals of northern waters: overview and evaluation. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, p. 97, 1984.

WAGEMANN, R.; TREBACZ, E.; BOILA, G.; LOCKHART, W. L. Methylmercury and total mercury in tissues of Arctic marine mammals. *Science of the Total Environment*, v. 218, p. 19–31, 1998.

WAGEMANN, R.; TREBACZ, E.; BOILA, G.; LOCKHART, W. L. Mercury species in the liver of ringed seals. *Science of the Total Environment*, v. 261, 2000, p. 21–32.

WATANABE, I.; KUNITO, T.; TANABE, S.; AMANO, M.; KOYAMA, Y.; MIYAZAKI, N.; *et al.* Accumulation of heavy metals in Caspian seals. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 43, 2002, p. 109–120.

WESTÖÖ, G. Determination of methylmercury compounds in foodstuffs. I. Methylmercury compounds in fish, identification and determination. *Acta Chemica Scandinavica*, v. 20, n. 8, p. 2131–2137, 1966.

WIENER, J. G.; BODALY, R.; BROWN, S. S.; LUCOTTE, M.; NEWMAN, M. C.; PORCELLA, D. B.; *et al.* Monitoring and evaluating trends in methylmercury accumulation in aquatic biota. In: *Ecosystem Responses to Mercury Contamination*. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 98–133.

WESTÖÖ, G. Determination of methylmercury compounds in foodstuffs. I. Methylmercury compounds in fish, identification and determination. *Acta Chem. Scand.*, 20 (1966), p. 2131.

WORK, T. M.; RAMEYER, R. A.; BALAZS, G. H.; CRAY, C.; CHANG, S. P. Immune status of free-ranging green turtles with fibropapillomatosis from Hawaii. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 37, 2001, p. 574–581.

XU, Q. *et al.* Bioaccumulation characteristics of mercury in fish in the Three Gorges Reservoir, China. *Environmental Pollution*, v. 243, p. 115–126, 2018.

YANG, D. Y. *et al.* Selenium and mercury in organisms: interactions and mechanisms. *Environmental Reviews*, v. 16, p. 71–92, 2008.

YANG, D. Y.; XU, Y.; CHEN, Y. W.; BELZILE, N. Inverse relationships between selenium and mercury in tissues of young walleye. *Science of the Total Environment*, v. 408, 2010, p. 1676–1683.

APÊNDICE

Tabela 5 - Concentrações dos reagentes utilizados para condições de operação otimizadas para determinação do teor de MeHg nas amostras.

Reagente	Concentração
Br⁻ (na forma de KBr)	0,075 mol/L
BrO₃⁻ (na forma de KBrO₃)	0,015 mol/L
HCl	3,5 mol/L
NaOH	0,5% (m/v)
NaBH₄	0,05 mol/L
N₂H₄ (na forma de N₂H₄•H₂SO₄)	0,1 mol/L
L-Cisteína (para fase móvel)	0,005 mmol/L

Tabela 6 – Condições instrumentais utilizadas para a determinação de MeHg por HPLC–CV-AFS.

Parâmetro	Condição aplicada	Observações
Fluxo da fase móvel (A) – Cisteína 5 mmol/L	1,0 mL min ⁻¹	Fase inicial; utilizada nos primeiros 2,5 min
Fluxo da fase móvel (B) – 95% MeOH + 5% A	1,0 mL min ⁻¹	Introduzida gradualmente no gradiente de eluição
Perfil de gradiente	0–2,5 min: 100% A; 2,5–5,0 min: 75% B; >6 min limpeza com 100% B	Gradiente otimizado em laboratório
Tempo de reequilíbrio da coluna	6 min	Até estabilização de pressão e linha de base
Volume de injeção	50 µL	Loop fixo Rheodyne
Coluna analítica	C18 Phenomenex, 250 × 4,6 mm, 5 µm	Fase reversa
Tempo de retenção – Hg²⁺	~4,0 min	
Tempo de retenção – MeHg	~6,5 min	

Terceira espécie (pico desconhecido)	~13 min	Provável espécie orgânica adicional (ex.: EtHg ou PhHg)
Reagente oxidante (KBr/KBrO₃)	1,0 mL min ⁻¹	Proporção 5:1
Ácido clorídrico (HCl)	1,0 mL min ⁻¹	Geração de Br ₂
Redutor (NaBH₄/N₂H₄/NaOH)	0,8 mL min ⁻¹	Produz Hg ⁰ para detecção
Gás de arraste	Argônio – fluxo ajustado pelo AFS	Transporte do Hg ⁰ para o detector
Limpeza da coluna	6 min com 100% solução B	Remoção de compostos fortemente retidos
Limpeza do sistema pós-análise	30 min MeOH 95%	Minimização de memória de Hg

Tabela 7 – Resultado do p-valor para o teste de Shapiro-Wilk para análise da correlação entre Se e Hg nas diferentes espécies, onde todas são $\geq 0,05$, indicando normalidade na distribuição dos dados.

Espécie	p-valor (Shapiro-Wilk)
<i>L. dominicanus</i>	0,082
<i>S. magellanicus</i>	0,634
<i>C. mydas</i>	0,524
<i>P. blainvillei</i>	0,283
<i>S. guianensis</i>	0,310

Tabela 8 – Valores de p obtidos para o teste de homoscedasticidade de Breusch-Pagan e para o teste de Durbin-Watson para as correlações entre Se e Hg das diferentes espécies.

Espécie	Breusch-Pagan p-valor	Durbin-Watson
<i>L. dominicanus</i>	0,115	1,428
<i>S. magellanicus</i>	0,939	1,948
<i>C. mydas</i>	0,847	1,711

P. blainvillei

0,267

1,229

S. guianensis

0,692

1,582

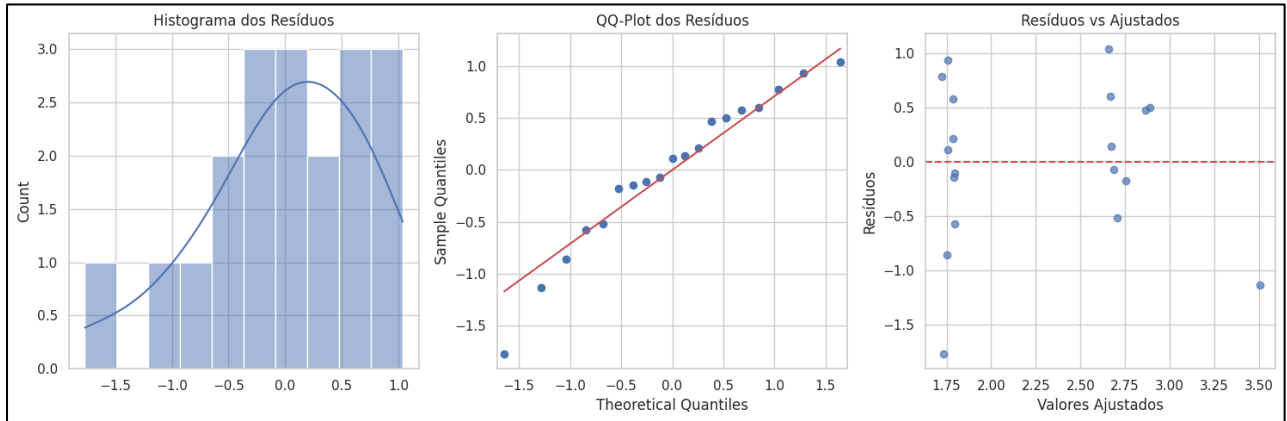


Figura 16 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de *C. mydas*.

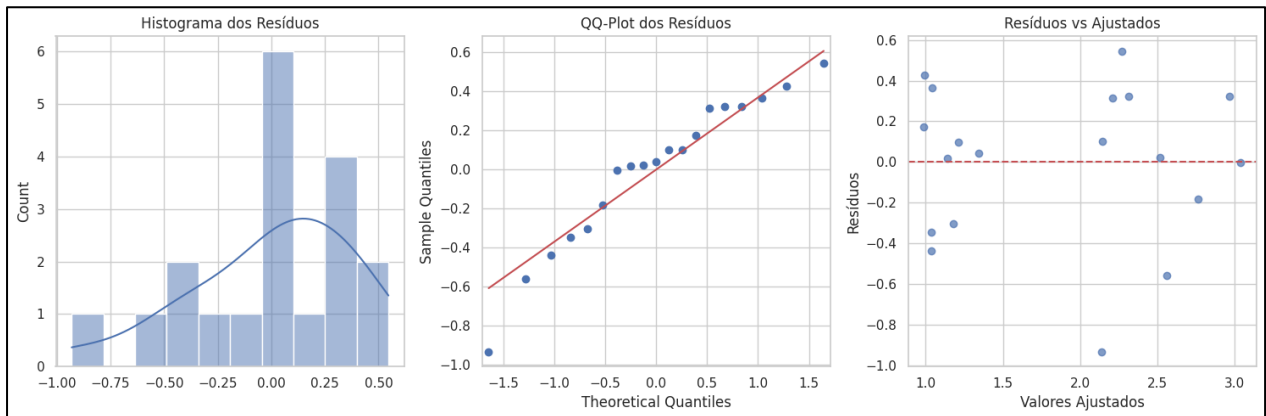


Figura 17 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de *P. blainvillei*.



Figura 18 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de *S. guianensis*.

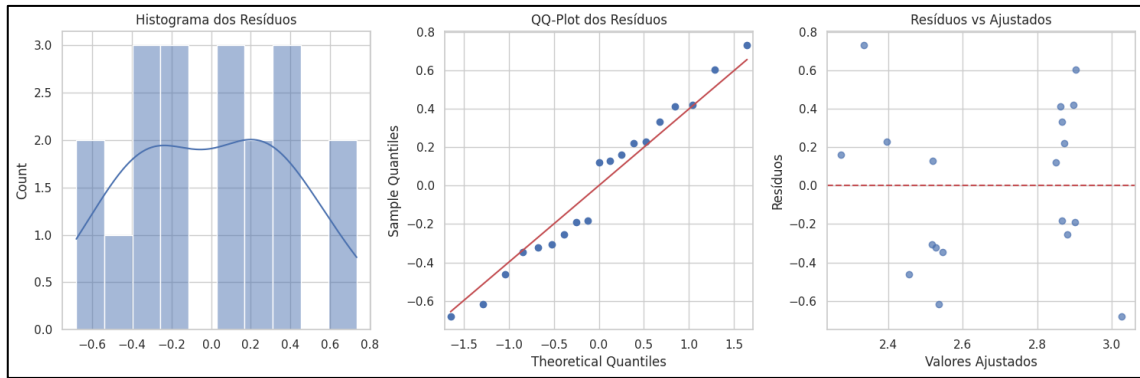


Figura 19 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de *S. magellanicus*.

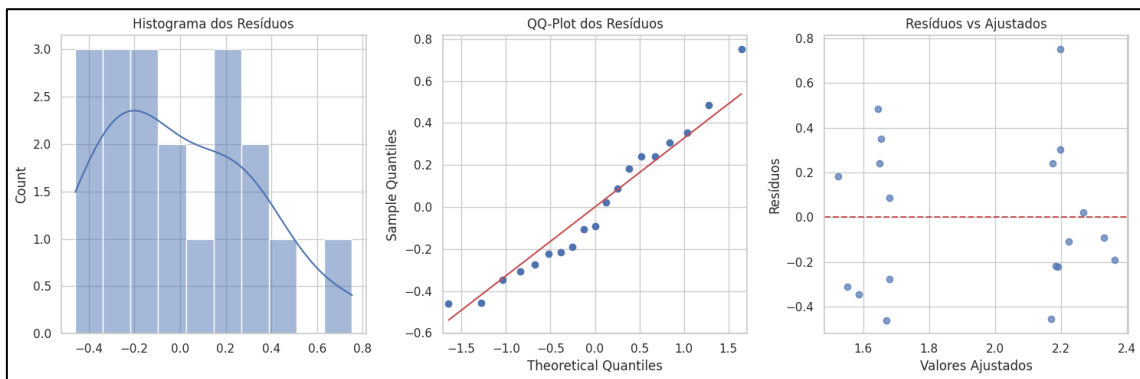


Figura 20 - Histograma, QQ-Plot e comparação resíduos vs ajustados para as amostras de *L. dominicanus*.