



USINA HIDRELÉTRICA JIRAU

**PROGRAMA DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DO
SETOR DE ENERGIA ELÉTRICA DA AGÊNCIA NACIONAL
DE ENERGIA ELÉTRICA – P&D ANEEL**

BIOMARCADORES DE TOXICIDADE DO MERCÚRIO APLICADOS AO SETOR HIDRELÉTRICO NA REGIÃO AMAZÔNICA

(PD- 6631-0001/2012)

**Luiz Fabricio Zara
Ademir dos Santos
Julio Cesar Rocha
Pedro de Magalhães Padilha
Wilson F. Jardim**
autores

Augusto R. Borges
colaborador

Coordenador da equipe: Prof. Dr. Luiz Fabricio Zara
Gerente de projeto: Augusto R. Borges
Período: abril/13 - março/17

Fevereiro/2017



Biomarcadores de toxicidade do mercúrio aplicados ao setor hidrelétrico na região Amazônica / Luiz Fabricio Zara ... [et al.]; Augusto R. Borges (colaborador). – São Carlos : Editora Cubo, 2017.

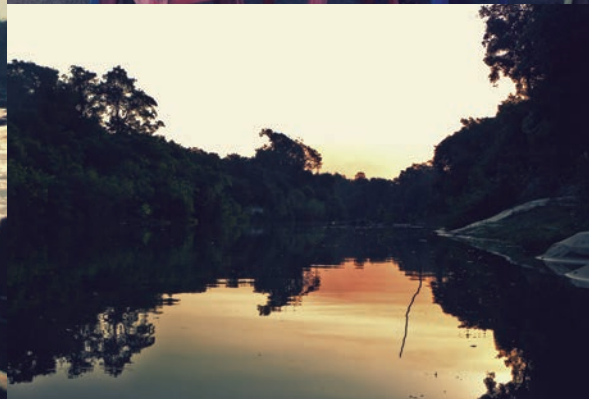
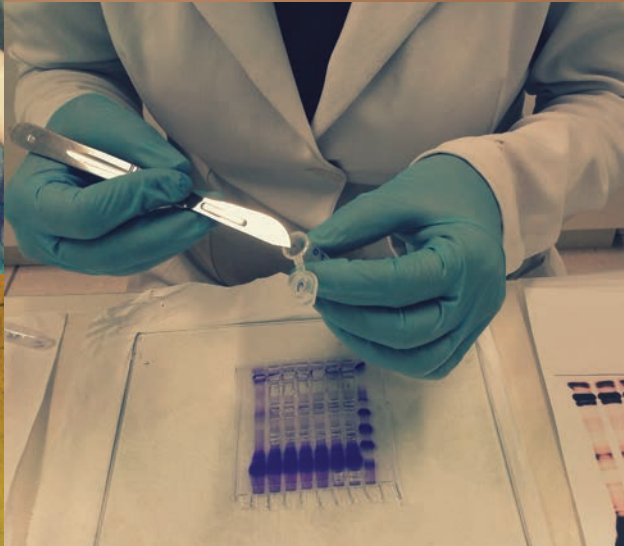
36 p.

ISBN 978-85-60064-72-4

1. Metalômica. 2. Mercúrio. 3. Toxicidade. 4. Leite materno. 5. Peixes.
I. Zara, Luiz Frabricio. II. Borges, Augusto R.

Agradecimentos

Agradecemos à equipe da Energia Sustentável do Brasil, que através do Programa de Pesquisa e Desenvolvimento, Tecnologia do Setor de Energia Elétrica regulado pela ANEEL, propiciou e financiou a execução do Projeto de P&D intitulado “Biomarcadores de Toxicidade do Mercúrio Aplicados ao Setor Hidrelétrico na Região Amazônica (PD-6631-0001/2012)”. Desenvolvido pelas entidades executoras Universidade de Brasília – UnB, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC e Venturo Análises Ambientais.

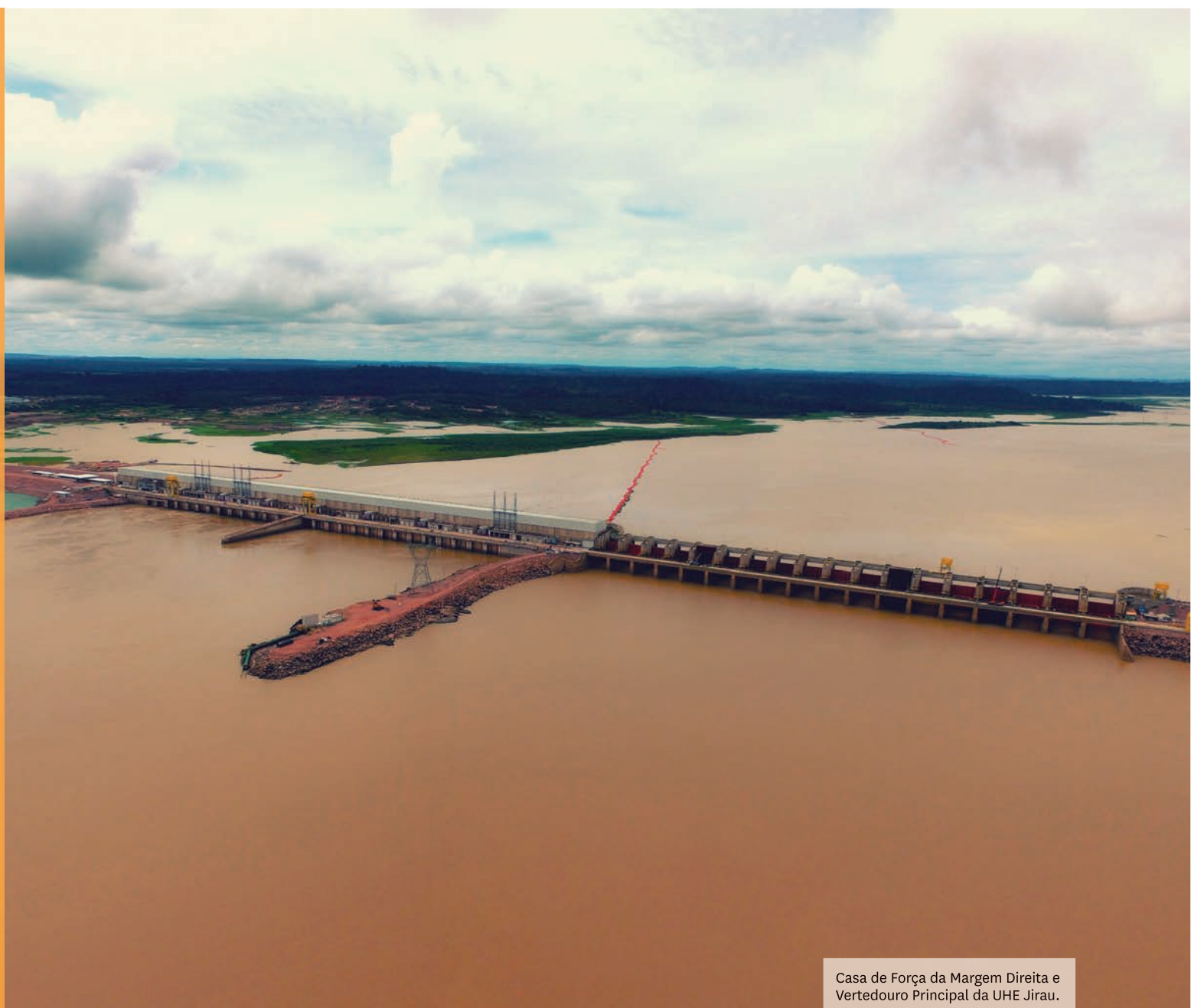


Sumário

- 6** Apresentação
- 8** O projeto de pesquisa e desenvolvimento
- 10** Breve histórico do mercúrio na Amazônia
- 13** Aspectos ambientais do mercúrio na Amazônia (Eixo I)
- 16** A ciência da metalômica e ictiofauna (Eixo II)
- 19** Metalômica e leite materno (Eixo III)
- 22** Conclusões e recomendações
- 25** Principais produtos gerados

1

Apresentação



Casa de Força da Margem Direita e Vertedouro Principal da UHE Jirau.

A Usina Hidrelétrica (UHE) Jirau foi implantada no local denominado Ilha do Padre, a 120 km medidos ao longo do Rio Madeira da cidade de Porto Velho, capital do estado de Rondônia. A Usina possui capacidade instalada de 3.750 MW, suficiente para abastecer mais de dez milhões de residências. A Energia Sustentável do Brasil (ESBR), concessionária da UHE Jirau, tem como objetivo fornecer energia barata, limpa e renovável, com o menor impacto socioambiental.

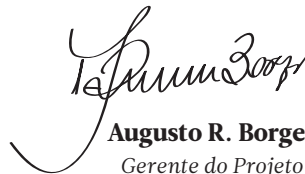
Para desenvolver este projeto foi criada a rede de pesquisa e desenvolvimento tecnológico formada pela Fundação Universidade de Brasília (UnB), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Pesquisa da Amazônia (INPA), Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás) e a Venturo Análises Ambientais em parceria com a ESBR, segundo regulamentos estabelecidos pela Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL), que se engajaram no projeto de pesquisa e desenvolvimento tecnológico intitulado “**Biomarcadores de Toxicidade do Mercúrio Aplicados ao Setor**

Hidrelétrico na Região Amazônica (PD-6631-0001/2012)”. O projeto está inserido no tema meio ambiente, subtema MA03 – Estudos de toxicidade relacionados à determinação da qualidade da água em reservatórios e na fase proposta para desenvolvimento dentro da cadeia da inovação classificada como pesquisa aplicada, sendo que o produto gerado pode ser um conceito ou metodologia. O projeto está voltado à detecção e avaliação de possíveis biomarcadores da toxicidade do mercúrio por meio de proteínas associadas ao mercúrio, bem como elucidar e ponderar as fontes naturais e antrópicas do mercúrio em rios de interesse do setor elétrico na Amazônia.

Este documento tem como objetivo principal divulgar, tanto para a comunidade científica, como para a sociedade em geral, os principais produtos que foram gerados neste projeto, permitindo de modo transparente e bastante sintético, avaliar o retorno social que o investimento feito neste projeto pode trazer para toda a sociedade, em especial para o Setor Elétrico Brasileiro. ○



Luiz Fabricio Zara
Coordenador da Equipe



Augusto R. Borges
Gerente do Projeto

2

O projeto de pesquisa e desenvolvimento



Cachoeira do Jirau,
Rio Madeira / Rondônia.

O projeto foi estruturado tendo como base os eixos temáticos (I) aspectos ambientais, (II) metalômica e ictiofauna e (III) metalômica e leite materno.

No eixo **Aspectos Ambientais** foram desenvolvidas 01 dissertação de mestrado e 03 teses de doutorado abordando a temática do estoque de mercúrio e o potencial de metilação em solos e sedimentos em áreas a serem inundadas para aproveitamento hidrelétrico, bem como o processo de metilação mediado por macrófitas aquáticas.

No eixo **Metalômica e Ictiofauna** foram desenvolvidas 03 dissertações de mestrado e 05 teses de doutorado dedicadas à identificação de metaloproteínas candidatas a biomarcadores da toxicidade do mercúrio nos tecidos muscular e hepático das espécies de dourada, pacu, jaraqui, filhote, curimatã, barba chata e tucunaré, sendo estas

de relevante consumo para população da região Amazônica.

No eixo **Metalômica e Leite Materno** foram desenvolvidas 02 dissertações de mestrado e 01 tese de doutorado direcionadas para a quantificação de mercúrio em leite materno e possíveis metaloproteínas nas comunidades do alto Rio Madeira e médio Rio Negro.

A metodologia de formação de recursos humanos deste projeto foi pautada no ensino cooperativo, sendo que todos os pós-graduandos desenvolveram atividades nas diferentes instituições participantes, possibilitando uma ampla troca de experiências, alicerçando a construção do conhecimento sobre as questões do ciclo hidrobiogeoquímico do mercúrio na Amazônia e seus diversos reflexos nas populações ribeirinhas, sempre associadas ao desenvolvimento do setor hidrelétrico na Amazônia. ○

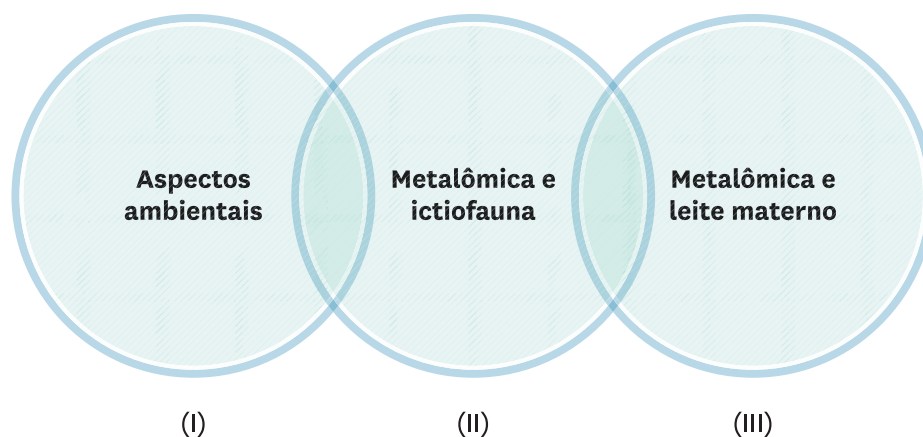


Figure 1 Os eixos temáticos abordados no projeto de P&D.

3

Breve histórico do mercúrio na Amazônia



Comunidade no Distrito
de Abunã / Rondônia.

O ciclo biogeoquímico do mercúrio contempla as fontes naturais e antrópicas do metal, bem como os processos bióticos e abióticos que ocorrem nos distintos reservatórios e que determinam o transporte e fixação das formas iônicas em algum receptor final. Uma vez nos corpos aquáticos, o mercúrio oriundo da deposição atmosférica ou de outras fontes antrópicas na forma inorgânica poderá ser transformado, assimilado pela biota, adsorvido no material particulado suspenso ou de fundo, ou ser exportado para a atmosfera. Estes processos são determinados principalmente pelas características físico-químicas da água bem como pela hidrodinâmica do corpo aquático. Investigações detalhadas das emissões de mercúrio na interface água/atmosfera sobre a bacia do Rio Negro mostram que as emissões de mercúrio pelo processo de difusão na interface água/atmosfera são da ordem de 60 vezes inferior à quantidade de mercúrio que deposita na bacia por via úmida atmosférica. Isso implica que a bacia Amazônica funciona como um grande depósito de mercúrio, sendo que a exportação do metal se dá em grande parte pela calha do rio, com forte associação ao material particulado e à hidrodinâmica.

Na Amazônia, os altos teores de mercúrio encontrados em solo, sedimentos, peixes e seres humanos foram inicialmente atribuídos indiscriminadamente à atividade do garimpo de ouro. Entretanto, estudos recentes mostraram que as altas concentrações de mercúrio nos compartimentos abióticos e bióticos são também encontradas em regiões sem fontes antrópicas. O fato é que independentemente da fonte de contaminação, estudos relacionados à elucidação dos mecanismos de toxicidade humanos do mercúrio na ictiofauna e nas populações ribeirinhas, são de fundamental importância para o desenvolvimento do setor hidrelétrico na região Amazônica com responsabilidade socioam-

biental de forma a melhor subsidiar os estudos de EIA-RIMA.

O desenvolvimento do setor hidrelétrico na Amazônia tem despertado discussões científicas sobre os possíveis processos de remobilização e biodisponibilidade das espécies de mercúrio em reservatórios artificiais. Estudos em diversos reservatórios brasileiros no Sudeste e na Amazônia têm demonstrado que o mercúrio associado ao material particulado em suspensão, sedimentos e plâncton apresenta-se especialmente em sua forma inorgânica no início dos reservatórios, alterando-se com o tempo em um gradiente crescente na forma orgânica.

A ingestão de alimentos (principalmente a ingestão de peixes) é a principal via de possível contaminação por metilmercúrio (estável no organismo e acumulativo) nos seres humanos. Nos peixes adultos, entre 80 - 98% do mercúrio está presente na forma de metilmercúrio. O aumento da concentração de mercúrio em peixes coletados em reservatórios recém-construídos foi pioneiramente nos Estados Unidos da América, no reservatório Willard Bay, onde valores de mercúrio no tecido muscular atingiram valores elevados. Os elevados valores do metal no tecido muscular pós-enchimento podem durar de 5 até 30 anos, embora a literatura internacional use um intervalo de tempo de 10 (dez) anos como estimativa média. Os pontos que merecem ser considerados na tentativa de se avaliar os processos responsáveis pelo aumento na biodisponibilidade de mercúrio nestes corpos aquáticos estão associados à quantidade e à qualidade da matéria orgânica que aporta do sistema oriundo da inundação das áreas sem a cobertura vegetal natural e que afeta a atividade microbiana, o estoque de mercúrio presente tanto no solo como na biomassa a ser inundada e às taxas de sedimentação no reservatório, que se traduz em velocidade de remoção da carga orgânica.

Neste cenário a Metalômica, área científica proposta recentemente, apresenta-se como uma proposta inédita e inovadora para o desenvolvimento de biomarcadores da toxicidade do mercúrio associados às metaloproteínas contribuindo na elucidação dos aspectos fisiológicos e funcionais responsáveis pelo transporte de mercúrio na biota e nos seres humanos.

A tecnologia atualmente aplicada ao monitoramento das espécies de mercúrio demanda estudos temporais e espaciais relativamente longos para a avaliação fidedigna dos impactos socioambientais gerados pelos reservatórios artificiais do setor

hidrelétrico. Neste sentido, o desenvolvimento de novos e confiáveis biomarcadores, tais como os biomarcadores metalômicos da toxicidade do mercúrio na ictiofauna e nos seres humanos deverão servir como indicadores sentinelas da saúde ambiental, cumprindo um importante papel de identificar preventivamente possíveis riscos da exposição humana ao metal e, consequentemente, possibilitando implementar ações preventivas de modo rápido, protegendo assim as populações das áreas de influência direta e indireta dos reservatórios de hidrelétricas na região Amazônica. ○

4

Aspectos ambientais do mercúrio na Amazônia (Eixo I)



Comunidade ribeirinha do Rio Madeira / Rondônia.

Considerando a importância dos solos, sedimentos e da matéria orgânica como os principais sumidouros e reservatórios de espécies metálicas nos ambientes aquáticos, atuando como reatores biogeoquímicos em vários processos ambientalmente importantes, tais como armazenamento e/ou biodisponibilização e transferência dessas espécies para a coluna d'água, a questão estratégica referente ao conhecimento da riqueza dos recursos naturais da Amazônia e a expansão do setor hidrelétrico nesta região, no eixo Aspectos Ambientais, os estudos foram feitos em amostras de água, sedimentos, solos e substâncias húmicas extraídas de sedimentos. Estas matrizes foram coletadas em solos e mananciais representativos dos três diferentes tipos de água da região Amazônica, ou seja, águas claras do Rio Tocantins (GO); águas brancas do Rio Madeira (RO) e águas pretas do Rio Negro (AM).

Nas mesmas condições experimentais, amostras de solos favorecem menos a metilação do mercúrio que amostras de sedimentos, independentemente da presença ou não de macrófitas.

Quanto ao potencial de metilação do metal em amostras de água, caracterizou-se que, nas mesmas condições experimentais, a formação de espécies orgânicas foi maior nas amostras de águas pretas, seguidas das águas brancas e claras, respectivamente. Portanto, na região Amazônica, as águas pretas são as mais favoráveis para a metilação do mercúrio.

Com relação aos ensaios com macrófitas aquáticas verificou-se que estas contribuíram para aumento da formação de mercúrio orgânico nas águas claras (Rio Tocantins) e águas brancas (Rio Madeira). Entretanto, não influenciam na formação de mercúrio orgânico em águas pretas (Rio Negro). Neste caso, as características físico-químicas da amostra de água predominaram em relação à presença das macrófitas.

As condições favoráveis para metilação do mercúrio estão relacionadas com as características físico-químicas dos mananciais. Comparando os três tipos de água, a amostra do Rio Negro possui maior quantidade de carbono orgânico total, menor condutividade elétrica, pH mais ácido, maior concentração de oxigênio dissolvido e aparentemente, ao final dos ensaios, mais espécies reduzidas que as amostras dos rios Tocantins e Madeira.

Quanto à distribuição de cobre, chumbo e mercúrio totais, em frações de sedimentos de mananciais dos três diferentes tipos de águas da bacia Amazônica e também a distribuição dessas espécies em substâncias húmicas, extraídas dessas frações, o tratamento estatístico não caracterizou diferenças significativas entre os resultados em função da sazonalidade.

Caracterizaram-se as seguintes ordens decrescentes de concentrações médias para as respectivas espécies nos sedimentos: Cu e Pb - água branca (Rio Madeira) > água clara (Rio Tocantins) > água preta (Rio Negro). Para mercúrio: água preta > água clara > água branca. Caracterizou-se que, substâncias húmicas extraídas das frações de sedimentos coletados no rio de água preta têm maior concentração de carbono orgânico total e mercúrio total que aquelas extraídas dos sedimentos coletados nos reservatórios de água branca e de água clara. Aqui é preciso ter em conta que a atividade garimpeira intensa no Rio Madeira não se verifica no Rio Negro.

As maiores concentrações de mercúrio total nas substâncias húmicas extraídas dos sedimentos foram determinadas nas frações granulométricas menores para o Rio Negro (água preta). Por outro lado, nos reservatórios de água branca (Rio Madeira) e água clara (Rio Tocantins) foram caracterizadas maiores concentrações de mercúrio total nas substâncias húmicas extraídas de frações com maiores granulometrias.

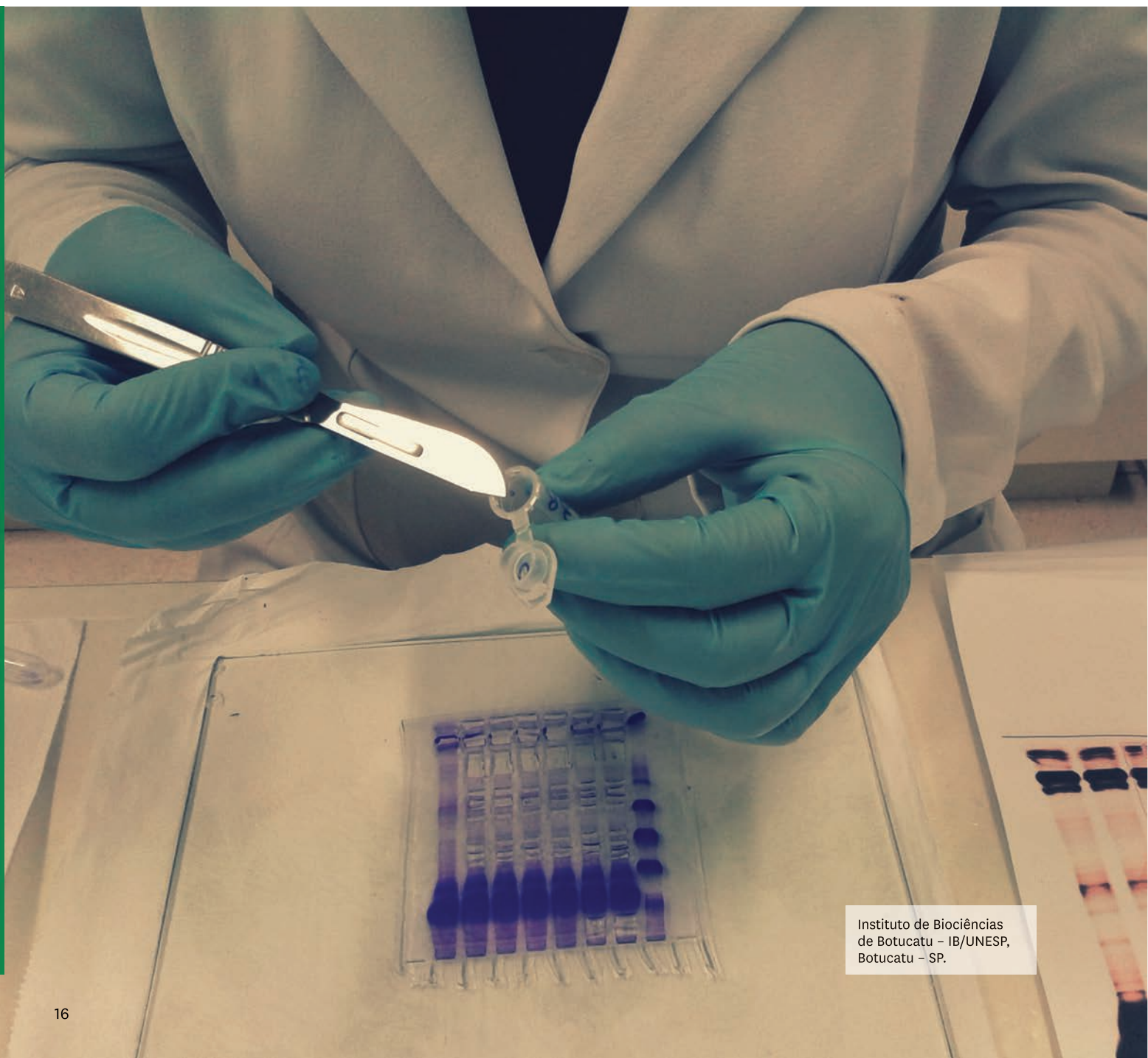
Os estudos evidenciaram que as partículas minerais (areia, silte e argila) e o teor de matéria orgânica influenciaram fortemente na distribuição do mercúrio lábil (Hg_L) no sedimento, sendo que os metais e a matéria orgânica são preferencialmente adsorvidos na fração fina do sedimento, enquanto que a fração granulométrica areia possui baixo potencial para adsorver metais devido à sua menor área de superfície.

Independentemente da fonte de contaminação, estudos relacionados à elucidação da dinâmica/distribuição de metais potencial-

mente tóxicos em rios e reservatórios artificiais da bacia Amazônica, são de fundamental importância, por exemplo, para o desenvolvimento do setor hidrelétrico com responsabilidade socioambiental. Cabe ressaltar que estes parâmetros raramente são avaliados por pesquisadores brasileiros, e que são de importância estratégica não apenas no cenário internacional, mas principalmente para nortear o manejo adequado destes recursos dentro de um novo modelo econômico para as próximas décadas, bem como dar subsídios científicos aos órgãos licenciadores. ○

5

A ciência da metalômica e ictiofauna (Eixo II)



Instituto de Biociências
de Botucatu – IB/UNESP,
Botucatu – SP.

A metalômica é um campo de pesquisa que deve estar relacionada com a genômica e a proteômica, pois a síntese e as funções metabólicas dos genes e das proteínas não ocorrem sem a presença de íons metálicos ou metaloenzimas, que são metaloproteínas que atuam como catalisadores biológicos na regulação das reações biológicas e das funções fisiológicas em células e órgãos. A metalômica tem como objetivos a verificação da distribuição das espécies metálicas e metalóides, bem como a elucidação dos aspectos fisiológicos e funcionais das biomoléculas que contenham íons metálicos em suas estruturas, tais como as metaloproteínas e as proteínas ligadas a metais. Na metalômica, são definidos como metalomas, os íons metálicos ou espécies metalóides presentes em sistema biológico (células, tecidos, fluidos ou organismos), na forma livre ou complexado.

Uma das mais importantes tecnologias analíticas para estabelecer a metalômica como ciência dos biometais é a especiação química para a identificação específica de metalomas bioativos, uma vez que a identificação dos metalomas e a elucidação de funções bioquímicas ou fisiológicas nos sistemas biológicos são alvos da metalômica.

O estudo do metaloma pode fornecer informações tais como: (i) elemento (espécie metálica ou metalóide) distribuído entre os compartimentos celulares de determinado tipo de célula; (ii) seu meio de coordenação (qual biomolécula está incorporado ou a qual bioligante está complexo); (iii) as concentrações das espécies metálicas individuais presentes e (iv) a estrutura da biomolécula.

A informação metalômica pode ser classificada em (i) metalômica qualitativa, na identificação das espécies metálicas individuais; (ii) metalômica quantitativa determinação das concentrações destas espécies e (iii) metalômica comparativa, monitoramento das alterações do metaloma de determinado organismo, sob a influência de

estímulo externo. O estudo destas biomoléculas é denominado metaloproteômica.

Os estudos metalômicos, na visão analítica, consistem em três componentes principais: (i) a técnica de separação, isto é, a contribuição para o isolamento das espécies-alvo da matriz, denominada como componente de seletividade, (ii) o detector específico para moléculas, objetivando a sua caracterização, denominado como componente estrutural e (iii) o detector sensível para a quantificação dos elementos, denominado como componente de sensibilidade.

A título de ilustração, a **figura 2** mostra o resultado da separação das espécies-alvo numa amostra de tecido muscular de dourada, enquanto que a **figura 3** mostra o resultado obtido para o tecido hepático desta mesma espécie.

A determinação de mercúrio, além de ter sido feita nas amostras de tecido muscular e hepático das espécies de peixes estudadas e nos *spots* proteicos, também foi feita nos *pellets* proteicos obtidos no processo de precipitação fracionada das proteínas.

Observou-se que aproximadamente 65% do mercúrio presente nas amostras de tecido muscular e hepático estão associados às proteínas dos *pellets* de massa molar menor que 50 kDa, ou seja, mais da metade do mercúrio presente nas amostras de tecido muscular e hepático dos peixes estudados está ligado à fração proteica e 35% podem estar ligados em outros compostos e/ou macromoléculas, como por exemplo, lipídeos e carboidratos.

Os resultados mostram também que o mercúrio se concentra mais nas amostras de tecido hepático, que apresentaram concentrações cerca de 1,5 a 3,3 vezes maior que as concentrações de mercúrio determinadas nas amostras de tecido muscular. Esses resultados estão de acordo com outros trabalhos da literatura, que destacam maior acúmulo de metais potencialmente tóxicos

Figura 2 Gel a 15% (m/v) obtido por 2D-PAGE (faixa de pH 3-10) para amostras de tecido muscular de dourada. Os números e círculos em vermelho indicam os spots nos quais foram identificadas a presença de mercúrio e caracterizados por ESI MS/MS.

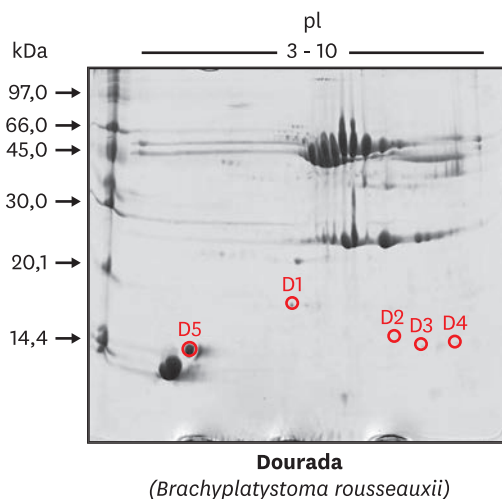
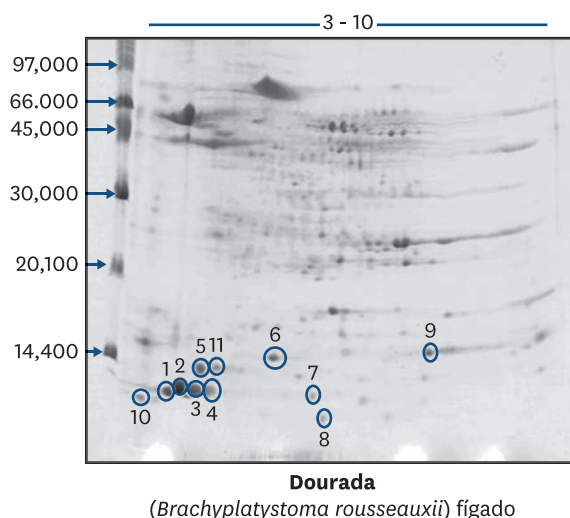


Figura 3 Gel a 15% (m/v) obtido por 2D-PAGE (faixa de pH 3-10) para amostras de tecido hepático de dourada. Os números e círculos em azul indicam os spots nos quais foram identificadas a presença de mercúrio e caracterizados por ESI MS/MS.



(como o mercúrio) no fígado do que no músculo de peixes. No caso, o fígado pode conter maior concentração de proteínas com grupos tióis e/ou sulfidrilas, formando complexos estáveis com o mercúrio.

As análises por espectroscopia de massas dos *spots* proteicos que apresentaram mercúrio permitiram caracterizar as seguintes proteínas e/ou enzimas com grandes possibilidades de serem biomarcadoras de mercúrio: parvalbumina e suas isoformas, ubiquitina-40S, proteína ribossômica S27a, proteína 24 contendo domínios de zinco e BTB, proteína fosfatase 22-B de especificidade dupla. Estes *spots* proteicos, além de apresentarem relação estequiométrica entre os átomos

de mercúrio por moléculas de proteína, apresentaram intensidade significativa nos géis, reforçando ainda mais a possibilidade do uso dessas proteínas como possíveis biomarcadoras de mercúrio em peixes da região.

De forma geral, os resultados preliminares obtidos podem ser considerados inéditos, considerando os peixes amazônicos estudados, constituindo o começo dos estudos metalproteômicos relacionados com a toxicidade de mercúrio em peixes. Os *spots* proteicos caracterizados e que apresentaram características de biomarcador poderão ser utilizados no acompanhamento, em nível proteômico, das concentrações de mercúrio nas espécies de peixes. ○

6

Metalômica e leite materno (Eixo III)



Comunidade no Distrito Fortaleza
do Abunã / Rondônia.

Comunidades como as da região Amazônica, que têm o peixe como importante fonte de proteína animal, têm a ingestão de pescado como a principal via de exposição humana ao metilmercúrio (MeHg) no ambiente natural. Além disso, o mercúrio pode ser transferido através do aleitamento materno, podendo causar danos aos recém-nascidos, os quais ainda se encontram em desenvolvimento neurológico e por isso são mais suscetíveis aos efeitos do mercúrio quando comparados aos adultos. Dessa forma, estudos de metais como o mercúrio em humanos são essenciais para a compreensão de sua toxicologia, impacto e comportamento em sistemas biológicos. Contudo, a avaliação toxicológica de substâncias químicas depende de estudos relativamente longos, como ensaios *in vitro* e identificação de doses de exposição em animais. Embora essas abordagens toxicológicas sejam eficientes em seus objetivos, recentes desafios têm demandado o desenvolvimento de novas técnicas que permitam melhor percepção dos mecanismos toxicológicos a fim de possibilitar previsões de toxicidade para diferentes cenários de exposição humana.

Neste contexto, estudos relacionados à caracterização funcional e estrutural de proteínas, assim como o fluxo dessas espécies no organismo, têm gerado grande interesse no âmbito acadêmico. Estudos metalômicos em organismos vivos podem fornecer informações sobre como um íon metálico está distribuído e coordenado às proteínas, da sua essencialidade e/ou toxicidade, como também da concentração individual da espécie metálica, contribuindo assim na elucidação dos aspectos fisiológicos e funcionais dessas biomoléculas.

As comunidades tradicionais do Alto Rio Madeira: Abunã, Fortaleza do Abunã, Nova Mutum Paraná e Vila Jirau, localizadas na área de influência da UHE Jirau, bem como comunidades do Rio Negro: Livramento e Santa Isabel, ambas no

estado do Amazonas, participaram dos estudos desenvolvidos no eixo metalômica e leite materno.

As concentrações de Hg total (HgT) nas amostras de cabelo das 57 mulheres lactantes participantes dos estudos apresentaram média de $3,88 \pm 4,58 \mu\text{g g}^{-1}$, variando de 0,13 a $20,48 \mu\text{g g}^{-1}$. Apenas três participantes, residentes em comunidades tradicionais do Rio Negro, apresentaram concentrações acima de $14 \mu\text{g}$ de Hg por grama de cabelo, valor que a Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO) sugere a possibilidade de desenvolvimento de efeitos neurotóxicos.

A presença de Hg em leite materno é um fator de risco importante para possíveis efeitos neurológicos em crianças, contudo a amamentação é essencial no desenvolvimento neurológico do recém-nascido. Devido ao baixo consumo de peixes pelas lactantes destes estudos, a maioria das amostras de cabelo apresentaram concentrações abaixo do limite sugerido pela OMS e abaixo da média da região Amazônica, o que pode sugerir baixa exposição das crianças também.

As metodologias de fracionamento de proteínas (SDS-PAGE e 2D-PAGE) desenvolvidas se mostraram eficientes como componente de seletividade, permitindo obter o proteoma das amostras de leite materno analisadas. A título de ilustração, a **figura 4** mostra o resultado da separação das espécies-alvo numa amostra de leite materno pela técnica SDS-PAGE, enquanto que a **figura 5** mostra o resultado obtido para amostra de leite materno pela técnica 2D-PAGE.

Os resultados obtidos a partir da análise de imagens de géis de eletroforese SDS-PAGE e 2D-PAGE e do mapeamento de mercúrio em bandas proteicas e *spots* proteicos permitem inferir que o mercúrio está ligado a proteínas com pesos moleculares na faixa de 26–14 kDa. Além disso, a caracterização por espectroscopia de massas permitiu identificar a lisozima C no spot proteico, no qual foi identificada a presença de Hg. ○

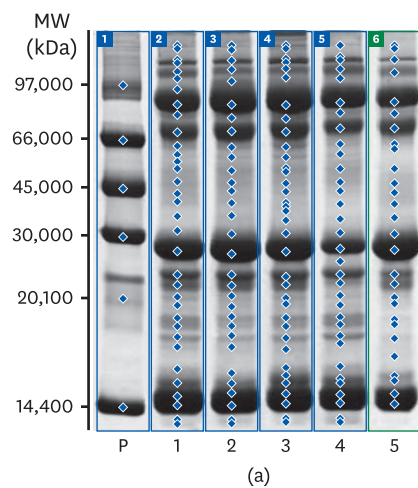


Figura 4 Gel a 12,5% (m/v) obtido por SDS-PAGE para amostras de leite materno. Os números e círculos indicam os spots nos quais foram identificadas a presença de mercúrio.

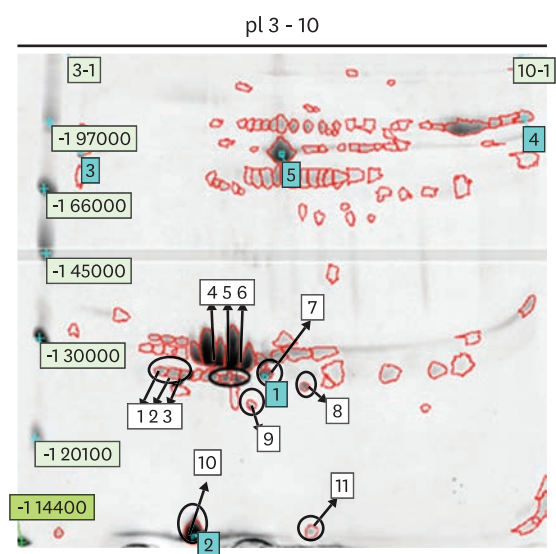


Figura 5 Gel a 12,5% (m/v) obtido por 2D-PAGE (faixa de pH 3-10) para amostras de leite materno. Os números e círculos indicam os spots nos quais foram identificadas a presença de mercúrio.

7

Conclusões e recomendações



Rio Jaci Paraná / Rondônia.

Na Amazônia, os altos teores de mercúrio encontrados em solo, sedimentos, peixes e seres humanos inicialmente foram atribuídos unicamente à atividade de garimpos de ouro, sendo que apenas mais recentemente é que a ocorrência natural deste metal tem sido aceita para explicar altos teores do metal onde a atividade de garimpo nunca existiu. Neste projeto, os estudos voltados aos aspectos ambientais do mercúrio na Amazônia corroboram conclusões recentes, as quais mostraram que as altas concentrações de mercúrio nos compartimentos abióticos e bióticos são também encontradas em regiões sem fontes antrópicas, o que não exclui os comprovados efeitos deletérios do garimpo artesanal que utiliza o mercúrio como agente amalgamador. A bacia Amazônica funciona como um grande depósito do mercúrio oriundo da deposição atmosférica, sendo que a exportação do metal se dá em grande parte pela calha do rio, com forte associação ao material particulado, matéria orgânica e a hidrodinâmica do corpo aquático. Os estudos desse eixo com microcosmos contendo água, sedimento e solo mostraram uma diminuição do processo de organificação do mercúrio (forma com elevada toxicidade) com o aumento dos parâmetros pH, condutividade e oxigênio dissolvido. Já os ensaios com macrófitas aquáticas evidenciaram que estas contribuíram para o aumento da formação de mercúrio orgânico. Os estudos também contribuíram significativamente com o conhecimento da dinâmica do mercúrio nas bacias Amazônicas diminuindo a incerteza das análises quantitativas sobre o destino desse metal com a expansão do setor hidrelétrico na região Amazônica.

O desenvolvimento tecnológico dos biomarcadores metalômicos da toxicidade do mercúrio abordados nos estudos dos eixos metalômica e ictiofauna, bem como metalômica e leite

materno possibilitaram propor novos indicadores sentinelas de saúde ambiental importantes para identificar previamente possíveis riscos de exposição humana e, consequentemente, acionar ações preventivas rapidamente, protegendo as populações que habitam as áreas de influência dos reservatórios das hidrelétricas na região Amazônica.

As proteínas associadas ao mercúrio identificadas e caracterizadas nas amostras de peixes de grande consumo pela população local, bem como no leite materno, são passíveis de serem amplamente aplicados nos programas de monitoramento devido à robustez, elevada precisão e sensibilidade, indicando previamente possíveis riscos de contaminação do pescado e a exposição humana.

As proteínas candidatas a biomarcadores metalômicos da toxicidade do mercúrio identificados nos estudos da metalômica e ictiofauna e da metalômica e leite materno contribuirão com a avaliação da magnitude e a extensão espacial à exposição potencial ao mercúrio, caminhos e vias de exposição, efeitos adversos ao ambiente e à saúde humana, bem como na construção de mapas de risco/vulnerabilidade socioambiental, amparando o desenvolvimento responsável do setor hidrelétrico na região Amazônica.

Fruto de uma contabilidade não cartesiana, os ganhos ambientais associados à formação de pessoal altamente capacitado são imensuráveis, trabalhando sob uma ótica integrada, com intercâmbio institucional e entre pesquisadores renomados e alunos de pós-graduação, focados nos desafios ambientais do setor hidrelétrico brasileiro.

A inovação tecnológica e inédita atingida com o desenvolvimento de biomarcadores metalômicos da toxicidade do mercúrio neste projeto tem despertado grande interesse da comunidade científica nacional e internacional, fomen-

tando o desenvolvimento dessa nova ciência passível de integração nas mais diferentes áreas do conhecimento.

A divulgação e extensão praticadas tanto pela ESBR, ANEEL e Universidades, abrem portas para que a pesquisa possa ser difundida nos mais diversos segmentos da nossa sociedade, bem como aproximam o setor de produção de hidroeletricidade com os grandes centros de produção de conhecimento.

A aproximação destes distintos setores, com missões aparentemente bem diferenciadas, comungados numa parceria dentro de um projeto de Pesquisa e Desenvolvimento, tem como meta maior a geração de conhecimentos que possam servir para uma sociedade mais equilibrada, ambientalmente harmoniosa e com melhor qualidade de vida. ○

Apêndice

Principais produtos gerados



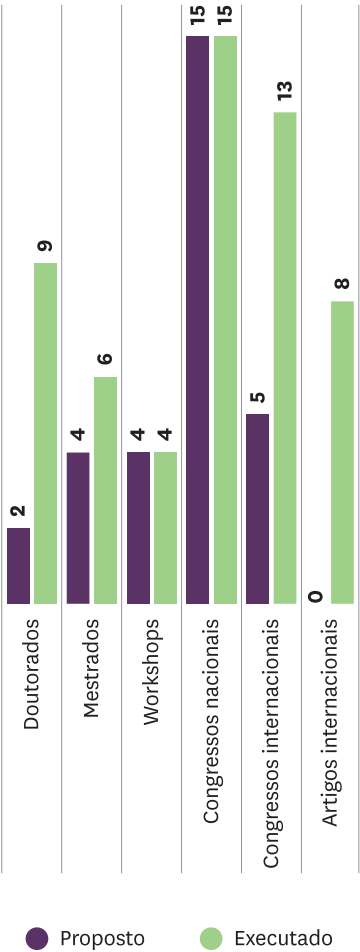
Rio Madeira / Rondônia.

FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

A formação de recursos humanos com capacitação aprimorada foi uma das prioridades deste projeto, o qual explorou o intercâmbio de pesquisadores e pós-graduandos entre as instituições participantes, horas dedicadas aos trabalhos de campo, focando os temas de estudo dentro de uma ótica holística, onde as linhas de atuação se complementavam dentro de uma temática maior centrada no ciclo do mercúrio na região Amazônica.

Além da formação de recursos humanos, cabe apontar a excelente produção científica que se concretizou não apenas em artigos científicos em revistas de grande circulação internacional, mas também em congressos realizados no Brasil e no exterior. Não menos importante foram os 4 workshops realizados em Porto Velho (RO), Botucatu (SP), Manaus (AM) e Brasília (DF), que serviram como excelente veículo de divulgação e integração de todas as partes envolvidas.

Caso haja interesse em mais informações, encontram-se abaixo um resumo de cada uma das teses e dissertações de mestrado, bem como uma descrição sucinta dos demais produtos.



Aluno José Cavalcante Souza Vieira

Orientador Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada / Instituto de Biociências-UNESP, Botucatu-SP.

Título do trabalho “Estudo metaloproteômico do mercúrio em amostras de tecido hepático de peixes coletados na região da Bacia Amazônica/Brasil”.

Data da defesa 25/02/2014

Resumo Neste trabalho de Dissertação, buscou-se avaliar e quantificar o teor de mercúrio presente em amostras de tecido hepático dos peixes jaraqui, tucunaré e filhote da área de influência da AHE JIRAU – Bacia do rio Madeira, buscando definir um biomarcador proteico (metaloproteínas, metalotioneínas) para monitoramento deste elemento tóxico em peixes da região amazônica. Para realização desta pesquisa, utilizou-se técnicas de proteômica/metalômica: eletroforese bidimensional (2D-PAGE), espectrometria de massas, espectrometria de absorção atômica e bioinformática. Por espectrometria atômica foi possível analisar e quantificar o mercúrio presente nos *spots* proteicos com massa molar menor que 50 kDa, obtidos no fracionamento das proteínas por 2D-PAGE. As caracterizações das proteínas foram feitas por espectrometria de massas (ESI-MS), podendo assim, fazer uma correlação do mercúrio presente nos *spots* com as proteínas caracterizadas. Com esses resultados, podemos definir um perfil de biomarcador proteico para o mercúrio nas amostras estudadas. A seleção de *spots* para esse estudo foi baseada em trabalhos da literatura que afirmam a afinidade do mercúrio por proteínas de baixa massa molar e nas quantificações de mercúrio por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS), já que nos pellets de massa molares maiores que 50 não foi detectado mercúrio. Nas determinações por GFAAS, somente *spots* proteicos com massa molar menor que 20 kDa apresentaram mercúrio na faixa de concentração de 11,30 a 83,40 mg g⁻¹. Esses *spots* proteicos apresentaram mercúrio nas quantificações por espectrometria de absorção atômica. De um total de 24 *spots* caracterizados, foram identificadas por ESI-MS 13 proteínas que apresentaram características de biomarcadoras deste elemento nas amostras estudadas.

Aluno Wllyane Silva Figueiredo

Orientador Prof. Dr. Luiz Fabricio Zara

Instituição Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Rural, Universidade de Brasília – UnB, Brasília – DF.

Título do trabalho “Identificação de Biomarcadores de toxicidade do mercúrio em tucunaré (*Cichla sp.*) na bacia Amazônica, Brasil”.

Data da defesa 23/03/2015

Resumo A mensuração de contaminantes no ambiente não traz respostas completas sobre os reais efeitos adversos que estas substâncias podem estar causando aos organismos. A identificação de biomarcadores relacionados ao mapeamento e expressão de metaloproteínas associadas a contaminantes poderão auxiliar na elucidação da dinâmica de vários elementos no ambiente, indicar previamente possíveis riscos de contaminação dos recursos ambientais e ser base para elaboração de mecanismos de neutralização dos seus efeitos. Dessa forma, este estudo buscou a identificação de possíveis biomarcadores de exposição ao mercúrio em tucunarés do rio Negro por meio de métodos metaloproteômicos. Inicialmente, foram determinadas as concentrações de mercúrio total no tecido muscular de tucunarés capturados em rios e reservatórios hidrelétricos. As concentrações apresentaram pouca variação independentemente do local de amostragem e algumas estavam superiores aos limites máximos definidos na legislação brasileira. As concentrações aumentaram na sequência: reservatório de Cana Brava < reservatório de Balbina < rio Madeira < rio Purus < reservatório de Tucuruí < rio Apuaú < rio Solimões < rio Negro. As amostras do rio Negro foram selecionadas para definição de um biomarcador proteico através da eletroforese bidimensional (2D-PAGE). O mercúrio foi determinado em 15 possíveis proteínas com massa molar abaixo de 20,1 kDa, sendo 2 mais promissoras à biomarcadoras. Além disso, foi extraído da musculatura dos tucunarés apenas 12,4% do mercúrio, sendo que 89% desse mercúrio foi aplicado na técnica 2D-PAGE, resultando em 49,74% de mercúrio nas proteínas. Essa porcentagem de mercúrio nos *spots* indica que os procedimentos otimizados de preparação da amostra foram eficientes para ser aplicados na 2D-PAGE. Os resultados metaloproteômicos desse estudo são importantes no subsídio de estudos futuros de identificação e caracterização de biomarcadores de mercúrio em peixes.

Aluno Tania Machado Silva

Orientador Prof. Dr. Luiz Fabricio Zara

Instituição Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Rural, Universidade de Brasília – UnB, Brasília – DF

Título do trabalho “*Metalômica Aplicada ao Estudo de Toxicidade do Mercúrio em Amostras de Leite Humano Coletadas de Lactantes Residentes em Comunidades do Alto Rio Madeira, Rondônia, Brasil*”.

Data da defesa 24/03/2015

Resumo Recentes desafios têm demandado desenvolvimento de novas técnicas que possibilitem melhor percepção dos mecanismos toxicológicos a fim de possibilitar previsões de toxicidade para diferentes cenários de exposição humana, o que tem gerado grande interesse em estudos relacionados à caracterização funcional e estrutural de proteínas assim como o fluxo dessas espécies no organismo. Neste contexto, buscou-se aqui identificar e quantificar possíveis biomarcadores proteicos da toxicidade do mercúrio em amostra de leite humano de lactantes residentes em comunidades tradicionais do alto rio Madeira, no intuito de elucidar os possíveis mecanismos de transporte do mercúrio. Para tanto, utilizou-se técnicas de proteômica/metalômica, tais como eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) e quantificação do mercúrio por espectrometria de absorção atômica. O estudo contou com 9 participantes, entre o 20º e 70º dia de lactação. O perfil de consumo alimentar (principalmente fontes de proteína animal) foi determinado pela aplicação de um inquérito alimentar recordatório de 7 dias. As concentrações de mercúrio total (HgT) no cabelo foram determinadas por análise direta utilizando o equipamento por SMS 100. As amostras de leite materno e as bandas proteicas, obtidas no fracionamento das proteínas por SDS-PAGE, foram digeridas em meio ácido e a concentração de HgT determinada por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica. As concentrações de HgT nas amostras de cabelo foram inferiores ao limite preconizado pela WHO ($14 \mu\text{g g}^{-1}$), assim como abaixo das médias gerais observadas em várias regiões da Amazônia, possivelmente devido ao baixo consumo de peixe pelos participantes. Apesar dos resultados mostrarem elevadas concentrações de HgT para 88% das amostras, o leite humano é essencial para o desenvolvimento neurológico do recém-nascido, sendo seus benefícios mais relevantes que os possíveis riscos decorrentes da presença de Hg. Os géis obtidos no fracionamento das proteínas por SDS-PAGE apresentaram alta diversidade de bandas proteicas, em média $33 \pm 2,8$ bandas por amostra. No mapeamento de mercúrio nestas bandas, observou-se maior percentagem de Hg nas bandas de baixa massa molar ($< 20,1 \text{ kDa}$), indicando que proteínas com menor massa molar têm maior probabilidade de apresentarem mercúrio, e possivelmente, servirão como possíveis biomarcadoras do metal.

Aluno João Vitor de Queiroz

Orientador Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu-SP

Título do trabalho “Abordagem metalômica quantitativa de mercúrio em peixes da região Amazônica”.

Data da defesa 28/01/2015

Resumo Este trabalho apresenta os resultados de fracionamento de proteínas ligadas ao mercúrio em amostras de músculo de tucunaré (*Cichla spp.*) e filhote (*Brachyplatystoma filamentosum*) oriundos do complexo hidrelétrico de Jirau, na Bacia do Rio Madeira, região amazônica do Brasil. O proteoma do músculo dessas espécies foi separado por eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida (PAGE 2D). O mercúrio presente nos *spots* proteicos foi determinado por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) após mineralização ácida assistida por banho de ultrassom. Os *spots* proteicos que apresentaram mercúrio foram caracterizados por espectrometria de massas por ionização com eletrospray em sequência (ESI-MS/MS) após digestão triptica. As determinações GFAAS indicaram que 65% do mercúrio está ligada à fração proteica com massa molar (Mm) inferior a 90 kDa. As concentrações de mercúrio nos *spots* apresentaram-se na faixa de 13,60 – 17,10 mg g⁻¹. Com base nas concentrações de mercúrio, foi possível estimar que os *spots* proteicos continham aproximadamente um átomo de mercúrio por molécula de proteína. A análise por ESI-MS / MS permitiu caracterizar em dez *spots* proteicos as seguintes proteínas e/ou enzimas: parvalbumina-2 (Mm = 12,40, pI = 3,80); parvalbumina alfa (Mm = 12,40, pI = 3,80); parvalbumina beta (Mm = 12,40, pI = 3,80); ubiquitina-40S proteína ribossômica S27a (Mm = 11,60, pI = 6,10); GTP ciclohidrolase 1 proteína reguladora de *feedback* (Mm = 13,00, pI = 4,00) e proteína de membrana 186 (Mm = 14,00, pI = 4,70).

Aluno Maria Rosa Cerbino

Orientador Prof. Dr. Nelson Jorge da Silva Junior

Instituição Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde da Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

Título do trabalho “Identificação de metaloproteínas associadas ao mercúrio em leite materno”.

Data da defesa 12/04/2016

Resumo O mercúrio é um elemento potencialmente tóxico com ampla distribuição no ambiente amazônico. Este metal é perigoso e responsável por contaminações ambientais e intoxicações humanas, já que é capaz de biomagnificar e bioacumular através das cadeias alimentares, tornando-se assim a principal via de exposição às comunidades amazônicas ribeirinhas do metilmercúrio, cuja dieta é baseada em peixes. Sendo assim estudos relacionados à toxicidade do mercúrio são de fundamental importância para a saúde e a qualidade de vida das comunidades amazônicas. Este estudo buscou detectar e avaliar possíveis biomarcadores proteicos da toxicidade do mercúrio em amostras de leite materno coletadas de populações ribeirinhas do rio Madeira e do rio Negro, na Amazônia brasileira. Inicialmente, determinou-se mercúrio total no cabelo das lactantes para identificar quais estavam contaminadas com mercúrio, em seguida obteve-se o proteoma das amostras de leite por eletroforese bidimensional (2D-PAGE) após precipitação das proteínas em meio acetônico. Nos *spots* proteicos obtidos no processo de fracionamento das proteínas, nas amostras leite, foram feitas determinações de mercúrio por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS), onde os resultados mostraram que o mercúrio se encontra ligado em proteínas de massa molecular na faixa de 14–26 kDa. A determinação da concentração de mercúrio total por GFAAS foi feita também no leite in natura, leite liofilizado e nos *pellets* proteicos, com o objetivo de se fazer um balanço de massa de mercúrio em relação à concentração deste elemento no leite e *pellets*. As medidas de balanço de massa permitiram observar que, em relação às amostras de leite do rio Madeira, cerca de 85 a 95% do mercúrio presente no leite liofilizado encontra-se na fração proteica. Em relação às lactantes do rio Negro, cerca de 50% do mercúrio total está ligado na fração proteica e a diferença de 51% pode estar ligado na fração lipídica. Contudo, mais estudos nesta linha de pesquisa devem ser desenvolvidos, para que se possam ter conclusões mais robustas.

Aluno Cássio Augusto da Silva Oliveira

Orientador Prof. Dr. Ézio Sargentini Junior

Instituição Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Título do trabalho “Distribuição do mercúrio lábil no sedimento do reservatório de Balbina – AM/Brasil”.

Data da defesa 18/08/2016

Resumo Os reservatórios são ambientes complexos de serem estudados, pois podem ser divididos em três compartimentos ambientais sendo eles, compartimento Fluvial, de Transição e Lacustre. O sedimento é um dos compartimentos ambientais afetado pela inundação de parte da floresta que constitui a margem dos rios, e esta inundação causa mudanças na composição geoquímica deste compartimento ambiental, devido ao acréscimo de matéria orgânica e de metais com potencial tóxico como é o caso do mercúrio. Neste sentido este estudo teve como objetivo principal avaliar os aspectos geoquímicos que favorecem a distribuição de mercúrio lábil no sedimento do reservatório de Balbina. Para tanto a coleta de sedimento foi realizada em 10 pontos de amostragem localizados a montante da barragem durante o mês de maio de 2015, período sazonal chuvoso. Nestas amostras foram determinadas a concentração de mercúrio total (HgT) usando o analisador de mercúrio Direct Mercury Analyzer (DMA-80). A extração do mercúrio lábil (HgL), ferro lábil (FeL), alumínio lábil (ALL) e manganês lábil (MnL) foram feitas usando o método U. S EPA 3051a. A concentração do HgL foi determinada usando o espectrômetro de fluorescência atômica de vapor frio, Tekran, modelo 2600, as concentrações do FeL, MnL e ALL foram determinadas usando ICP-OES, Thermo®, modelo iCAP 7600 Series. O teor de matéria orgânica (TMO) foi feito seguindo a metodologia 2540-G do Standard Methods Online e para a análise granulométrica, utilizou-se o granulômetro por difração a laser Mastersizer 2000, da Malvern. Os resultados obtidos foram analisados usando o coeficiente de correção de Spearman, regressão linear simples (RLS) e as ferramentas quimiométricas Análise Hierárquica de Cluster (AHC) e Análise das Componentes Principais (ACP). O TMO variou na faixa de 2,08 – 48,29%, a composição granulométrica apresentou porcentagem nas seguintes faixas, areia 46,86 – 94,18%, silte 4,97 – 48,03% e argila 0,85 – 5,92%. A concentração de HgT variou entre 0,0123 – 0,3072 mg de HgT kg⁻¹. A variação da concentração dos metais extraídos foram, 4132,39 – 211896,20 mg de FeL kg⁻¹, 1613,64 – 46437,64 mg de ALL kg⁻¹, 0,0176 – 0,6133 mg de MnL kg⁻¹ e 0,000 – 0,2560 mg de HgL kg⁻¹. A porcentagem de HgL no sedimento variou de 0 a 83% em relação a concentração de HgT e esta variação foi influenciada pela característica geoquímica de cada ponto de coleta. O coeficiente de correlação de Spearman mostrou que o HgL possui correlação forte positiva para o TMO, silte, argila, FeL, MnL e ALL e forte negativa para a areia. Estas correlações foram ratificadas pelo estudo quimiométrico destas variáveis, de forma que a AHC e ACP mostraram a existência de três grupos de sedimento distinto no reservatório de Balbina. A concentração de HgL é alta no compartimento fluvial (entrada do rio Uatumã e seus tributários), no compartimento de transição (centro do reservatório) ocorre uma diminuição na concentração e no compartimento lacustre (próximo a barragem) ocorre um aumento na concentração. A RLS mostrou que concentração de HgT e HgL estão fortemente correlacionadas e foi constatado que o HgT segue o mesmo padrão de comportamento apresentado pelo HgL. A labilidade do mercúrio no sedimento pode estar sendo influenciada pela elevada concentração de FeL, ALL, MnL, matéria orgânica e pH.

Aluno Felipe André dos Santos

Orientador Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada / Instituto de Biociências-UNESP, Botucatu-SP.

Título do trabalho “Estudo metalômico do mercúrio em leite materno coletado da população ribeirinha da área de influência do UHE JIRAU – Bacia do rio Madeira-Rondônia/Brasil”.

Data da defesa: 13/12/2013

Resumo Neste trabalho, buscou-se identificar proteínas responsáveis pelo transporte de mercúrio em amostras de leite materno coletadas da população ribeirinha do rio Madeira. Para isso, inicialmente, foi obtido o proteoma das amostras de leite por eletroforese bidimensional (2D PAGE) após precipitação das proteínas em meio acetônico. Nos *spots* proteicos obtidos no processo de fracionamento das proteínas, nas amostras de cabelo e de leite das lactantes foram feitas determinações de mercúrio por espectrometria de absorção atômica de vapor frio (CVAAS) e espectrofotometria de fluorescência atômica de vapor frio (CVAFS). As determinações por CVAFS indicaram a presença de mercúrio em dois *spots* proteicos (spot 1, spot 2), os quais foram caracterizados por espectrometria de massas em sequência com ionização por eletrospray (ESI MS MS) e por meio de busca no banco de dados Uniprot. A análise por ESI MS MS identificou o *spot* 1 como sendo a proteína β caseína (pI = 5,52 e MM = 26,01 kDa) e o *spot* 2 como sendo a proteína Lisozima C (pI = 9,30 e MM = 16,50 kDa). Os resultados obtidos nas determinações de mercúrio nos *spots* 1 e 2 permitiram estabelecer relação estequiométrica de um átomo de mercúrio por quatro moléculas de β caseína e de um átomo de mercúrio por molécula de lisozima C. Com base nos dados obtidos é possível inferir, no caso da β caseína, que a ligação do mercúrio não é específica, tratando-se de uma proteína metal-binding, não configurando o mercúrio como um cofator metálico, o que não desqualifica a β caseína como possível biomarcadora de mercúrio. Em relação a Lisozima C, a presença de metionina (base mole) na sequência peptídica pode estabelecer ligações com íons metálicos com características de ácido mole, como o Hg^{2+} , configurando uma ligação mais estável desse íon com grupos sulfidrilas da Lisozima C e, caracterizando essa proteína como possível biomarcador de mercúrio.

Aluno Paula Martin de Moraes

Orientador Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada / Instituto de Biociências-UNESP, Botucatu-SP.

Título do trabalho “Desenvolvimento de métodos analíticos para estudo metalômico do mercúrio em peixes coletados na área de influência do UHE JIRAU – Bacia do rio Madeira-Rondônia/Brasil”.

Data da defesa 28/02/2014

Resumo Inserido na realidade de contaminação dos rios amazônicos pelo mercúrio, este trabalho busca, por meio do estudo metaloproteômico, a identificação e a caracterização de proteínas do tecido muscular de três espécies diferentes de peixes do rio Madeira que possam atuar como possíveis biomarcadores da toxicidade deste elemento na região de influência do Aproveitamento Hidrelétrico de Jirau (AHE JIRAU). As estratégias para este estudo foram separadas em três componentes distintos: de seletividade, de sensibilidade e estrutural. Ao longo desta pesquisa, diferentes metodologias foram empregadas nessas etapas para o estudo metaloproteômico: componente de seletividade – 2D PAGE no fracionamento bidimensional das proteínas; componentes de sensibilidade – SR XRF e GFAAS para identificação e quantificação do mercúrio nos *spots* proteicos, respectivamente; componente estrutural – ESI MS MS na caracterização das proteínas identificadas com mercúrio em sua estrutura. As espécies de peixes estudadas foram: dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*), pacu (*Mylossoma sp.*, *Myleus sp.*) e jaraqui (*Semaprochilodus sp.*). Entre os resultados obtidos, a 2D PAGE se mostrou eficiente no fracionamento proteico do tecido muscular de peixes. Utilizando análises qualitativas por SR XRF foi possível identificar a presença de mercúrio no spot 68 da dourada (massa molar 20,8 kDa e pI 5,6) e no *spot* 72 do pacu (massa molar 19,8 kDa e pI 7,5). Determinações por GFAAS permitiram a quantificação do mercúrio no tecido muscular e em 28 *spots*, que apresentaram concentrações de 11,3 a 41,2 mg g⁻¹ de mercúrio em sua composição; esses resultados possibilitaram o cálculo da estimativa do número de átomos de mercúrio por molécula de proteína entre os *spots* estudados. Após análise por ESI MS MS, foi possível caracterizar oito proteínas com diferentes isoformas em 21 *spots* que apresentaram pI de 3,5 a 9,8 e massa molar entre 9,9 e 18,1 kDa, indicando que estas proteínas podem ser possíveis candidatas a biomarcador de mercúrio em amostras de peixes da região amazônica.

Aluno Vinicius Marques Gomes

Orientador Prof. Dr. Ademir dos Santos

Instituição Programa de Pós-Graduação em Química / Instituto de Química-UNESP, Araraquara-SP.

Título do trabalho “*Estudo do potencial de metilação do mercúrio em solos e sedimentos em áreas a serem inundados para aproveitamento hidrelétrico*”.

Data da defesa 01/08/2014

Resumo Desde o final dos anos 80, a questão do comportamento do mercúrio no ambiente amazônico e sua toxicidade vêm sendo discutidos por pesquisadores brasileiros e estrangeiros na tentativa de se determinar o verdadeiro risco que este elemento apresenta para o ecossistema. Embora muitos avanços tenham sido obtidos num intenso esforço de três décadas, a ausência de um grande programa de mapeamento e monitoramento da contaminação por mercúrio em todo território amazônico dificulta a precisa determinação dos caminhos que este metal percorre antes de constituir um perigo ao ser humano. No ambiente aquático, o mercúrio pode ser metilado por processos biológicos e/ou químicos. Dentre as espécies de mercúrio, o metilmercúrio (MeHg) é a mais tóxica, o que se deve a sua elevada estabilidade, solubilidade lipídica e propriedades iônicas que lhe permite atravessar membranas de organismos vivos. A metilação do mercúrio e o subsequente acúmulo na biota é maior no ambiente aquático que no terrestre e pode ser considerada a etapa chave para o entendimento do ciclo do Hg. O interesse no estudo ecotoxicológico do MeHg se deve principalmente ao fato de ser uma neurotoxina, tendo a tendência de bioacumular e biomagnificar, tornando-se um risco para a saúde humana. A principal via de contaminação nos seres humanos é através da ingestão de alimentos, principalmente peixes. Neste trabalho, foi realizado um estudo na região do rio Madeira na área de influência da Usina Hidrelétrica de Jirau, determinando a concentração de mercúrio total e orgânico em amostras de água, solo e sedimento, e verificou-se que tais valores estão abaixo dos níveis preconizados pela legislação brasileira, não evidenciando contaminação pontual deste metal na bacia antes do enchimento do lago. Além disso, estudou-se a formação do MeHg utilizando águas, solos e sedimentos provenientes de três bacias da região amazônica (águas claras – rio Tocantins GO, águas brancas – rio Madeira RO e águas escuras – rio Negro AM), na presença de Hg⁰ e Hg²⁺ ao longo de 25 dias, analisando pH, condutividade, potencial redox (EH) e oxigênio dissolvido (OD), verificando uma relação inversamente proporcional entre formação de mercúrio orgânico e os parâmetros medidos durante o estudo.

Aluno Ricardo Moutinho da Silva

Orientador Prof. Dr. Julio Cesar Rocha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Química / Instituto de Química-UNESP, Araraquara-SP.

Título do trabalho “*Metilação do mercúrio em águas da região amazônica com e sem a presença de macrófitas*”.

Data da defesa 03/10/2014

Resumo Embora o mercúrio possua elevada aplicabilidade apresenta espécies muito tóxicas, sendo a forma metilada a mais tóxica para os seres vivos. As águas de rios possuem características físico-químicas diferentes dependendo da região em que estão localizados e o processo de metilação do mercúrio está diretamente relacionado a essas características. Outro fator que pode favorecer esse processo é a formação de reservatórios naturais no período de cheias, o que representa a diminuição de fluxo, modificação do sistema lótico para lântico e a formação de gradientes longitudinais químicos, físicos e biológicos. Sistemas lânticos podem possuir em sua constituição macrófitas aquáticas. As raízes dessas plantas constituem um ambiente rico em microorganismos os quais podem contribuir para o aumento da formação de espécies orgânicas mercuriais. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo principal avaliar a metilação do mercúrio em águas da região amazônica: claras (rio Tocantins – Região de Goiás), brancas (rio Madeira – Região de Rondônia) e pretas (rio Negro – Amazonas), na presença e ausência de macrófitas. Ao final do trabalho verificou-se que nas mesmas condições experimentais a formação de espécies orgânicas foi maior nas amostras de águas pretas, seguidas das amostras de água brancas e claras respectivamente. Com relação aos ensaios com macrófitas aquáticas verificou-se que contribuíram para aumento da formação de mercúrio orgânico nas águas claras (rio Tocantins) e águas brancas (rio Madeira), entretanto não influenciam na formação de mercúrio orgânico em águas pretas (rio Negro). Neste caso, as características físico-químicas da amostra de água predominaram em relação à presença das macrófitas.

Aluno Bruno Prior Rocha

Orientador Prof. Dr. André Henrique Rosa

Instituição Programa de Pós-Graduação em Química / Instituto de Química-UNESP, Araraquara-SP.

Título do trabalho “Distribuição de cobre, chumbo e mercúrio totais em amostras de sedimentos e substâncias húmicas extraídas de sedimentos coletados em mananciais com diferentes tipos de água da bacia Amazônica”

Data da defesa 17/02/2017

Resumo Caracterizou-se a distribuição de cobre, chumbo e mercúrio totais em frações de sedimentos de mananciais dos três diferentes tipos de águas da bacia amazônica. Também a distribuição dessas espécies em substâncias húmicas extraídas das frações de sedimentos de mananciais dos três diferentes tipos de águas da bacia amazônica. As amostras de sedimentos foram coletadas durante os períodos de cheia e seca entre 2014 e 2015, nos reservatórios da Usina Hidrelétrica de Jirau (Rio Madeira – RO – água branca), da Usina Hidrelétrica de Cana Brava (Rio Tocantins – GO) e no baixo Rio Negro – AM. O tratamento estatístico não caracterizou diferenças significativas entre os resultados em função da sazonalidade. Assim, devido à grande quantidade de dados gerados neste trabalho, os resultados apresentados no trabalho representam as medianas obtidas nos períodos de coletas e mananciais. Os maiores valores médios de concentração de cobre total foram no rio com tipo de água branca (rio Madeira) em seguida no rio com tipo de água clara (rio Tocantins) e rio com tipo de água preta (rio Negro). Podendo-se assim estabelecer a seguinte ordem decrescente de concentração média de Cu nos sedimentos: água branca > água clara > água preta. Para chumbo, os maiores valores médios de concentração foram no rio com tipo de água branca em seguida no rio com tipo de água clara e rio com tipo de água preta. Pode-se estabelecer a seguinte ordem decrescente de média de concentração de Pb nos sedimentos: água branca > água clara > água preta. Os maiores valores médios de concentração de Hg foram no rio com tipo de água preta em seguida no rio com tipo de água branca e rio com tipo de água clara. Pode-se estabelecer a seguinte ordem decrescente de média de concentração de Hg nos sedimentos: água preta > água branca > água clara. Caracterizou-se que, substâncias húmicas extraídas das frações de sedimentos coletados no rio de água preta têm maior concentração de carbono orgânico total e mercúrio total, em relação àquelas extraídas dos sedimentos coletados nos reservatórios de água branca e de água clara. As maiores concentrações de mercúrio total nas substâncias húmicas extraídas dos sedimentos foram determinadas nas frações granulométricas menores para o Rio Negro (água preta). Por outro lado, nos reservatórios de água branca (Rio Madeira) e água clara (Rio Tocantins), foram caracterizadas maiores concentrações de mercúrio total nas substâncias húmicas extraídas de frações com maiores granulometrias. Os resultados desse trabalho demonstram a influência na presença da matéria orgânica e outros parâmetros físico-químicos da água e sedimentos na complexação, disponibilidade, transporte e ciclagem de espécies químicas, particularmente, cobre, chumbo e mercúrio em reservatórios da bacia da região amazônica.

Aluno José Cavalcante Souza Vieira

Orientador Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada / Instituto de Biociências-UNESP, Botucatu-SP.

Título do trabalho “Metalotioneínas em peixes da região amazônica: estudo metalômico associado ao mercúrio”

Data da defesa 16/02/2017

Resumo Os altos teores de mercúrio encontrados em solo, sedimentos, peixes e humanos na Amazônia brasileira têm sido estudados intensamente pela comunidade científica nas últimas décadas, procurando-se elucidar os mecanismos de toxicidade das espécies mercuriais. As espécies mercuriais bioacumuladas nos tecidos dos seres vivos, ligam-se a metaloproteínas, e quando há uma concentração alta de metal tóxico nos organismos, esses passam a expressar proteínas de defesa, as denominadas metalotioneínas (MTs) – proteínas de massa molecular inferior a 10 kDa, que caracterizam-se por apresentar muitos resíduos de aminoácidos com enxofre (cisteínas) em sua cadeia peptídica. Isto pode significar que a fração biodisponível das espécies mercuriais nas diferentes espécies de peixes pode ser dependente da forma como estas estão ligadas às proteínas. Levando em consideração o exposto, esse estudo teve como objetivo otimizar: – métodos de quantificação de mercúrio por GFAAS nos tecidos, *pellets* e *spots* proteicos obtidos; – procedimentos eletroforéticos por 2D-PAGE para fracionamento de metalotioneínas responsáveis pelo transporte de mercúrio em amostras de tecido muscular e hepático de peixes Tucunaré (*Cichla spp.*), Filhote (*Brachyplatystoma filamentosum*), Jaraqui (*Semaprochilodus sp.*) e Barba chata (*Pirirampus pirinampu*), coletados no reservatório da Usina Hidrelétrica de Jirau (AHE Jirau) – Bacia do rio Madeira e caracterização destas proteínas por ESI MS/MS. Apesar de ter encontrado mercúrio em 27 *spots* proteicos e destes caracterizadas 21 proteínas, não foi notado presença da produção de metalotioneínas nas espécies estudadas, o que pode ser deduzido que as concentrações de mercúrio ainda não estão sendo suficientes para provocar a indução da expressão destas pequenas proteínas de defesa contra intoxicação do organismo por mercúrio.

Aluno João Vitor de Queiroz

Orientador Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu-SP

Título do trabalho “Caracterização de metalotioneínas ligadas ao mercúrio em amostras de tecido muscular e hepático em peixes coletados na área de influência do AHE JIRAU – Bacia do rio Madeira”.

Data da defesa 16/02/2017

Resumo Este trabalho apresenta os resultados de proteínas ligadas ao mercúrio em amostras de tecido muscular e hepático de pirarucu (*Arapaima gigas*) e piranha preta (*Serrasalmus rhombeus*) oriundos do complexo hidrelétrico de Jirau, na Bacia do Rio Madeira, região amazônica do Brasil. O proteoma do músculo e do fígado dessas espécies foi separado por eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida (2D PAGE). O mercúrio presente nos spots proteicos foi determinado por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) após mineralização ácida assistida por banho de ultrassom. Os spots proteicos que apresentaram mercúrio foram caracterizados por espectrometria de massas por ionização com eletrospray em sequência (ESI- MS/MS) após digestão triptica. As determinações GFAAS indicaram que a maior parte do mercúrio está ligada a fração proteica com massa molar (Mm) inferior a 90 kDa. As concentrações de mercúrio nos spots apresentaram-se na faixa de 4,07 – 164,63 $\mu\text{g g}^{-1}$ no tecido muscular de pirarucu; 0,86 – 25,34 $\mu\text{g g}^{-1}$ no tecido hepático de pirarucu; 7,67 – 156,18 $\mu\text{g g}^{-1}$ no tecido muscular de piranha preta e 2,17 – 31,42 $\mu\text{g g}^{-1}$ no tecido hepático de piranha preta. A análise por ESI-MS/MS permitiu caracterizar em dezenove spots proteicos 15 metaloproteínas e/ou proteínas metal ligando associadas ao mercúrio.

Aluno Bruna Cavecci

Orientador Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu-SP

Título do trabalho “Estudo de metalotioneínas associadas ao mercúrio em peixes da região amazônica”.

Data da defesa 20/02/2017

Resumo O peixe é importante fonte de proteínas de alto valor biológico, vitaminas e minerais. Porém, este alimento é também uma das principais vias de exposição humana a contaminantes tóxicos como o metilmercúrio (MeHg). Assim a sua acumulação no peixe pode predispor sérios riscos para a saúde humana. Os altos teores de mercúrio encontrados em solo, sedimentos, peixes e humanos na Amazônia brasileira têm sido estudados intensamente pela comunidade científica nas últimas décadas, procurando-se elucidar os mecanismos de toxicidade das espécies mercuriais. As espécies mercuriais ligam-se preferencialmente às metalotioneínas – proteínas de massa molar inferior a 10 kDa, que caracterizam-se por apresentar resíduos de aminoácidos com enxofre, como a cisteína. Isto pode significar que a fração biodisponível das espécies mercuriais nas diferentes espécies de peixes pode ser dependente da forma como estas estão ligadas às proteínas. Portanto esta proposta de trabalho busca otimizar: procedimentos eletroforéticos por 2D-PAGE para fracionamento e identificação de metalotioneínas responsáveis pelo transporte de mercúrio em amostras de tecido muscular e hepático de peixes coletados no reservatório do AHE JIRAU – Bacia do rio Madeira; método para determinação de mercúrio por GFAAS nos spots proteicos obtidos; avaliar estresse oxidativo dos peixes contaminados com mercúrio por meio das atividades das enzimas catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD), bem como das concentrações de hidroperóxido de lipídio (HP); caracterização das metalotioneínas transportadoras de mercúrio por ESI-MS/MS e finalmente a análise de expressão dessas proteínas procurando-se possível correlação com a incorporação do mercúrio nos organismos dos peixes.

Aluno Alis Bitarello

Orientador Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Instituição Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu-SP

Título do trabalho “Estudo de biomarcadores de mercúrio em peixes da Amazônia por meio da metalômica e análise do estresse oxidativo”.

Data da defesa 20/02/2017

Resumo O presente estudo teve por objetivo desenvolver e validar métodos analíticos para avançar no conhecimento em busca de biomarcadores proteicos/enzimáticos da contaminação de mercúrio em peixes da região amazônica. O estudo do metaloma e dos mecanismos envolvidos no estresse oxidativo de duas espécies endêmicas da bacia do rio Madeira, o *Plagioscion squamosissimus* e *Colossoma macropomum*, foram avaliados através do processo de fracionamento de proteínas por 2D-PAGE, do mapeamento do mercúrio nos *spots* proteicos por GFAAS, e da avaliação da atividade das enzimas da primeira linha de defesa antioxidante do organismo, bem como da quantidade de hidróperóxido de lipídeos como indicativo de peroxidação lipídica. Como componente estrutural para caracterização dos *spots* proteicos foi utilizada a espectrometria de massas com ionização por *eletrospray* (ESI-MS). Os resultados obtidos pretendem fornecer subsídios técnico-científicos para a área de monitoramento ambiental, bem como conhecimentos relevantes quanto a sistemática do mercúrio no metabolismo destas espécies, possibilitando a elaboração de novos protocolos de estudo em organismos contaminados por este metal potencialmente tóxico.

OUTROS

Artigos publicados

- MORAES, P. M., SANTOS, F. A., CAVECCI, B., PADILHA, C. C.F., VIEIRA, J. C.S., ROLDAN, P. S., PADILHA, P. M. **GFAAS determination of mercury in muscle samples of fish from Amazon, Brazil.** Food Chemistry, v. 141, p. 2614-2617, 2013.
- BRAGA, C. P., BITARELLO, A. C., PADILHA, C.C.F., LEITE, A.L., MORAES, P. M., BUZALAF, M. A. R., ZARA, L. F., PADILHA, P. M. **Mercury fractionation in dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*) of the Madeira River in Brazil using metalloproteomic strategies.** Talanta, v. 132, p. 239-244, 2015.
- VIEIRA, J. C. S., CAVECCI, B., QUEIROZ, J. V., BRAGA, C. P., PADILHA, C. C. F., LEITE, A. L., FIGUEIREDO, W. S., BUZALAF, M. A. R., ZARA, L. F., PADILHA, P. M. **Determination of the Mercury Fraction Linked to Protein of Muscle and Liver Tissue of Tucunaré (*Cichla spp.*) from the Amazon Region of Brazil.** Archives of Environmental Contamination Toxicology, v.133, 161-168, 2015.
- SANTOS, F. A., CAVECCI, B., VIEIRA, J. C. S., FRANZINI, V. P., SANTOS, A., LEITE, A. L., BUZALAF, M. A. R., ZARA, L. F., PADILHA, P. M. **Metalloproteomics Study on the Association of Mercury With Breast Milk in Samples From Lactating Women in the Amazon Region of Brazil.** Archives of Environmental Contamination Toxicology, v. 69, p. 223-229, 2015.
- POZZI, C. M., BRAGA, C. P., VIEIRA, J. C. S., CAVECCI, B., QUEIROZ, J. V., BARBOSA, H. S., ARRUDA, M. A. Z., GOZZO, F. C., PADILHA P. M. **Metal ions bound to the human milk immunoglobulin A: Metalloproteomic approach.** Food Chemistry, v. 166, p. 492-497, 2015.
- CAVECCI, B.; LIMA, P. M.; QUEIROZ, J. V., BRAGA, C. P., PADILHA, C. C. F., LEITE, A. L., BUZALAF, M. A. R., PEZZATO, L. E., PADILHA, P. M. **Metalloproteomic profile determination of muscle samples from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) using AAS and ESI-MS/MS after 2D-PAGE separation.** Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 26, p. 239-246, 2015.
- Queiroz, J. V., Braga, C. P., Vieira, J.C.S., Cavecci, B., Bittarello, A.C., Leite, A. L., Buzalaf, M. A..R., Padilha, C.C.F., ZARA, L. F., Padilha, P.M. **Metalloproteomic approach to the mercury in samples of muscle and liver tissues of filhote (*Brachyplatystoma filamentosum*) from the Brazilian Amazon.** Omics, 2016, *in press*.
- Vieira, J. C. S., Braga, A. P., Queiroz, J. V., Cavecci, C., Bittarello, A. C., Oliveira, G., Padilha, C. C. F., Leite, A. L., Marília Afonso Rabelo Buzalaf, M. A. R., ZARA, L. F., Padilha, P.M. **Mercury toxicity: protein biomarkers in jaraqui (*Semaprochilodus sp.*) fish from Amazon region.** Environmental Toxicology and Chemistry, 2016, *in press*.

Comunicações em congressos internacionais

- CAVECCI, B., VIEIRA, J. C. S., MORAES, P. M., SANTOS, F. A., PADILHA, C. C. F.; ZARA, L. F.; PADILHA, P. M. **Mercury mapping in protein spots from muscle fish of Amazon region – Brazil using 2D-PAGE and GFAAS.** XVII Euroanalysis, 2013.
- MORAES, P. M., SANTOS, F. A.; CAVECCI, B., PADILHA, C. C. F., VIEIRA, J. C. S., ROLDAN, P. S., ZARA, L. F., PADILHA, P. M. **GFAAS Determination of mercury in muscle samples of fish from Amazon, Brazil.** XVII Euroanalysis, 2013.

3. ZARA, L. F., PASSOS, C. J. S., SILVA, T. M., FIGUEIREDO, W. S., SERRA, C. V., SERRA, V. V., SIMOES, V. L. D., SANTOS, L. M. *Biomonitoring of human mercury (Hg) exposure at the Jirau Hydroelectric Power Plant, Brazilian Amazon. XVII EuroAnalysis*, 2013.
4. SIQUEIRA, A. G., SILVA, T. M., FIGUEIREDO, W. S., ZARA, L. F., CASTRO, G. R., BERNARDI, J.V.E. *Total mercury (Hg) stock in sediments of the Jirau Hydroelectric Power Plant, Madeira River – Brazilian Amazon. XVII EuroAnalysis*, 2013.
5. MORAES, P.M., QUEIROZ, J.V., BRAGA, C. P., LEITE, A.L., BUZALAF, M.A.R., ZARA, L.F., OKOSHI, M.P., PADILHA, P. M., *Metallomic study of mercury in fish muscle (Semaprochilodus) from Amazon-Brazil. Experimental Biology*, 2014.
6. VIEIRA, J. C. S., Cavecci, B., Queiroz, J. V., Bittarello, A. C., Braga, C. P., Padilha, C. C. F., ZARA, L. F., Padilha, P. M. *Mercury fractionation in fish of the Madeira River-Brazil using metalloproteomic strategies. XVIII Euroanalysis*, 2015.
7. De Carvalho, T. M., Figueiredo, W. S., Padilha, C. C. F., ZARA, L. F., Padilha, P. M. *Metallomic applied in the mercury toxicity study in breast milk samples of lactating women from the Amazon region of Brazil. XVIII Euroanalysis*, 2015.
8. Figueiredo, W. S., de Carvalho, T. M., ZARA, L. F., PADILHA, P. M. *Metalloproteomics study associated with mercury in muscle samples of tucunaré (Cichla temensis) from the Amazon region of Brazil. XVIII Euroanalysis*, 2015.
9. Queiroz, J. V., Vieira, J. C. S., Cavecci, B., Bittarello, A. C., Braga, C. P., Padilha, C. C. F., ZARA, L. F., Padilha, P. M. *Mercury fractionation in filhote (Brachyplatystoma filamentosum) of the Madeira River in Brazil using metalloproteomic strategies. 9th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications*, 2015.
10. Santos, F. A., Cavecci, B., Santos, A., Padilha, C. C. F., ZARA, L. F., Padilha, P. M. *Metalloproteomics study associated with mercury in breast milk samples of lactating women from the Amazon region of Brazil. 9th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications*, 2015.
11. Queiroz, J. V., Vieira, J. C. S., Cavecci, B., Braga, C. P., Bittarello, A. C., ZARA, L. F., Padilha, P. M. *Metallomic study of Hg in muscle tissue of Jaraqui. 18th International Conference on Heavy Metals in the Environment*, 2016.
12. ZARA, L. F., ROCHA, B. C. P., DA SILVA, T. M., FIGUEIREDO, W. S. *Total Mercury distribution in organic matter extracted from sources of sediment samples with different types of water in the Amazon basin. 18th International Conference on Heavy Metals in the Environment*, 2016.
13. ZARA, L. F., FIGUEIREDO, W. S., DA SILVA, T. M., ROCHA, B. C. P. *Mercury in fish from Brazilian river and reservoirs hydroelectric power. 18th International Conference on Heavy Metals in the Environment*, 2016.
14. PADILHA, P. M., QUEIROZ, J. V., BRAGA, C. P., VIEIRA, J. C. S., CAVECCI, B., BITTARELLO, A. C., PADILHA, C. C. F., ZARA, L. F. *Characterization of proteins associated with mercury in samples of muscle and liver tissues of filhote (Brachyplatystoma filamentosum) from the Brazilian Amazon. Interfaces Against Pollution Conference - IAP 2016*, 2016.
15. PADILHA, P. M., CERBINO, M. R., BRAGA, C. P., SILVA JR, N. J., VIEIRA, J. C. S., PADILHA, C. C. F., ZARA, L. F. *Mercury fractionation in breast milk samples from lactating women of Amazon region-Brazil using metalloproteomics strategies. Interfaces Against Pollution Conference - IAP 2016*, 2016.

Comunicações em congressos nacionais

1. VIEIRA, J. C. S.; CAVECCI, BRUNA; PADILHA, P. M. *Especiação de Mercúrio em amostras de tecido hepático de peixes da região Amazônica - Abordagem Metaloproteômica. XIII Workshop da Pós-Graduação Inovação e Pesquisa na Universidade*, 2013. - Melhor pôster apresentado no XIII Workshop da Pós-Graduação, UNESP.
2. SANTOS, F. A., CAVECCI, B., MORAES, P. M., SANTOS, A., VIEIRA, J. C. S., PADILHA, P. M. *Estudo metaloproteômico do mercúrio em leite materno coletado da população ribeirinha do rio Madeira – Rondônia. XVIII Congresso Brasileiro de Toxicologia*, 2013.
3. SILVA, T. M., FIGUEIREDO, W. S., PASSOS, C. J. S., ZARA, L. F. *Avaliação dos níveis de exposição humana ao mercúrio (Hg) na população da área de influência do Aproveitamento Hidrelétrico de Jirau, Bacia do rio Madeira, Amazônia Ocidental Brasileira. XVII Congresso Brasileiro de Toxicologia*, 2013.
4. FIGUEIREDO, W. S., SILVA, T. M., BERNARDI, J.V.E., ZARA, L. F., SANTOS, A., ROCHA, J. C., JARDIM, W. F. *Monitoramento de mercúrio na ictiofauna na área de influência do Aproveitamento Hidrelétrico Jirau (UHE Jirau), Amazônia, Brasil. XVII Congresso Brasileiro de Toxicologia*, 2013.
5. VIEIRA, J. C. S., BRAGA, C. P., QUEIROZ, J. V., PADILHA, P. M. *Quantification of mercury by GFAAS in samples of hepatic tissue of tucunaré in the AHE JIRAU region Amazonia – Brazil. XIII Workshop da Pós-Graduação Inovação e Pesquisa na Universidade*, 2013.

6. QUEIROZ, J. V., CAVECCI, B., VIEIRA, J. C. S., BRAGA, C. P., BITTARELLO, A. C., PADILHA, I. F., PADILHA, C. C. F.; PADILHA, P. M. *Estudo de biomarcadores de toxicidade de mercúrio em Tucunaré (Cichla spp.) coletados na região do Rio Madeira*. **54º Congresso Brasileiro de Química**, 2014.
7. SILVA, T. M.; FIGUEIREDO, W. S.; VIEIRA, J.C.S.; CAVECCI, B.; ZARA, L. F.; PADILHA, P.M. *Determinação de mercúrio total em amostras de leite de lactantes residentes no alto rio Madeira, Rondônia, Brasil*. **54º Congresso Brasileiro de Química**, 2014.
8. PADILHA, P. M.; VIEIRA, J. C. S.; BITTARELLO, A. C.; QUEIROZ, J. V.; BRAGA, C. P.; CAVECCI, BRUNA; PADILHA, CILENE C. F.; ZARA, L. F. *Mapeamento de mercúrio em spots proteicos de tecido hepático de peixes da região Amazônica*. **VI Congresso da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, 2014.
9. BITTARELLO, A. C., VIEIRA, J. C. S., BRAGA, C. P., CAVECCI, B., QUEIROZ, J. V., PADILHA, C. C. F., ZARA, L. F., PADILHA, P. M. *Biomarcadores proteicos de mercúrio em peixes da bacia do Rio Madeira*. **VI Congresso da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, 2014.
10. ROCHA, B. C. P., ROSA, A. H., SILVA, R. M., SANTOS, A., ZARA, L. F., ROCHA, J. C. *Investigação da labilidade de mercúrio em sedimento da região do rio Madeira / Rondônia-RO*. **VII Encontro Nacional de Química Ambiental**, 2014.
11. SILVA, R. M., ROCHA, B. C. P., SANTOS, A., ZARA, L. F., ROCHA J. C. *Metilação do mercúrio em amostras de águas da região amazônica enriquecidas com mercúrio metálico*. **VII Encontro Nacional de Química Ambiental**, 2014.
12. FIGUEIREDO, W. S., MACHADO, T. M., ZARA, L. F., SARGENTINI, É., SANTOS, A., PADILHA, P. M., FRANZINI, V. P. *Estudo quantitativo do mercúrio em tecido muscular de tucunarés*. **VII Encontro Nacional de Química Ambiental**, 2014.
13. SILVA, T. M., FIGUEIREDO, W.S., CAVECCI, B., VIEIRA, J. C. S., PADILHA, C. C. F., ZARA, L. F., PADILHA, P. M. *Estudo metaloproteômico quantitativo do mercúrio em amostras de leite de lactantes residentes no alto rio Madeira, Rondônia, Brasil*. **VII Encontro Nacional de Química Ambiental**, 2014. - Neste evento, a bolsista Tania Machado da Silva recebeu menção honrosa.
14. ROCHA, B. C. P., SILVA, R. M., SANTOS, F. A., CASTRO, G. R., SARGENTINI, E., ZARA, L. F., ROSA, A. H. *Distribuição de mercúrio total em matéria orgânica extraída de amostras de sedimentos de mananciais com diferentes tipos de água da bacia Amazônica*. **XI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**, 2015.
15. CERBINO, M.R., DA SILVA JUNIOR, N. J., SILVA, T.M.; FIGUEIREDO, W.S., PADILHA, C.C.F., PADILHA, P.M., ZARA, L. F. *Concentrações de mercúrio total no cabelo de comunidades Amazônicas – Brasil*. **55º Congresso Brasileiro de Química**, 2015.
16. CERBINO, M. R., DA SILVA, T. M., PADILHA, C. C. F., PADILHA, P.M., ZARA, L. F., DA SILVA JR., N. J. *Identification of metal proteins associated with mercury in breast milk samples*. **XIX Congresso Brasileiro de Toxicologia - CBTox**, 2015.
17. QUEIROZ, J. V., VIEIRA, J. C. S., CAVECCI, B., BITTARELLO, A. C., BRAGA, C. P., PADILHA, C. C. F., ZARA, L. F., PADILHA, P.M. *Metaloproteomic speciation of mercury in amazonian fish samples – Madeira River Basin*. **XIX Congresso Brasileiro de Toxicologia - CBTox**, 2015.

Workshops realizados na vigência do projeto

1º Workshop do projeto PD 6631-0001/2012.

“Biomarcadores de toxicidade do mercúrio aplicados ao setor hidrelétrico na região Amazônia”.
Local: Usina Hidrelétrica de Jirau, Porto Velho – RO.
Data: 7 e 8/5/2014.
Número de participantes: 29
Entrevistas em diversos veículos de comunicação.

2º Workshop do projeto PD 6631-0001/2012.

“Biomarcadores de toxicidade do mercúrio aplicados ao setor hidrelétrico na região Amazônia”.
Local: Instituto de Biociências de Botucatu - Universidade Estadual Paulista – IB/UNESP, Botucatu – SP.
Data: 9/7/2015.
Número de participantes: 54
Entrevistas em diversos veículos de comunicação.

3º Workshop do projeto PD 6631-0001/2012.

“Biomarcadores de toxicidade do mercúrio aplicados ao setor hidrelétrico na região Amazônia”.
Local: Instituto de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus - AM, 2016.
Data: 3 e 4/5/2016.
Número de participantes: 37
Entrevistas em diversos veículos de comunicação.

4º Workshop do projeto PD 6631-0001/2012.

“Biomarcadores de toxicidade do mercúrio aplicados ao setor hidrelétrico na região Amazônia”.
Local: Universidade de Brasília - UnB
Data: 8/3/2017.
Número de participantes: 25
Entrevistas em diversos veículos de comunicação.