10 Conclusões e Considerações finais

No presente trabalho foi otimizada uma metodologia analítica simples e de baixo custo para a determinação de metabólitos de HPAs em bÍlis de peixes por fluorescência. Ao utilizar a análise por fluorescência deve-se ter em mente que esta não é uma técnica seletiva e não possibilita a quantificação dos HPAs individuais, sendo portanto, uma técnica semi-quantitativa.

Entretanto, o enfoque principal deste estudo não foi a quantificação dos HPAs e sim desenvolver uma metodologia capaz de detectar a presença ou ausência de contaminação por petróleo no ambiente no qual os indivíduos foram capturados (peixes). Assim, para fins de monitoramento ambiental preliminar, esta técnica é indicada já que não são necessárias etapas de extração e *clean-up*, tornando o processo de análise mais rápido e econômico se comparado a outros processos usualmente utilizado para a análise de HPAs.

Para a análise de metabólitos de HPAs em bÍlis de peixe foram otimizados os principais parâmetros envolvidos na metodologia e na técnica analítica, sendo os resultados obtidos para o limite de detecção ($LD = 0,3785 \mu\text{g L}^{-1}$) e de quantificação ($LQ = 1,504 \mu\text{g L}^{-1}$) indicando uma aplicação favorável ao uso a que se destina.

Após o uso de um planejamento experimental para determinar o melhor sistema solvente para preparação das soluções-padrão e para a diluição das amostras, verificou-se que a proporção etanol/água de 48% foi a condição mais adequada. Cabe ressaltar que esta já vem sendo utilizada por outros autores para a análise de metabólitos de HPAs na bÍlis de peixe.

Deve ser enfatizado que ao utilizar a metodologia proposta deve-se tomar cuidado com a proporção da diluição das amostras devido o efeito de matriz ser significativo. A diluição sugerida neste trabalho é a proporção 1:2000, bÍlis-solvente.

A exatidão do método foi verificada através da adição de analito, onde o valor médio das concentrações determinadas para a adição de analito correspondeu a 86% da concentração esperada.

Pela análise dos resultados obtidos para a Baía de Guanabara e Itaipu conclui-se que o método proposto neste estudo é capaz de diferenciar um local contaminado de um local não contaminado por compostos de petróleo, tanto em casos de contaminação crônica (Baía de Guanabara) quanto em casos de contaminações acidentais (Itaipu, setembro/2005).

Adicionalmente, apesar de não ser o objetivo principal do estudo, pôde-se obter também informações preliminares da origem dos HPAs. Neste trabalho, ao analisarmos as bÍlis dos peixes coletados na Baía de Guanabara, os espectros de fluorescência sincronizada mostraram que existem duas classes de HPAs presentes, com picos nos comprimentos de onda característicos de compostos com 2-3 anéis ($\lambda = 280$ nm) e 4 anéis ($\lambda = 332$ nm). Não foi observado nenhum pico no comprimento de onda característico de HPAs com 5-6 anéis ($\lambda = 380$ nm). Estes resultados seriam um indÍcio de contaminação petrogênica.

Cabe ressaltar ainda a importância dos cuidados tomados no planejamento amostral dos indivíduos capturados, selecionando e monitorando o tamanho dos peixes entre outros dados morfométricos. Se a cadeia de custódia das amostras não é bem estabelecida, principalmente neste tipo de estudo que envolve grande parte de trabalho de campo, o resultado do trabalho pode ser questionado, mesmo que estejam analiticamente corretos. Assim, estudos adicionais e informações sobre a distribuição de frequência do comprimento total dos indivíduos coletados, a proporção sexual dos indivíduos capturados, estágio de maturação, fator de condição, entre outros são extremamente relevantes para aplicações na área ambiental. O histórico e os dados (físico-químicos, geográficos, climatológicos, entre outros) sobre o ambiente onde os indivíduos foram capturados também devem fazer parte do estudo para uma melhor compreensão e discussão dos resultados.

A análise de correlação entre os dados obtidos indicou que são significativas as correlações entre o peso, comprimento padrão e comprimento total, de acordo com o crescimento isométrico dos indivíduos. Houve também correlação positiva entre o peso, comprimento total e comprimento padrão com o volume de bÍlis, indicando que quanto maior o peixe maior a quantidade de bÍlis encontrada para a *Mugil liza*. Isto indica que em programas de monitoramento ambiental devam ser escolhidos para estudo indivíduos maiores, garantindo assim sua maturidade sexual e a fácil retirada do líquido biliar.

Além destas correlações, foram encontradas correlações entre o valor de absorvância em 380 nm, a cor da bÍlis e a concentração de HPAs medida,

mostrando a relação que existe entre a maior densidade da bÍlis e concentrações maiores de HPAs, apesar de já ter sido demonstrado que normalizar as concentrações de HPAs pela concentração de biliverdina, medida por absorção molecular, não melhora a covariância dos resultados.

Um aspecto importante que precisa ser mais estudado para alguma conclusão é verificar se o tipo de pesca influencia o *status* alimentar do peixe, afetando a concentração de HPAs medida.

Para uma melhor compreensão e discussão dos resultados é fundamental a análise de HPAs no ambiente onde o biomonitor foi capturado. As concentrações de HPAs obtidas na água, tanto da Baía de Guanabara quanto em Itaipu, apresentaram a mesma ordem de grandeza dos menores valores reportados anteriormente por outros autores. A idéia inicial era tentar verificar a existência de alguma correlação entre as concentrações de HPAs na bÍlis do peixe com as concentrações no ambiente onde os mesmos foram capturados. Entretanto, esta correlação não pode ser avaliada devido ao baixo número de amostragens de água para esse tipo de conclusão.

É importante ressaltar que esta dissertação é o primeiro trabalho que relata a utilização dos metabólitos de HPAs em bÍlis de peixes como biomarcadores no monitoramento da contaminação por petróleo no Brasil. Este trabalho foi apresentado em dois congressos durante o seu desenvolvimento (SBQ/2005 e ENQA/2005), e atualmente outros grupos vem iniciando pesquisas na mesma linha. Todas essas pesquisas vão contribuir para geração de dados pretéritos que futuramente poderão gerar mais conhecimento dos ecossistemas brasileiros estudados. Salienta-se aqui que o uso da análise de HPAs na bÍlis de peixe já vem sendo usado com sucesso em outros países para o monitoramento ambiental da contaminação por petróleo. Pela primeira vez esta técnica foi usada para o monitoramento de peixes da Baía de Guanabara, RJ.

Existem na literatura estudos que avaliam a quantidade de HPAs presentes no tecido de peixes coletados na Baía de Guanabara. No entanto, este não é considerado um bom biomarcador de HPAs no ambiente aquático devido ao seu rápido metabolismo em vertebrados, apesar de este tipo de estudo ser importante do ponto de vista de saúde pública.

A tainha da espécie *Mugil liza* indicou ter potencial para ser um bom biomonitor para a região da Baía de Guanabara, já que foi facilmente capturada em épocas do ano distintas, pela fácil localização da vesícula biliar e por não haver diferenças significativas entre os valores de HPAs medidos nas diferentes estações do ano, inverno e verão.

Apesar da sua proximidade com o Rio de Janeiro, facilitando a coleta de indivíduos para o monitoramento, Itaipu não foi o local de controle mais adequado, já que o biomonitor escolhido não foi facilmente coletado na estação chuvosa (verão), época de sua reprodução em alto mar. Assim, é necessário buscar um novo local para captura dos peixes usados como controle.

Como conclusão geral, pode-se dizer que diante da crescente ameaça ambiental que a Baía de Guanabara vem enfrentando, este trabalho torna-se altamente interessante e com perspectivas muito promissoras para os protocolos de avaliação ambiental. Haja visto que esta avaliação, baseada na determinação de HPAs em peixes, pode fornecer dados pretéritos para a Baía de Guanabara, nos casos de acidentes futuros, e contribuir para o monitoramento das emissões crônicas por óleo, muitas vezes apresentando um potencial altamente tóxico, oferecendo um grande perigo ao meio ambiente.

Os bons resultados obtidos fazem supor uma grande potencialidade para um uso mais amplo da metodologia otimizada para o biomonitoramento buscando outros possíveis biomonitores, ou seja, testando outras espécies de peixes. Entretanto, é necessário salientar uma limitação: o líquido biliar não pode ser sempre considerado um bioindicador ideal, uma vez que há espécies de peixes que não apresentam facilidade de localização e obtenção da bÍlis.

Por último, vale ressaltar que praticamente inexitem dados sobre a contaminação de HPAs em peixes da espécie *Mugil liza* (tainha) na Baía de Guanabara; além de serem pouco conclusivos, visto que os peixes são transitórios no ambiente sendo, portanto, necessário um número maior de dados para sua caracterização e avaliação.

Considera-se de fundamental importância para as discussões e conclusões dos resultados obtidos a continuidade das pesquisas com trabalho de campo baseado em um amplo planejamento amostral, com registros detalhados e que monitore *in situ* os parâmetros físico-químicos e biológicos georeferenciados.

Finalmente, vale salientar que este trabalho contou com o apoio e a colaboração de vários pesquisadores de áreas distintas o que faz deste um trabalho de caráter interdisciplinar, contribuindo ainda mais para as discussões na área.

Como trabalho futuro será estudada se existe correlação entre as determinações feitas usando-se a fluorescência fixa e a fluorescência sincronizada. Além disso, deverá ser pesquisada nova área de controle onde o

peixe *Mugil liza* esteja presente o ano inteiro e estudar como o ciclo reprodutivo das tainhas pode influenciar os resultados. Deve ser estudada também as possíveis relações entre o tipo de pesca e o *status* alimentar do peixe e a viabilidade do uso de novas espécies de peixes como biomonitores.