

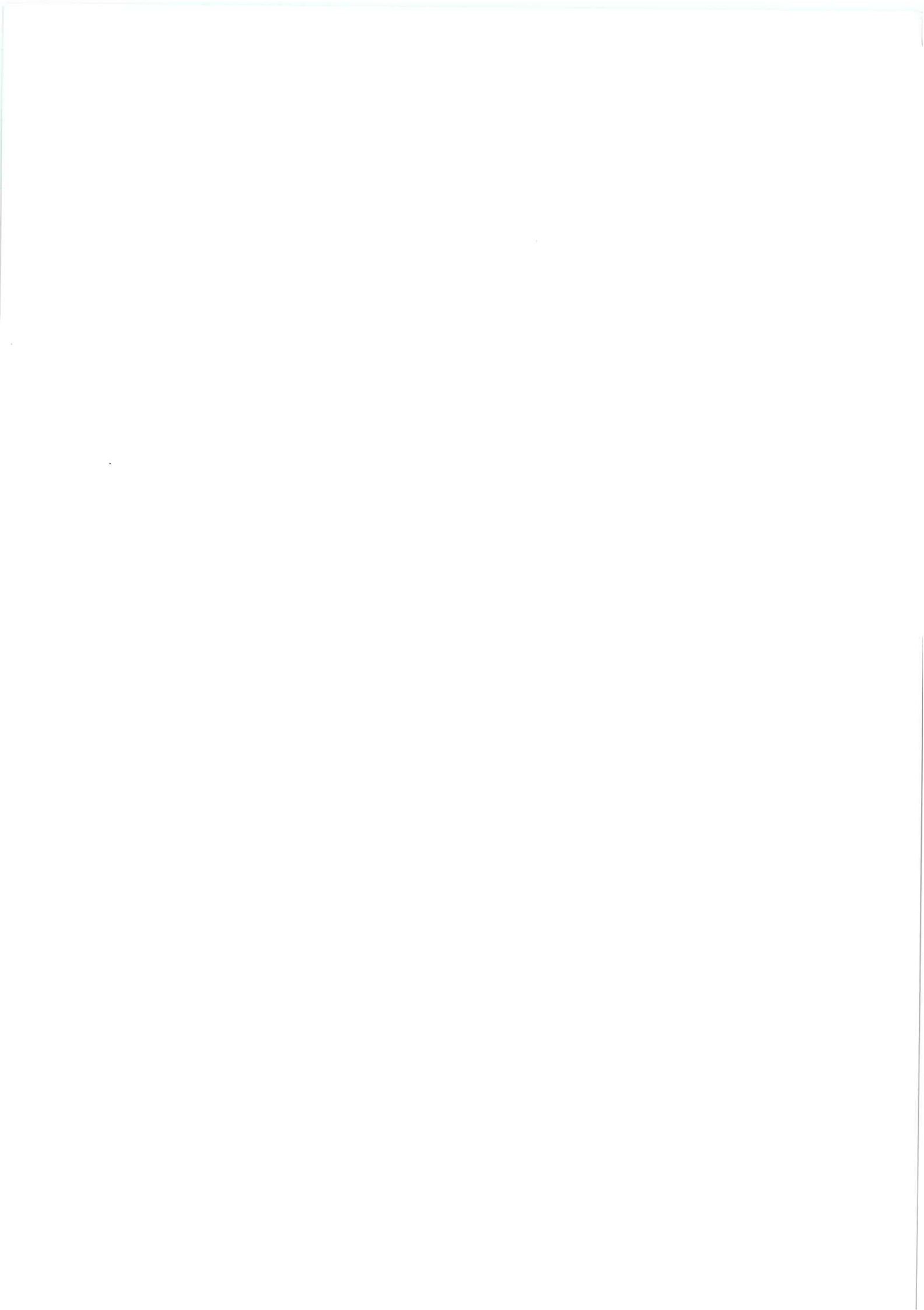


Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
2008

**Sizenando
Nogueira de Abreu**

**Bioacumulação e Dinâmica de Mercúrio em
Ecossistemas lagunares costeiros**

**Mercury Bioaccumulation and Mercury dynamics in
coastal lagunar ecosystems**





Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
2008

**Sizenando
Nogueira de Abreu**

**Bioacumulação e Dinâmica de Mercúrio em
Ecossistemas lagunares costeiros**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Biologia, realizada sob a orientação científica de Doutor Fernando M.R. Morgado, Professor Auxiliar com Agregação, e de Doutor António J.A. Nogueira, Professor Associado com Agregação, do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

o júri

presidente

Doutor **João de Lemos Pinto**, Professor Catedrático do Departamento de Física da Universidade de Aveiro

vogais

Doutora **Lúcia Maria das Candeias Guilhermino**, Professora Catedrática do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto

Doutor **Amadeu Mortágua Velho da Maia Soares**, Professor Catedrático do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Doutor **Rui Godinho Lobo Girão Ribeiro**, Professor Associado com Agregação da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Doutor **António José Arsénia Nogueira**, Professor Associado com Agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro (co-orientador)

Doutor **Fernando Manuel Raposo Morgado**, Professor Auxiliar com Agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro (orientador)

agradecimentos

Desejo expressar o meu agradecimento aos Doutores Fernando Morgado e António Nogueira, supervisores desta dissertação, pela orientação científica, pelo apoio sempre presente e pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro, agradeço o acolhimento e a disponibilidade de meios conducentes à realização de trabalhos de investigação sobre bioacumulação e dinâmica de mercúrio em ecossistemas lagunares costeiros e estuarinos.

A todos os elementos do Grupo de Ecotoxicologia, agradeço o acolhimento, o apoio e o espírito de equipa; assim como a cooperação na realização de trabalhos, as trocas de ideias e de sugestões; e, em particular, o empenho e o entusiasmo contagiantes.

A todos os colegas e amigos, agradeço a cooperação, o companheirismo e as palavras de incentivo.

Finalmente, o agradecimento e a dedicatória à minha família (especialmente aos "miúdos") pelo carinho, amor e incondicional apoio.

palavras-chave

Bioacumulação, ambiente lagunar costeiro e estuarino, mercúrio, dendroquímica, Ria de Aveiro

resumo

O presente trabalho pretende ser uma contribuição para o estudo dos processos de bioacumulação e dinâmica de mercúrio em zonas estuarinas costeiras temperadas. A bioacumulação e a dinâmica de mercúrio foi abordada em termos de padrão de contaminação, estado actual e estimativa de evolução futura, tendo como principal base de estudo a zona lagunar da Ria de Aveiro, referenciada com um historial de contaminação com mercúrio.

A evolução cronológica do padrão de contaminação do ecossistema foi estudada utilizando uma abordagem dendroquímica, que permitiu identificar a espécie *Populus nigra* como um "registador" do mercúrio libertado por um efluente industrial.

A estimativa de acumulação de mercúrio nos sedimentos superficiais, obtidas através da aplicação de um modelo matemático, foram comparadas com os níveis actuais de acumulação de mercúrio para efectuar a validação a longo-prazo do modelo e aferir a evolução da contaminação no ecossistema.

A bioacumulação foi avaliada em peixes predadores *Dicentrarchus labrax* (espécie com registos de bioacumulação desde o período de maior descarga de mercúrio industrial para o ecossistema em estudo) e em peixes demersais *Pomatoschistus microps* pela afinidade com os sedimentos superficiais contaminados. O biota reflecte a contaminação ambiental estabelecendo relações de afinidade com a fracção fina dos sedimentos e incrementando as concentrações de mercúrio com a proximidade à fonte antropogénica.

A conjugação dos resultados obtidos permitiu apresentar as bases de um modelo global do cenário passado, presente e futuro da bioacumulação num ecossistema lagunar costeiro e estuarino, tendo como base de estudo a zona lagunar da Ria de Aveiro.

key-words

Bioaccumulation, coastal and estuarine environments, mercury, dendrochemistry, Ria de Aveiro

abstract

Mercury bioaccumulation and mercury dynamics were mainly study in a historically contaminated estuarine coastal lagoon (Ria de Aveiro). Past and Present mercury inputs to the aquatic ecosystem were studied using a dendrochemistry approach, pointing *Populus nigra* as a "mercury data logger" from an industrial effluent. Future evolution was evaluated applying present mercury accumulation data as long-term validation of a mathematical evaluation.

Past and present bioaccumulation data was also related to environmental contamination using a predator specie *Dicentrarchus labrax* and a demersal fish *Pomatoschistus microps*. Biota submitted to different levels of mercury accumulation in surface sediments enhanced bioaccumulation factors strictly depending on the surface sediments granulometry. Mercury concentration in biota showed relatively high levels of mercury in juvenile fish captured close to the most contaminated area (near mercury discharge) indicating a bioaccumulation process reflecting environmental contamination. Encompassing all data, final conclusions presented the evaluation picture of past, present, and future trends of mercury bioaccumulation and mercury dynamics in an estuarine coastal system: Ria de Aveiro a case study.

Índice

Capítulo I - Introdução Geral	1
1.1. Mercúrio como poluente global	3
1.2. Mercúrio nos ecossistemas aquáticos.....	5
1.2.1. Registo histórico e evolução da contaminação ambiental para o meio aquático.....	5
1.2.2. O ciclo biogeoquímico do mercúrio.....	6
1.2.3. Níveis de mercúrio em ecossistemas aquáticos.....	8
1.2.4. Níveis de risco e legislação relativa a mercúrio no meio aquático.....	9
1.2.4.1. <i>Mercúrio nos sedimentos e na coluna de água</i>	9
1.2.4.2. <i>Mercúrio no biota</i>	11
1.3. Bioacumulação de mercúrio nos ecossistemas aquáticos.....	15
1.3.1. Biodisponibilidade: conceito e estimativa.....	17
1.3.2. Bioacumulação: bioconcentração e bioamplificação	18
1.3.3. Factores de Bioacumulação.....	20
1.4. Locais de estudo.....	23
1.4.1. Ria de Aveiro	23
1.4.1.1. <i>Caracterização e importância económica</i>	23
1.4.1.2. <i>Contaminação ambiental na Ria de Aveiro</i>	27
1.4.2. Estuário do rio Minho	29
1.5. Caracterização do biota	31
1.5.1. <i>Populus nigra</i>	31
1.5.2. Seston	32
1.5.3. <i>Carcinus maenas</i>	33
1.5.4. <i>Pomatoschistus microps</i>	35
1.5.5. <i>Dicentrarchus labrax</i>	37
1.6. Justificação da importância do trabalho realizado e objectivos	38
1.6.1. Justificação do trabalho realizado	38
1.6.2. Objectivos específicos e estratégias utilizadas.....	42

Capítulo II - Metodologias.....	45
2.1. Métodos e técnicas de amostragem	47
2.1.1. Amostragem de cores em <i>Populus nigra</i>	47
2.1.2. Amostragem de sedimentos.....	48
2.1.3. Amostragem de <i>Pomatoschistus microps</i>	49
2.1.4. Amostragem de <i>Dicentrarchus labrax</i>	49
2.2. Trabalho de laboratório: tratamento das amostras e métodos de análise.....	49
2.2.1. Tratamento dos cores de <i>Populus nigra</i>	50
2.2.2. Tratamento dos sedimentos	50
2.2.2.1. Avaliação do teor em humidade.....	50
2.2.2.2. Avaliação do teor em matéria orgânica.....	50
2.2.2.3. Determinação da percentagem da fracção granulométrica inferior a 63µm	51
2.2.3. <i>Pomatoschistus microps</i>	51
2.2.4. <i>Dicentrarchus labrax</i>	51
2.3. Determinação de mercúrio	52
2.3.1. Metodologia	52
2.3.2. Controlo e garantia da qualidade analítica	54
2.3.3. Apresentação dos resultados finais.....	55
Capítulo III - Tree Rings, <i>Populus nigra</i> L., as Mercury Data Logger in Aquatic Environments: Case Study of an Historically Contaminated Environment	57
Abstract	59
Materials and Methods	64
Results and Discussion.....	64
References	69
Capítulo IV - Long term Validation of a model evaluation of Mercury Accumulation in sediments and Recovery time in a coastal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal)	73
Abstract	75
Introduction	76
Results	78
References	80

Capítulo V - Effects of mercury-bond fractions in the assessment of Bioaccumulation Sediment Factors (BASF) in demersal fish.....	83
Abstract	85
Introduction.....	86
Study areas	87
Material and Methods	89
Results and Discussion.....	90
<i>Mercury in sediments</i>	90
<i>Mercury in fish</i>	91
<i>Bioaccumulation sediment factors</i>	94
References	96
Capítulo VI - Dinâmica de mercúrio num ecossistema Lagunar Costeiro e Estuarino.....	99
6.1. Evolução do estado de contaminação do ecossistema.....	101
6.2. Dinâmica de mercúrio no ecossistema	103
6.2.1. A acção da maré e o seston	103
6.2.2. Biota como indicador da contaminação ambiental.....	105
6.2.2.1. <i>Pomatoschistus microps</i>	105
6.2.2.2. <i>Dicentrarchus labrax</i>	107
6.3. Evolução da bioacumulação na Ria de Aveiro.....	109
Capítulo VII - Discussão Geral e Conclusões	111
7.1. Passado histórico.....	113
7.2. Estado actual da bioacumulação	114
7.3. Previsão da evolução do estado de contaminação.....	115
Referências	117

Índice de Figuras

Figura 1.2.2. Esquema simplificado do ciclo biogeoquímico do mercúrio num sistema aquático, com apresentação dos principais processos e vias que influenciam a exposição do biota ao mercúrio (adaptado de Wiener et al., 2003).	7
Figura 1.3.1. Modelo conceptual da biodisponibilidade (adaptado de Dickson et al., 1994).	17
Figura 1.4.1. Ria de Aveiro: localização geográfica e mapa geral.	24
Figura 1.4.2. Representação esquemática da zonation num ecossistema lagunar costeiro.	26
Figura 1.4.3. Estuário do Rio Minho: localização geográfica e mapa geral.	29
Figura 1.4.4. Aspecto geral das duas estações (C1 e C2) consideradas no estuário do Rio Minho.	30
Figura 1.5.1. Caranguejo <i>Carcinus maenas</i> (Linnaeus), em posição frontal e dorsal.	34
Figura 1.5.2. Góbio comum, <i>Pomatoschistus microps</i>	36
Figura 1.5.3. Robalo <i>Dicentrarchus labrax</i> (Linnaeus).	37
Figura 2.1.1. Processo de recolha dos cores no tronco de <i>P. nigra</i> e apresentação do core após a extracção.	47
Figura 2.3.1. Representação esquemática da metodologia utilizada no equipamento Leco, AMA-254, na determinação de mercúrio.	52
Figure 3.1. Study site and trees (tA, tB, and tC) location.	60
Figure 3.2. a) Industrial plant production (tons Cl ₂ year ⁻¹), date of unit implant (A) and moments (B and C) of changes introduced into the industrial plant system to minimize mercury discharges, and (D) last changes to membrane cells technology (January 2002) adapted from Pereira, 1997; OSPAR, 2005. b) Mercury losses through product, wastewater and air by the chlor-alkali industry in Portugal, after the imposed regulations on mercury emissions (adapted from OSPAR, 2005). c) Pattern of mercury discharges obtained from mercury concentrations in surface sediments (adapted from Ramalhosa, 2006).	63
Figure 3.3. Mercury concentration in the annular tree rings sampled from the three trees: tA – directly in front of the effluent discharge, tB – 0.1 km upstream the effluent discharge, and tC – 1.6 km downstream the effluent discharge.	65
Figure 3.4. a) Mercury concentration in the annular tree rings (tA) sampled from the tree directly in front of the effluent discharge comparing to industrial plant capacity and b) mercury concentration in the sediment cores sampled at the end of the channel (~ 4km downstream) that receives the effluent discharge.	67
Figure 4.1. Study area (Ria de Aveiro), enhancing the mercury most contaminated area including Esteiro de Estarreja, the channel that receives the effluent discharge.	76
Figure 4.2. Field and model data of mercury concentration (µg g ⁻¹) in surface sediments along Esteiro de Estarreja, the channel that receives the industrial effluent discharge.	78

Figure 5.1. Study areas: Ria de Aveiro and Minho estuary.....	88
Figure 5.2. Mercury concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$) in surface sediments (<1000 and <63 granulometric fractions), mercury ratios between particle fractions ($[\text{Hg}]_{63\mu\text{m}}/[\text{Hg}]_{1000\mu\text{m}}$), organic matter in <63 μm and <1000 μm fractions (%) and relative abundance of both sediment granulometric fractions (%).	90
Figure 5.3. Length (mm) and body weight (mg) correlation in juvenile <i>P. microps</i>	92
Figure 5.3. Mercury concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$, fresh weight) in epibenthic fish, <i>P. microps</i> , versus body fresh weight (mg).	93
Figure 5.4. Bioaccumulation sediment factors (BASF) in total granulometric fraction (<1000 μm) and fine sediments (<63 μm).	94
Figure 5.5. Average values not logarithmized of Bioaccumulation Sediment Factors (BASF) in coarse sediments (<1000 μm) and fine sediments (<63 μm).	95
Figure 6.1.1. Evolução das concentrações de mercúrio nos sedimentos superficiais ao longo do canal (Esteiro de Estarreja) que recebe o efluente industrial.	102
Figure 6.2.1. Concentrações de mercúrio em sedimentos superficiais finos e no biota, <i>P. microps</i> , pertencentes a um ecossistema identificado com uma contaminação com mercúrio – Ria de Aveiro (estações C. Bico, P.Aveiro e Barra, gradualmente afastadas da área mais contaminada).	106
Figure 6.2.2. Concentração de mercúrio em função do comprimento total do espécime, obtidas em juvenis de <i>D. labrax</i> capturados no Laranjo em Setembro de 2006.	107
Figure 6.2.3. Comparação dos níveis de mercúrio (mínimo, média e máximo) em juvenis de <i>D. labrax</i> capturados no Laranjo em Setembro de 2006 e os resultados publicados anteriormente para juvenis capturados em anos anteriores na mesma estação.	108
Figure 6.3.1. Evolução das concentrações de mercúrio no biota aquático da Ria de Aveiro.	110

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Mercúrio como poluente global

A contaminação com mercúrio a uma escala local, regional ou global tem sido cada vez mais estudada nos últimos anos pelo facto de o mercúrio e os diversos compostos de mercúrio serem persistentes, tóxicos, apresentarem um potencial para bioacumularem e colocarem em risco o homem e os ecossistemas (Kljakovic-Gaspic et al., 2006). O grande alerta para o alto risco da presença de compostos de mercúrio no meio aquático resultou de graves incidentes como o ocorrido em Minamata e Niigata (Japão) nas décadas de 50 e 60, com morte de inúmeras pessoas e nascimento de crianças com deformações, em consequência da ingestão de peixe e crustáceos contaminados com mercúrio proveniente do efluente de uma indústria química (Kudo & Miyahara, 1992; Kudo et al., 1998; Wiener et al., 2003; Ekino et al., 2007). Publicações recentes (Pacyna et al., 2001; Bindler 2003; Horvat et al., 2003; Braune et al., 2005; OJEU 2005; OJEU 2006) têm igualmente relacionado efeitos adversos na saúde pública em locais contaminados com mercúrio. A utilização de mercúrio remonta a períodos pré-históricos e recentemente ainda era utilizado na indústria e na agricultura. Nas últimas décadas tem sido intensificada uma legislação “Hg zero” visando a abolição ou uma significativa redução na procura e utilização dos compostos de mercúrio (Fitzgerald et al., 2007).

O mercúrio (Hg) é um metal líquido à temperatura e pressão ambiente, podendo também apresentar-se na forma de sais iónicos Hg(I) e Hg(II) que são solúveis em água tornando-se biodisponíveis e tóxicos (Boening, 2000; Ullrich et al., 2001). O mercúrio elementar (Hg(0)) é pouco solúvel em água mas vaporiza-se facilmente na atmosfera contribuindo para uma grande facilidade de dispersão (Ullrich et al., 2001). Uma das formas mais comuns, o sulfeto de mercúrio (cinábrio), é insolúvel e não é tóxica (Boening, 2000).

Ao longo de uma cadeia trófica, o aumento da concentração de mercúrio total é acompanhado também por um aumento relativo da fracção de mercúrio que se apresenta na forma de mercúrio orgânico, em particular metilmercúrio (Bloom, 1992; Wiener & Spry, 1996; Olsson et al., 1998). Os compostos orgânicos de mercúrio são a fracção mais tóxica

dos compostos de mercúrio (Ullrich et al., 2001); Hutchison & Atwood, 2003; Fitzgerald et al., 2007). Doses pouco elevadas podem ser nocivas para o homem com repercussões adversas graves e relacionados com desenvolvimento neurológico e possíveis efeitos ao nível dos sistemas cardiovascular, imunitário e reprodutivo, podendo ocorrer fatalidades (Comissão das Comunidades Europeias, 2005). No topo das cadeias tróficas, como por exemplo nos peixes, o metilmercúrio pode representar quase 100 % do mercúrio total (Bloom, 1992; Wiener & Spry, 1996).

O ciclo biogeoquímico do mercúrio envolve quatro compartimentos fortemente ligados entre si: o atmosférico, o terrestre, o aquático e o biótico (Wiener et al., 2003). Na atmosfera predomina (> 95%) o mercúrio elementar (Hg^0) mas é a forma $Hg(II)$ que é maioritariamente responsável pelos fluxos para os compartimentos terrestre e aquático (Wiener et al., 2003). No compartimento terrestre, $Hg(II)$ passa a ser a forma dominante e encontra-se associada à matéria orgânica dos solos (Wiener et al., 2003). A nível global, a dispersão atmosférica é a principal via de transporte enquanto que a nível local depende do tipo de fonte de mercúrio (natural ou antropogénica) e dos subsequentes processos de transporte e metilação (Boening, 2000).

O mercúrio pode ser libertado por fontes naturais, como erupções vulcânicas ou afloramento de águas juvenis. No entanto, a nível global também ocorrem concentrações elevadas de mercúrio em vários continentes devido à actividade humana, nomeadamente na extracção de ouro (América do Sul, África e Ásia), exploração mineira de mercúrio (Europa e América do Sul) e processos industriais, em particular na produção de cloro e soda cáustica (Europa, Ásia e América do Norte). Estima-se que as emissões antropogénicas tenham contribuído com cerca de dois terços do mercúrio actualmente envolvido no ciclo global, elevando para valores quatro a cinco vezes os níveis base das concentrações de mercúrio (Wihlborg & Danielson 2006).

O mercúrio proveniente da indústria do cloro e da soda cáustica representou uma grande porção dessas emissões contaminando preferencialmente zonas costeiras. Actualmente, com a reconversão dessa metodologia que utilizava células de mercúrio nessa indústria, urge analisar o destino a cerca de 12 – 15 milhares de toneladas de mercúrio excedente resultantes dessa reconversão (Comissão das Comunidades Europeias, 2005).

1.2. Mercúrio nos ecossistemas aquáticos

1.2.1. Registo histórico e evolução da contaminação ambiental para o meio aquático

A utilização industrial do mercúrio de uma forma intensiva e continuada, conjuntamente com a aplicação de compostos orgânicos de mercúrio na agricultura contribuíram para uma contaminação elevada dos ecossistemas aquáticos, incluindo sedimentos superficiais (Ullrich et al., 2001). As bacias de sedimentação e as margens intertidais actuam simultaneamente como receptáculos e fonte do elemento poluente, de forma alternada ou em paralelo. A contaminação de mercúrio para um meio aquático depende da fonte emissora e das vias de transporte e distribuição. Enquanto que a uma escala global, a circulação atmosférica é a principal responsável pela dispersão de mercúrio elementar na forma de vapor; a nível local depende essencialmente do padrão de descarga das fontes contaminantes (natural ou antropogénica) (Boening, 2000).

O conhecimento do padrão histórico dos níveis de contaminação de mercúrio para um meio aquático, proporcionam uma melhor compreensão das circunstâncias e dos níveis de contaminação históricos e bioacumulação presentes, permitindo avaliar e perspectivar a evolução futura, contribuindo para o estudo da complexa química do mercúrio nos ecossistemas naturais. A recolha de registos cronológicos sobre a deposição de mercúrio é considerada muito importante na compreensão da dimensão global do ciclo deste metal, e reconhecido como essencial para o estudo das condições que antecederam a utilização do mercúrio em larga escala (Bindler, 2003). Para esse efeito têm sido realizado estudos envolvendo matrizes consideradas arquivos naturais como turfas, gelo glacial e sedimentos (Bindler, 2003). No meio aquático, uma planta *Posidonia oceanica* já foi utilizada como marcador histórico de contaminação com mercúrio (Lafabrie et al., 2007), apresentando um padrão significativo em locais de elevado impacto (Rosignano, Itália).

A utilização de cores em trocos de árvore como matriz para determinação do registo de padrões de contaminação já foi utilizada por diversos autores (Watmough, 1997; Orlandi et al., 2002; Witte et al., 2004), ainda que alguns estudos sugiram que as árvores funcionam melhor como indicadores de uma distribuição espacial da contaminação e não como monitores históricos (Watmough, 1997; Nabais et al., 1999).

Neste estudo é efectuada uma reconstituição do padrão histórico da contaminação com mercúrio no meio aquático estuarino, através do registo dos níveis de descarga em anéis de crescimento em espécimes de *Populus nigra*.

Por sua vez, a modelação tem sido utilizada como instrumento de avaliação do nível de contaminação de um ecossistema e da estimativa de evolução desse processo (Abreu et al., 1998). Neste estudo é reavaliada a evolução dos inputs de mercúrio e o período de recuperação do ecossistema, comparando as projecções do modelo para 2005 e 2010 sobre a distribuição de mercúrio ao longo do canal que recebe o efluente industrial (Abreu et al., 1998) com os valores actuais da contaminação com mercúrio nos sedimentos superficiais desse canal.

1.2.2. O ciclo biogeoquímico do mercúrio

No compartimento aquático, o mercúrio pode encontrar-se nos sedimentos, na coluna de água e no biota. Nos sedimentos predomina a forma Hg(II) (associada a matéria orgânica, à semelhança do observado nos solos, e aos sulfuretos), na coluna de água predomina a forma Hg(II)-pares ligandos e no biota encontramos principalmente as formas de metilmercúrio (Wiener et al., 2003). Os peixes piscívoros do topo das cadeias alimentares podem apresentar teores em metilmercúrio próximo de 100% (Bloom, 1992; Wiener & Spry, 1996). Algumas aves marinhas piscívoras podem apresentar mercúrio inorgânico nos tecidos mas essa presença pode ser interpretada como uma capacidade de desmetilação do metilmercúrio incorporado (para formas menos tóxicas) e não uma capacidade de incorporação de mercúrio inorgânico (Wiener et al., 2003).

A fracção de metilmercúrio é geralmente superior nos ambientes de água doce comparativamente aos ecossistemas estuarinos ou marinhos. Esta diferença pode ser devida a uma inibição dos processos de metilação pela presença de sulfitos nas águas intersticiais dos ecossistemas estuarinos e pela menor presença de matéria orgânica dissolvida nos ecossistemas marinhos (Wiener et al., 2003).

A Figura 1.2.2 apresenta um esquema simplificado do ciclo biogeoquímico do mercúrio num sistema aquático. A metilação é o principal processo que conduz à (bio)acumulação e transferência de metilmercúrio nas cadeias tróficas, podendo (bio)amplificar pela passagem para níveis tróficos sucessivamente superiores (Wiener et al., 2003).

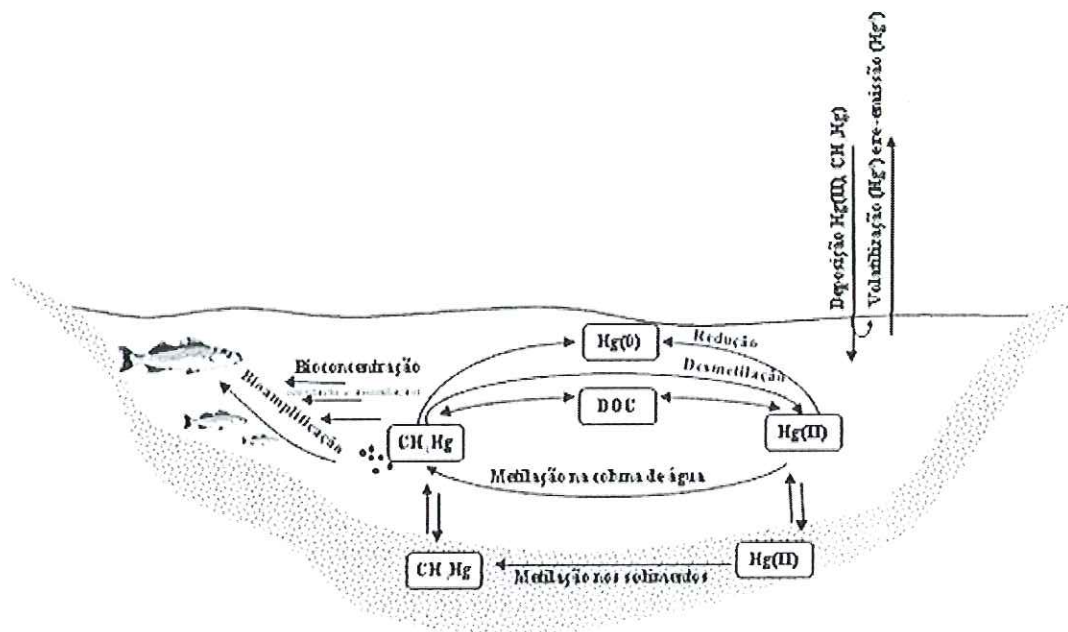


Figura 1.2.2. Esquema simplificado do ciclo biogeoquímico do mercúrio num sistema aquático, com apresentação dos principais processos e vias que influenciam a exposição do biota ao mercúrio (adaptado de Wiener et al., 2003).

1.2.3. Níveis de mercúrio em ecossistemas aquáticos

A crosta terrestre apresenta uma concentração média de mercúrio próximo de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ (ou mesmo inferior) (Steinnes, 1995). Por este motivo, as concentrações de mercúrio no ambiente são geralmente muito reduzidas, na ordem dos picogramas ou nanogramas por litro. Todavia, nas proximidades de fontes antropogénicas (por exemplo, produção de soda cáustica ou minas) ou ainda de condições geológicas específicas raras (por exemplo, formações com sulfuretos de mercúrio), as concentrações de mercúrio podem atingir valores elevados, na ordem das microgramas por grama (Wiener et al., 2003). Enquanto que as águas dos aquíferos apresentam geralmente valores entre $0,5$ e 15 ng L^{-1} (Johannesson, 2002), as águas de escorrência de minas de ouro podem apresentar concentrações de mercúrio total excedendo 100 ou mesmo 1000 ng L^{-1} (Wiener et al., 2003). Estas concentrações elevadas de mercúrio no ambiente podem colocar em risco todo um ecossistema e causar danos às populações devido à toxicidade elevada do mercúrio, à sua biodisponibilidade e à capacidade de bioamplificação.

Tabela I.2.1. Níveis de mercúrio na coluna de água em ecossistemas aquáticos. As concentrações são expressas em termos de massa de mercúrio (ng) por volume de água (L) (Wiener et al., 2003).

Espécie de Hg	Concentração ng L^{-1}	Ambiente aquático
Mercúrio total		
ausência de fontes poluidoras	0,3 - 8	lagos e ribeiras
presença de poluição industrial ou minas	10 - 40	-
zonas específicas (ex. minas de ouro)	100 - 1000	-
Metilmercúrio		
ausência de fontes poluidoras	0,04 - 0,8	águas oxigenadas
presença de poluição industrial ou minas	1 - 2	-
zonas específicas (ex. minas de ouro)	5 (ou mais)	águas anóxicas
Dimetilmercúrio	0,014	marinho (Atlântico Norte)

A Tabela I.2.1 apresenta alguns níveis de mercúrio, característicos da coluna de água de ambientes aquáticos não contaminados e de ambientes na proximidade de fontes poluidoras (Wiener et al., 2003). As concentrações das formas inorgânicas são muito superiores, ainda que, em alguns casos, as formas orgânicas possam representar entre 20 a 40 % do mercúrio total (Johannesson, 2002).

Os sedimentos não contaminados apresentam concentrações de mercúrio com cerca de $0,05 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco) (Johannesson, 2002), enquanto que os sedimentos contaminados apresentam valores geralmente entre 1 e $20 \mu\text{g g}^{-1}$, um sedimento «normal» apresenta concentrações entre $0,2$ e $0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ (Johannesson, 2002). A ressuspensão de sedimentos contaminados contribui fortemente para um incremento de mercúrio na coluna de água (Faganeli et al., 2003). No continente europeu, os sedimentos apresentam concentrações de mercúrio geralmente entre $0,01$ e $1,2 \mu\text{g g}^{-1}$ com níveis de base normalmente inferiores a $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ (EEA, 1998).

No biota, os peixes de água doce podem apresentar concentrações de mercúrio entre $0,2$ e $7 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso fresco), enquanto que os peixes marinhos apresentam concentrações desde $0,01$ até $7 \mu\text{g g}^{-1}$ (Johannesson, 2002). Os peixes não predadores geralmente não ultrapassam os $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$ enquanto que os peixes predadores como os tunídeos e os peixe espada podem registar valores entre 3 e $7 \mu\text{g g}^{-1}$ (Johannesson, 2002). Em locais não contaminados, as concentrações de mercúrio em mexilhões situa-se entre $0,03$ a $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso fresco) mas podem ser encontrados valores entre $0,007$ a $0,9 \mu\text{g g}^{-1}$ (EEA, 1998).

1.2.4. Níveis de risco e legislação relativa a mercúrio no meio aquático

1.2.4.1. Mercúrio nos sedimentos e na coluna de água

A contaminação de mercúrio nos sedimentos pode ser classificada por classes de acordo com a Tabela I.2.2. que resume a legislação publicada no Diário da República Portuguesa, II série nº 141 de 21 de Junho de 1995, pontos 4 e 5 do artigo 6º referente à classificação de materiais dragados de acordo com o grau de contaminação em mercúrio (mg kg^{-1}).

Tabela I.2.2. Classificação de materiais dragados de acordo com o grau de contaminação em mercúrio (mg kg^{-1})

	[Hg] (mg kg^{-1})	Caracterização
Classe 1	< 0,5	Sedimento não contaminando
Classe 2	0,5 – 1,5	Sedimento com contaminação vestigiária
Classe 3	1,5 – 3,0	Sedimento ligeiramente contaminado
Classe 4	3,0 – 10	Sedimento contaminado
Classe 5	> 10	Sedimento muito contaminado

Os sedimentos da classe 1 podem ser utilizados sem normas restritivas, nomeadamente na alimentação de praias, enquanto que os sedimentos das classes 2, 3 e 4 apresentam um sucessivo incremento de normas restritivas à respectiva dragagem e utilização. Os sedimentos da classe 5, com concentrações superiores a 10 mg kg^{-1} , não devem ser dragados; em caso imperativo, deverão ser tratados como resíduos industriais, sendo proibida a sua deposição em terra.

A Directiva 2000/60/EC, publicada a 23 de Outubro de 2000, estabelece a política da Comunidade Europeia em relação à Água e indica as Directivas 82/176/CEE (publicada a 1982-03-27) e 84/156/CEE (publicada a 1984-03-17) em termos de legislação sobre as descargas de mercúrio no meio aquático. A Directiva 82/176/CEE foi transposta para a legislação portuguesa pelo Decreto-Lei nº 236/98 e Portaria nº1033/93, enquanto que a Directiva 84/156/CEE foi transposta pelo Decreto-Lei nº236/98.

A Directiva 98/83/EC estabelece como limite máximo admissível de mercúrio na coluna de água o valor de $0,001 \text{ mg L}^{-1}$; este valor máximo engloba a totalidade de mercúrio dissolvido e mercúrio particulado presente na coluna de água. A ocorrência de valores superiores a $0,001 \text{ mg L}^{-1}$ implica a existência de risco para o ecossistema. O Decreto-Lei nº236/98 transpõe para a legislação portuguesa várias directivas comunitárias e refere para a qualidade das águas doces superficiais destinadas à produção de água para consumo humano $0,0005 \text{ mg L}^{-1}$ como valor máximo recomendável (VMR) e $0,001 \text{ mg L}^{-1}$ de Hg como valor máximo aceitável (VMA). Posteriormente, os Decretos-Lei 52/99 e

431/99 estabelecem os limites de mercúrio presente nas descargas dos efluentes industriais indicando o valor de $0,05\text{mg L}^{-1}$ para o mercúrio descarregado para os ecossistemas aquáticos, indicando como “objectivos de qualidade” para as águas superficiais, os valores de 1,0; 0,5 e $0,3\mu\text{g L}^{-1}$; respectivamente, águas interiores (afectadas por descargas), águas estuarinas e águas costeiras.

O Decreto-Lei 243/2001, referente à qualidade da água para o consumo humano, considera o mercúrio como um dos parâmetros químicos a analisar e volta a indicar como limite o valor de $1,0\mu\text{g L}^{-1}$ para a água fornecida por “sistemas de abastecimento público, redes de distribuição, camiões ou navio-cisterna, ou utilizada numa empresa da indústria alimentar ou posta à venda em garrafas ou outros recipientes”. A portaria 1215/2003, atendendo ao carácter conservativo do mercúrio, isenta a análise deste parâmetro “sempre que uma entidade gestora em baixa distribua exclusivamente água adquirida a outra entidade gestora, numa dada zona de abastecimento, tendo esta efectuado o controlo analítico nos termos dos artigos anteriores”.

A nível comunitário, a Decisão 2455/2001/EC, publicada a 20 de Novembro de 2001 em correcção à Directiva 2000/60/EC, classifica o mercúrio e respectivos compostos como substâncias perigosas prioritárias (EU number 231-106-7). Esta decisão realça a importância do estudo do mercúrio nos ecossistemas aquáticos e da importância da quantificação da sua presença no ambiente e nos organismos.

Em 2005, a Comissão Europeia “analisa em pormenor a problemática do mercúrio e as respectivas opções políticas” indicando como um dos objectivos-chave “reduzir os níveis de mercúrio no ambiente e a exposição humana, especialmente ao metilmercúrio em peixes” (Comissão das Comunidades Europeias, 2005).

1.2.4.2. Mercúrio no biota

O mercúrio pode atingir valores elevados num organismo mas não lhe são atribuídas quaisquer funções em processos metabólicos (Wiener & Spry, 1996). A acção do mercúrio no organismo pode ser fortemente tóxica (Langford & Ferner, 1999) podendo provocar efeitos nocivos na saúde pública. A dose máxima semanal de mercúrio total considerada tolerável por um ser humano é de $0,005\text{ mg Kg}^{-1}$ da massa corpórea, enquanto

que para o metilmercúrio essa dose é de $0,0033 \text{ mg kg}^{-1}$ (WHO, 1996). Para uma pessoa mediana (cerca de 60 kg) a ingestão semanal tolerável seria de 300 μg de mercúrio total, desde que não ultrapassasse os 200 μg de metilmercúrio. O risco é particularmente elevado na ingestão de peixe contaminado onde a quase totalidade de mercúrio se apresenta na forma orgânica (Bloom, 1992). No tracto gastrointestinal, enquanto que as formas inorgânicas apresentam uma reduzida percentagem de absorção (10-30%) alojando-se preferencialmente nos rins (com impactos nefastos ao nível renal) mas também no fígado; as formas orgânicas apresentam percentagens de absorção superiores a 80% com distribuição por todos os órgãos, embora também ocorram as contaminações mais elevadas ao nível dos rins (EFSA, 2008). Os excrementos são uma das vias preferencias de eliminação do metilmercúrio (EFSA, 2008).

A legislação comunitária, regulamento (EC) 221/2002, estabelece na generalidade como limite máximo de mercúrio total nas partes comestíveis o valor de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso fresco); enquanto que para as espécies “alvo de classificação especial” (alínea c) do anexo ao Regulamento (EC) 221/2002), o valor limite é de $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$. Um consumo semanal de 200 g de peixe com uma concentração de mercúrio (essencialmente metilmercúrio) de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ resultaria numa ingestão de 100 μg de mercúrio ou seja metade da dose semanal tolerável; no entanto, a ingestão de 200g de um peixe com $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ representaria já uma ingestão de 200 μg de mercúrio, valor que corresponderia à ingestão semanal de metilmercúrio tolerável para uma pessoa mediana mas que seria aceitável se o peixe pertencesse a uma espécie abrangida pelo citado anexo. A legislação, permitindo o consumo de peixe com concentrações de mercúrio até $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ para as citadas espécies, deveria contemplar limitações mais restritivas em relação à quantidade de peixe consumível pertencente a esses grupos taxonómicos, de forma a minimizar riscos de contaminação para a saúde pública. Alguns grupos populacionais (com elevado consumo de peixe) podem apresentar concentrações de metilmercúrio no sangue com cerca de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ (correspondente a $50 \mu\text{g g}^{-1}$ no cabelo) que está associado a 5% de risco a nível neurológico (WHO, 1990). No caso de uma mulher grávida, o risco é mais elevado para o feto, com 5% de risco neurológico para o feto quando a mãe apresenta níveis de mercúrio de 10 – 20 $\mu\text{g g}^{-1}$ no cabelo, e risco superior a 30% quando os níveis de mercúrio no cabelo são superiores a $70 \mu\text{g g}^{-1}$ (WHO, 1990).

Os Decretos-Lei 52/99 e 431/99 estabelecem, como “objectivos de qualidade”, os níveis de $0,3\mu\text{g g}^{-1}$ de Hg na carne de peixe (peso fresco). Na última década, a legislação que estabelece os limites de mercúrio nos alimentos sofreu alguma reformulação com uma série de publicações, com sucessivas correcções e revogações, com inclusão e retirada de algumas espécies de peixes “alvo de classificação especial” (secção 3 do Anexo I do Regulamento (EC) 466/2001). A Tabela I.2.3. apresenta a lista das sucessivas publicações referentes aos limites de Hg nos produtos alimentares. No caso das espécies que deixaram de estar incluídas na alínea c) do anexo ao Regulamento (EC) 221/2002, o limite máximo aceitável de mercúrio diminuiu de $1,0\mu\text{g g}^{-1}$ para $0,5\mu\text{g g}^{-1}$ (peso fresco).

Tabela I.2.3. Lista de legislação publicada na última década referente aos limites máximos de mercúrio nos produtos alimentares.

Legislação	Data	Observações
Directiva 93/351/EEC	1993-02-08	Estabelecimento dos métodos de análise, amostragem e limites máximos de contaminantes nos alimentos
Regulamento (EC) 194/97	1997-02-01	Estabelecimento dos métodos de análise, amostragem e limites máximos de contaminantes nos alimentos
Regulamento (EC) 466/2001	2001-03-16	Estabelecimento dos níveis máximos de determinados contaminantes em alimentos.
Directiva 2001/182/EC	2001-03-16	Revogação da Directiva 93/351/EEC, salientando que os limites máximos, para as concentrações de mercúrio nos produtos da pesca com destino ao consumo humano, tinham sido incluídos no regulamento 466/2001
Directiva 2001/22/EC	2001-03-08	Estabelecimento dos métodos de amostragem e dos métodos de análise oficiais para controlo dos níveis de chumbo, cádmio, mercúrio e 3-MCPD nos alimentos.
DL 269/2002 (Leg. Nacional)	2002-11-27	
Corrigendum ao Regulamento (EC) 466/2001	2001-11-30	Publicação L313/60
Corrigendum à Directiva 2001/351/EC	2001-11-30	Publicação L313/60
Regulamento (EC) 2375/2001	2001-12-06	Correcção ao Regulamento (EC) 466/2001 - estabelecimento dos níveis máximos de determinados contaminantes em alimentos
Corrigendum à Directiva 2001/182/EC	2001-02-06	Publicação L321/40
Directiva 2001/873/EC	2001-12-08	Anula corrigendum à Directiva 2001/351/EC.
		Correcção à Directiva 2001/22/EC (Estabelecimento dos métodos de amostragem e dos métodos de análise oficiais para controlo dos níveis de chumbo, cádmio, mercúrio e 3-MCPD nos alimentos).
Regulamento (EC) 221/2002	2002-02-07	Emenda ao Regulamento (EC) 466/2001 - estabelecimento dos níveis máximos de determinados contaminantes em alimentos
Directiva 2002/32/CE	2002-05-07	Relativa às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais
Directiva 2005/8/CE	2005-01-27	Altera o anexo I da Directiva 2002/32/CE

Na alínea c) do anexo ao Regulamento (EC) 221/2002 "Correcção ao ponto 3.3.1.1, secção 3 do Anexo I do Regulamento (EC) 466/2001", com um limite máximo de mercúrio de $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$, são indicadas as seguintes espécies: *Lophius* spp. (tamboril); *Anarhichas lupus* (peixe-lobo riscado); *Dicentrarchus labrax* (robalo); *Molva dipterygia* (maruca azul); *Sarda sarda* (bonito); *Anguilla* spp. (enguias); *Hoplostethus atlanticus* (ronquinhas ou olho-de-boi laranja); *Coryphaenoides rupestris* (lagartixa da rocha); *Hippoglossus hippoglossus* (halabote-do-atlântico); *Makaira* spp. (espadins); *Esox lucius* (lúcio); *Orcynopsis unicolor* (palmeta); *Centroscymnus coelolepis* (carocho); *Raja* spp. (raias); *Sebastes marinus*, *S. mentella* e *S. viviparus* (peixe-vermelho); *Istiophorus platypterus* (veleiro-do-Atlântico); *Lepidopus caudatus* (peixe espada branco); *Aphanopus carbo* (peixe espada preto); *Lepidocybium flavobrunneum*, *Ruvettus pretiosus* e *Gempylus serpens* (escolares); *Acipenser* spp. (esturjão); *Xiphias gladius* (espadarte); *Thunus* spp., *Euthynnus* spp. (atuns); e todas as espécies de tubarões.

Em comparação com a Directiva 93/351/EEC regista-se a inclusão das espécies *S. viviparus*, *Lepidocybium flavobrunneum*, *Ruvettus pretiosus*, *Gempylus serpens*, *Hoplostethus atlanticus* e *Coryphaenoides rupestris*; e a exclusão das espécies do género *Sarda* com a excepção da espécie *Sarda sarda*.

1.3. Bioacumulação de mercúrio nos ecossistemas aquáticos

A bioacumulação de mercúrio implica um aumento da concentração deste contaminante num organismo (Connell, 1991; Jackson, 1998) e o processo inicia-se com a captação por contacto directo, pela respiração (principalmente via brânquias) ou por assimilação (via ingestão) e subsequente retenção num tecido ou num órgão (Fisher & Reinfelder, 1995; Langstone & Spence, 1995; Mason et al., 1996). Desta forma, os organismos aquáticos podem obter o mercúrio via alimento, água ou sedimento e bioacumular este composto no seu organismo de uma forma progressiva. A bioacumulação de mercúrio ocorre quando os processos de incorporação são mais eficazes que os processos de metabolização e excreção (Huckabee et al., 1979; Nigro et al., 2002). A bioacumulação de mercúrio (orgânico e inorgânico) em organismos bentónicos, e subsequente transferência trófica para os organismos pelágicos, proporciona um mecanismo de transferência dos contaminantes nos sedimentos para as cadeias alimentares dos sistemas aquáticos (Becher & Bighan, 1995; Lawrence & Mason, 2001). As descargas continuadas de mercúrio, a intervenção humana (ex. dragagens) e a ressuspensão de sedimentos contaminados promovem o contacto dos organismos com este metal, favorecendo e incrementando a entrada de mercúrio na cadeia trófica (Sager, 2002).

As concentrações de mercúrio e a percentagem de mercúrio orgânico tende a aumentar com o nível trófico e com a longevidade do organismo (Connell, 1991). O metilmercúrio atravessa as membranas celulares e o seu longo período de permanência no organismo resulta em elevadas concentrações de mercúrio nos níveis tróficos mais elevados (Baldi, 1997; Meili, 1997; Boudou & Ribeyre, 1997). No topo da cadeia alimentar, os peixes apresentam entre 95-99% de metilmercúrio, devido a uma reduzida taxa de eliminação comparativamente à taxa de entrada deste composto no organismo (Bloom, 1992; Wiener & Spry, 1996). O aumento da fracção orgânica parece ocorrer pelo facto de se observar

primeiro uma maior estabilidade do mercúrio inorgânico, enquanto que o mercúrio orgânico continua a incrementar com o crescimento do espécime e com a posição (nível trófico) que o mesmo ocupa na cadeia alimentar (Connell, 1991).

As concentrações de mercúrio nos tecidos são frequentemente correlacionadas positivamente com o tamanho, peso e/ou idade do organismo, principalmente quando ocorre uma reduzida velocidade de eliminação (Post et al., 1996; Boudou & Ribeyre, 1997; Joiris et al., 1999). A razão entre os valores das concentrações no fígado e no músculo pode indicar o historial do espécime em termos de contaminação: razões inferiores à unidade reflectem uma contaminação crónica enquanto que uma contaminação recente é evidenciada por uma razão superior à unidade (Riisgard & Hansen, 1990; Goldstein et al., 1996).

A bioacumulação em sentido restrito, refere-se ao resultado da captação (“*uptake*”) biológica e não ao processo de captação (Meili, 1997). No entanto, e em sentido lato, a bioacumulação deve ser entendida como sendo o processo de incorporação e distribuição do contaminante ao nível histológico e celular. A bioacumulação pode mesmo ocorrer associada a uma diminuição (com o tempo) das concentrações de mercúrio num organismo quando este apresenta uma taxa de crescimento superior ao valor da taxa de incorporação dessa substância e, neste caso, é descrita por diluição com o crescimento (Meili, 1997).

Nos sistemas aquáticos, a metilação de mercúrio é maior do que nos sistemas terrestres (Wiener et al., 2003) tendo a subsequente exposição do biota ao metilmercúrio uma maior expressão na bioacumulação, fortemente influenciado pelo balanço entre os processos que promovem a metilação de mercúrio, e o tornam disponível para os organismos aquáticos, e os processos que degradam as formas metiladas, diminuindo a respectiva biodisponibilidade ambiental e conseqüente incorporação (Wiener et al., 2003).

1.3.1. Biodisponibilidade: conceito e estimativa

Embora o conceito de biodisponibilidade ainda não reúna um consenso geral, o modelo conceptual de biodisponibilidade (Dickson et al., 1994), apresentado na Figura 1.3.1., pressupõe a existência de três componentes: i) disponibilidade ambiental, que representa a porção do material total que participa no processo; ii) biodisponibilidade ambiental, como sendo um caso especial da disponibilidade ambiental em que envolve organismos como alvo e não como parte do processo; e iii) biodisponibilidade toxicológica/farmacológica, como sendo a porção de uma dose que efectivamente alcança o alvo pretendido num organismo (Dickson et al., 1994).

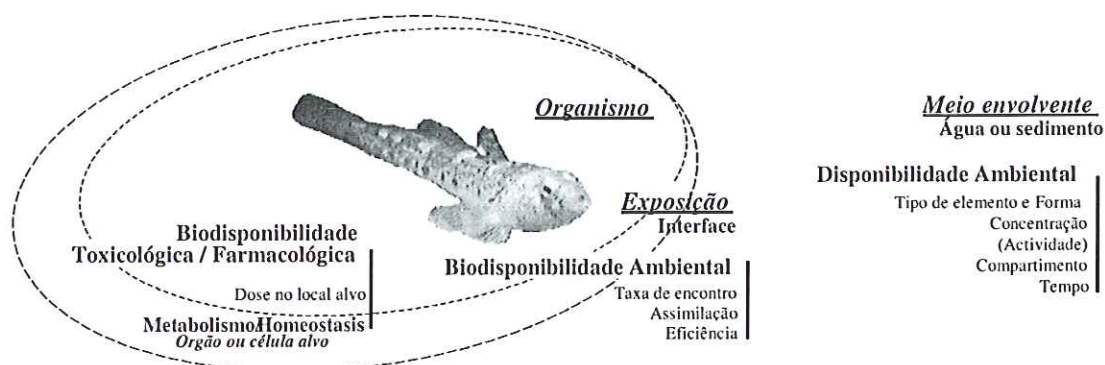


Figura 1.3.1. Modelo conceptual da biodisponibilidade (adaptado de Dickson et al., 1994).

Deste modo, um composto pode apresentar uma elevada disponibilidade ambiental mas apenas uma fracção desse composto ser passível de ser assimilado pelos organismos, dependendo da “ocasião” (taxa de encontro) e da eficiência do processo de assimilação – biodisponibilidade ambiental – e, após metabolização, registar um determinado nível no organismo, podendo provocar efeitos nocivos – biodisponibilidade toxicológica. Assim sendo, a *biodisponibilidade* expressa pelo conceito de biodisponibilidade toxicológica apresenta-se como a biodisponibilidade “efectiva”, ou seja aquela que pode originar um processo de bioacumulação. A medida mais adequada da biodisponibilidade de mercúrio

em qualquer sistema consiste na análise das concentrações de mercúrio no biota de um local específico (Beckvar et al., 1996; Chapman et al., 1998) que indicam a quantidade de mercúrio “biodisponibilizado” e “bioacumulado” por unidade de massa de tecido ou organismo em análise.

No âmbito deste trabalho foram consideradas as concentrações de mercúrio nos tecidos, para avaliação da bioacumulação de mercúrio, cujo processo resulta da acumulação activa (do metal no organismo) de uma fracção do mercúrio biodisponível no ambiente. Deste modo, as maiores concentrações de mercúrio nos tecidos correspondem a uma maior quantidade de mercúrio biodisponibilizado (para o organismo) e não necessariamente a uma maior taxa de biodisponibilidade do metal.

1.3.2. Bioacumulação: bioconcentração e bioamplificação

A bioacumulação pode ser resultante: i) apenas do contacto directo com o contaminante no meio envolvente, ou ii) de uma exposição directa (contacto com o meio envolvente), acrescida de uma exposição indirecta via dieta alimentar. Quando a bioacumulação é avaliada apenas em função da exposição directa ao meio envolvente, o processo designa-se por bioconcentração (Becker & Bigham, 1995; Watras et al., 1996; Chapman, 1997). Se as substâncias bioacumuladas apresentarem uma tendência para aumentar de concentração ao longo de uma cadeia trófica, originando um aumento das concentrações de mercúrio nos níveis tróficos superiores, o processo designa-se por bioamplificação (Watras & Bloom, 1992; Cabana et al., 1993; Fisher & Reinfelder, 1995; Watras et al., 1998; Bowles et al., 2001). Desta forma, a bioamplificação é um processo que resulta da bioacumulação de uma substância em concentrações mais elevadas comparativamente aos valores de concentração dessa substância no alimento ingerido (Watras & Bloom, 1992; Chapman, 1997). Segundo Chapman (1997) é necessário observar-se essa tendência por dois ou mais níveis de uma cadeia trófica para que ocorra bioamplificação.

O mercúrio é dos poucos elementos que revela bioamplificação (Amiard-Triquet et al., 1993; Fisher & Reinfelder, 1995), ainda que outros elementos sejam bioacumuláveis nos

níveis tróficos planctônicos (Fisher & Reinfelder, 1995). Em termos ecológicos, uma cadeia trófica é formada por elos (níveis tróficos) ordenados sequencialmente de acordo com a relação presa/predador. No entanto, um predador tende a alimentar-se de uma diversidade de presas pertencentes ao mesmo ou a diferentes níveis tróficos, numa complexa teia alimentar. Em termos de bioamplificação, nível trófico não se restringe a um elo ou a uma espécie mas à função que uma ou mais espécies possam desempenhar na organização trófica do ecossistema (Amiard-Triquet et al., 1993; Boudou & Ribeyre, 1997). A bioamplificação de metilmercúrio a cada transferência trófica resulta muitas vezes numa contaminação dos peixes predadores com valores que excedem os limites para consumo humano (Back et al., 2003).

Segundo Clark et al., (1990) é a captação de um contaminante via ingestão que pode originar um processo de bioamplificação e este poderia ser estimado pelo logaritmo do coeficiente de partição octanol:água do contaminante ($\log K_{ow}$), que indica que ocorre bioamplificação quando $\log K_{ow}$ excede um valor teórico de bioconcentração apenas baseado nas afinidades do contaminante na repartição pela água e pelos lípidos do organismo. No entanto, a grande capacidade de bioacumulação de metilmercúrio não é apenas controlada pelo respectivo carácter lipofílico, visto que o mercúrio encontra-se predominantemente associado ao tecido muscular (músculo esquelético) e não ao tecido adiposo (Boudou & Ribeyre, 1997). Nos peixes o tecido muscular pode representar cerca de 55% do peso fresco total e constitui praticamente 100% da porção comestível (Boudou & Ribeyre, 1997).

A bioconcentração e a bioamplificação são amplamente reconhecidas como as principais evidências de que a assimilação de mercúrio é eficientemente transferida desde os pequenos consumidores primários até aos grandes predadores (Watras & Bloom, 1992; Guentzel & Tsukamoto, 2001). Enquanto que a bioconcentração (resultante da exposição ao contaminante na coluna de água) parece ser a via predominante na bioacumulação de uma grande diversidade de contaminantes, a ingestão de alimento contaminado, parece ser a principal via na bioamplificação de mercúrio (Cabana et al., 1993).

No entanto, alguns autores (Becker & Bigham, 1995; Watras et al., 1996) não estabelecem uma diferenciação entre bioconcentração e bioacumulação. Estes autores restringem o termo “bioacumulação” para descrever o “uptake” de mercúrio da água,

diferenciando apenas este processo da bioamplificação onde estariam envolvidas as transferências de mercúrio, de um nível trófico para o nível trófico seguinte, ao longo de uma cadeia alimentar (Farago, 2000).

1.3.3. Factores de Bioacumulação

A bioacumulação pode ser medida com base em factores de bioacumulação (BAF) relacionando a concentração do contaminante no organismo com a concentração do contaminante no meio ambiente ou no alimento (Chapman, 1997).

A relação entre a concentração do contaminante no organismo e a concentração do contaminante no meio ambiente é avaliada pelos factores de bioconcentração, enquanto que a relação entre a concentração do contaminante no organismo e a concentração do contaminante no alimento (na cadeia trófica) é avaliada por factores de bioamplificação. Os factores de bioconcentração são normalmente definidos como uma razão entre a concentração do contaminante no biota e a concentração do contaminante na água (Opperhuizen, 1991; Watras & Bloom, 1992, Driscoll et al., 1995; Boudou & Ribeyre, 1997); no entanto, estes factores são também por vezes apresentados como a razão entre a concentração do contaminante no biota e a concentração do contaminante no sedimento ou no alimento (Langston & Spence, 1995). Os factores de bioacumulação que relacionam as concentrações de um contaminante no biota com as concentrações desse contaminante no alimento são considerados como factores de bioamplificação (Watras & Bloom, 1992).

Em zonas estuarinas com um passado histórico de contaminação ambiental com mercúrio são importantes os factores de bioacumulação biota – sedimento (BASF) que estabelecem a razão entre a concentração de mercúrio no organismo e a concentração de mercúrio no sedimento (Evans & Engels, 1994). Esta relação entre o biota e o sedimento é particularmente importante nos organismos epibênticos que habitam em contacto directo com o sedimento, como por exemplo o góbio comum que, actuando interface sedimento-coluna de água, ingerem partículas e presas potencialmente contaminadas (ex. meiofauna e mesofauna) assimilando o mercúrio e promovendo a transferência deste elemento para níveis tróficos superiores.

Alguns autores (Evans & Engel, 1994; Post et al., 1996; Meili, 1997) apresentam estes factores como factores de bioconcentração e não logaritmizam a razão entre as concentrações; enquanto que outros (Lawrence & Mason, 2001) apresentam valores logaritmizados e não logaritmizados na mesma publicação. Outros autores (Becker & Bigham, 1995; Watras et al., 1996) referem os factores de bioconcentração apenas como factores de bioacumulação, assumindo a bioconcentração como um caso específico da bioacumulação quando se relacionam os níveis de contaminante no biota e na coluna de água envolvente.

Na modelação da transferência de um contaminante ao longo de uma cadeia trófica, Connolly (1991) utiliza outra definição de factor de bioconcentração, ou seja, como a razão entre as taxas de captação e de eliminação do contaminante.

A bioamplificação de mercúrio pode ser avaliada e descrita pelos factores de bioamplificação (BMF) que correspondem ao aumento de concentração deste contaminante, na sua transferência ao longo da cadeia trófica. O factor de bioamplificação é definido como o logaritmo da razão entre a concentração de uma substância no biota (C_{b2}) e a concentração dessa substância no nível trófico inferior ou no alimento (C_{b1}) (Watras & Bloom, 1992).

A bioamplificação atinge maior expressão na acumulação das formas de mercúrio orgânico, apresentando estas maiores factores de bioamplificação do que as formas inorgânicas (Watras & Bloom, 1992). A diferença é atribuída à maior dificuldade de passagem do mercúrio inorgânico pela dupla camada fosfolipídica da membrana celular (Meili, 1997; Boudou & Ribeyre, 1997). Segundo Meili (1997), em cada transferência na cadeia trófica, o incremento é de 2 a 5 vezes para o metilmercúrio (BMF entre 0,3 e 0,7) e inferior (1 a 4 vezes; BMF de 0 a 0,6) para o mercúrio inorgânico. A evidência de que o metilmercúrio nos organismos torna-se cada vez mais concentrado a cada nível da cadeia trófica – bioamplificação – pode também ser constatada pelo incremento dos factores de bioconcentração com o nível trófico. Watras & Bloom (1992) verificaram que os factores de bioconcentração de metilmercúrio aumentavam sucessivamente cerca de 0,5 unidades por nível trófico. A Tabela I.3.1 apresenta os factores de bioamplificação de metilmercúrio numa bacia marinha localizada na costa sul da Austrália (Francesconi & Lenanton, 1992).

Tabela I.3.1. Factores de bioamplificação correspondentes aos níveis de metilmercúrio no biota ($\mu\text{g Kg}^{-1}$), peso fresco) de um ambiente costeiro no sul de Austrália (Francesconi & Lenanton, 1992).

compartimento	meHg ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	meHg (%)	BMF
peixe piscívoro	2300	>95	0,7
peixe (presa)	450	93	0,5
invertebrados	150	45	1,3
algas	7	10	

O BMF resulta de um “quasiequilibrium” dinâmico onde a incorporação de um contaminante é contraposta pela depuração e pela diluição com o crescimento (Meili, 1997). O BMF é uma função da eficiência com o crescimento (crescimento/ingestão) visto que com a subida na cadeia trófica, diminui (em termos relativos) a contribuição da entrada de contaminantes por contacto directo com a água (exposição directa) mas aumenta a contribuição da assimilação pela via alimentar, mesmo nos consumidores primários (Meili, 1997).

1.4. Locais de estudo

A Ria de Aveiro foi o principal local de estudo devido à problemática de mercúrio (devido à presença de uma indústria de produção de cloro e soda cáustica) evidenciada em diversos trabalhos de investigação anteriormente desenvolvidos. Para efeitos de amostragem em local de referência não contaminado foram também recolhidas algumas amostras de peixe e sedimento em duas zonas intertidais do estuário do rio Minho.

1.4.1. Ria de Aveiro

1.4.1.1. Caracterização e importância económica

A Ria de Aveiro, cuja localização geográfica e mapa geral se apresentam na Figura 1.4.1., situa-se na orla costeira do litoral norte de Portugal e é uma laguna estuarina que se desenvolveu paralelamente à costa entre Ovar (a norte) e Mira (a sul), numa extensão com cerca de 45 quilómetros. A laguna e as zonas envolventes estão incluídas na rede Natura 2000 e constituem uma das mais extensas zonas húmidas de Portugal (52 720 ha) sendo protegidas legalmente como zona protegida especial (Decreto-lei nº384-B/99).

A Ria de Aveiro enquadra-se também na Bacia hidrográfica do Vouga cujo plano foi aprovado pelo Decreto Regulamentar n.º 15/2002 (DR 62 SÉRIE I-B de 2002-03-14, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território) visando “uma gestão correcta e moderna dos recursos hídricos” de acordo com uma adequada política de planeamento tendo em vista “a valorização, a protecção e a gestão equilibrada dos recursos hídricos nacionais, bem como a sua harmonização com o desenvolvimento regional e sectorial através da racionalização dos seus usos”. Na área abrangida por este plano foram

identificados seis eixos fundamentais de acção destacando-se i) o abastecimento de água às populações e saneamento das águas residuais domésticas e industriais; ii) a protecção dos ecossistemas aquáticos incluindo o sistema lagunar da ria de Aveiro; iii) a protecção e melhoria da qualidade da água, com vista à manutenção da riqueza ecológica e biodiversidade; iv) a prevenção e minimização dos efeitos de situações hidrológicas extremas e acidentes de poluição; e v) a melhoria do conhecimento sobre os recursos hídricos e suas utilizações.

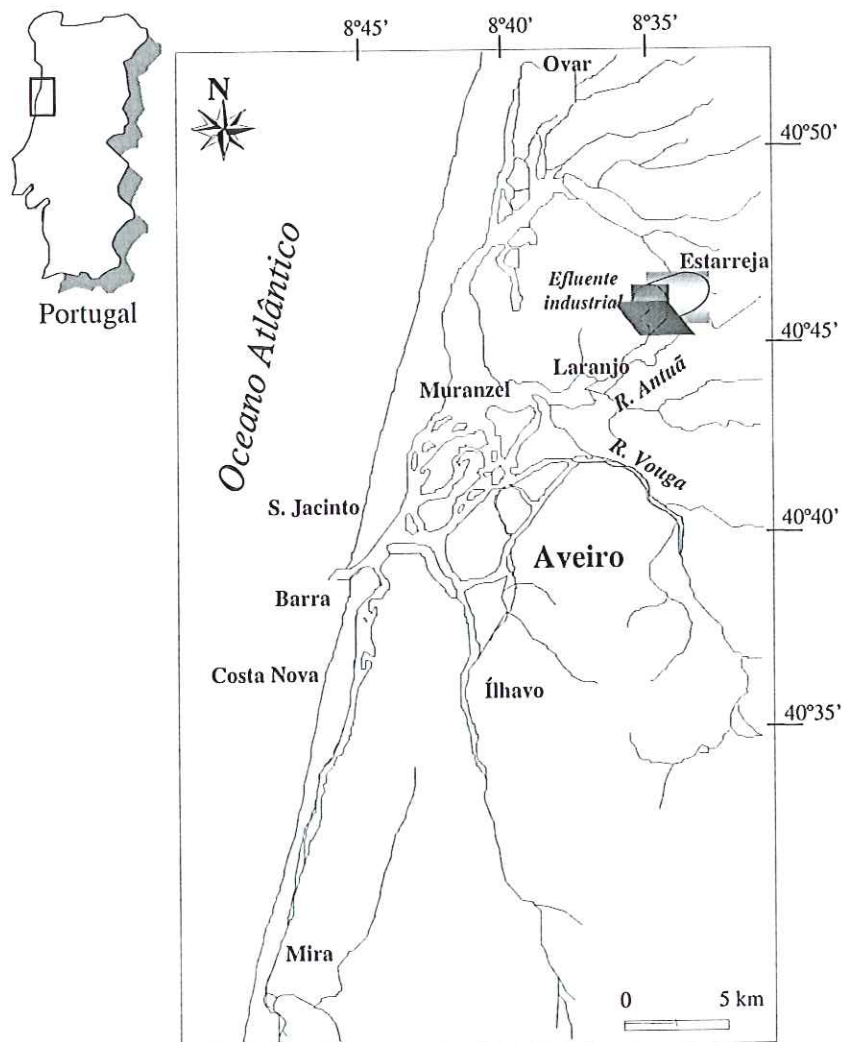


Figura 1.4.1. Ria de Aveiro: localização geográfica e mapa geral.

A Ria de Aveiro, incluindo as zonas marginais, ocupa uma área de 51152 ha e constitui um ecossistema de elevado interesse natural, destacando-se a comunidade ictiológica e a comunidade ornitológica. Os peixes, em geral, constituem elevado interesse natural e económico, enquanto que os juvenis são o recurso alimentar preferencial das cerca de vinte mil aves aquáticas que o ecossistema alberga regularmente. Por todos estes motivos, o plano aprovado para esta bacia hidrográfica considera “fundamental desenvolver acções no sentido de promover a conservação do sistema lagunar da ria de Aveiro e a sua utilização e gestão integrada, potenciando a fruição dos seus recursos endógenos pelas populações locais de uma forma sustentável” de modo a “proteger e melhorar a qualidade da água, com vista à manutenção da riqueza ecológica e biodiversidade”. O plano aponta a situação actual de falta de monitorização das descargas de águas residuais e a necessidade de um mapeamento das fontes de poluição tóxica de modo a avaliar e caracterizar a respectiva descarga de poluente e verificar o cumprimento das normas sectoriais no âmbito do Decreto-Lei nº 236/98.

O principal tributário da Ria de Aveiro é o rio Vouga que em conjunto com os respectivos afluentes constitui uma bacia hidrográfica com cerca de 3658 km². Os rios Águeda e o seu afluente Cértima são importantes tributários directos para a bacia hidrográfica do rio Vouga enquanto que os rios Caster e Antuã, a norte, e o rio Boco e a ribeira da Corujeira, a sul, desaguam directamente para a Ria de Aveiro.

A Ria de Aveiro engloba toda a zona estuarina do rio Vouga, entendida como zona de mistura de águas marinhas e águas doces sob influência das marés, e a nível hidrogeomorfológico deve ser considerada uma laguna e não um estuário, embora apresente características similares a um ecossistema estuarino ao nível da estrutura e das funções ecológicas.

A laguna apresenta uma única ligação (embocadura) com a zona costeira adjacente através de um canal com cerca de 300 metros de largura entre as povoações da Barra e de S. Jacinto. A largura máxima (entendida como a perpendicular ao eixo de maior dimensão da superfície lagunar) é de cerca de 10 quilómetros e situa-se entre o Bico do Muranzel e o Largo do Laranjo (Barrosa, 1985; Oliveira, 1987). A Ria de Aveiro apresenta quatro canais

principais: canal de S. Jacinto (a norte), largo e fundo, próximo da embocadura mas muito ramificado e com baixas profundidades (inferiores a 1m) nos extremos; canal de Mira (a sul), estreito, pouco ramificado e com baixa profundidade na maior parte dos sectores (Barrosa, 1985), ainda que tenha sido intervencionado recentemente, em particular até à zona do novo porto de pesca, a jusante da ponte da Barra, para facilitar a navegação dos barcos de arrasto costeiro; canal de Ílhavo que se dirige para o interior e para sul, pouco ramificado e com muitas profundidades inferiores a 1m; e o canal do Espinheiro que se dirige para o Rio Novo do Príncipe e que recebe a maior parte do caudal do Rio Vouga.

A Ria de Aveiro, sendo um ecossistema lagunar costeiro, estabelece a transição entre a zona litoral e a zona costeira adjacente, sendo extremamente influenciada pelo hidrodinamismo da maré, com variação da superfície alagada e da altura da coluna de água de uma forma cíclica (Morgado, 1997). Na Figura 1.4.2. é apresentado um esquema das amplitudes de maré na Ria de Aveiro e da zonação característica de um ecossistema costeiro.

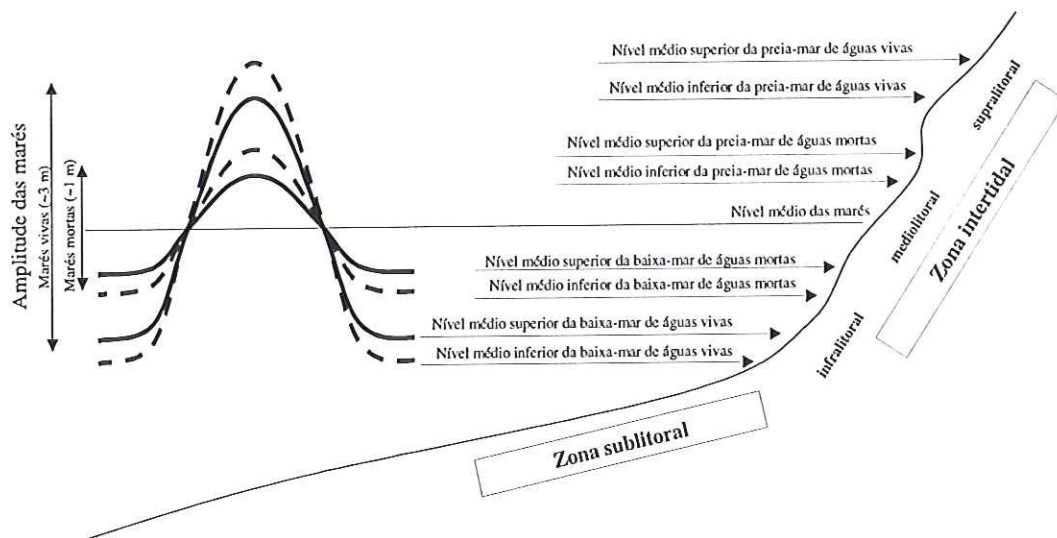


Figura 1.4.2. Representação esquemática da zonação num ecossistema lagunar costeiro.

A Ria de Aveiro apresenta profundidades entre 0 e 20 m, sendo frequentes as zonas pouco profundas (inferiores a 1 m) e margens normalmente com pouco declive originando zonas intertidais geralmente com grande extensão que ficam a descoberto em baixa-mar e alternam com áreas submersas, mesmo em situações de baixa-mar de marés vivas – zona sublitoral. Na zona da embocadura, a amplitude das marés mortas é de cerca de 1 metro enquanto que a amplitude das marés vivas é de cerca de 3 metros (APA, 2002).

O volume de água que entra na laguna em cada fluxo de maré oscila entre 25 milhões de m^3 (numa maré morta com cerca de 1m de amplitude) e 90 milhões de m^3 (numa maré viva com cerca de 3 metros de amplitude), correspondendo a um caudal de 2000 a $6000m^3 s^{-1}$ na zona da embocadura (Barrosa, 1985; Silva, 1994). Numa maré média, o volume de água movimentado na barra é de cerca de 83 milhões de m^3 (Silva, 1994), relativamente mais elevado que o valor de 3 milhões de m^3 correspondente ao volume médio de água doce proveniente dos tributários fluviais (Silva, 1994). O volume mínimo de água que permanece na laguna é de cerca de 70 milhões de m^3 (Barrosa, 1985) e os principais cursos de água doce (rio Vouga e rio Antuã) apresentam caudais (no seu conjunto) que podem variar entre 3 e $60 m^3 s^{-1}$ mas em períodos de cheia podem atingir valores superiores a $800 m^3 s^{-1}$ (Barrosa, 1985). A área molhada da Ria de Aveiro apresenta uma área variando entre 42 e $47 Km^2$ (Barrosa, 1985; Morgado et al., 2003).

A prosperidade da região, tanto a riqueza económica da zona como a sobrevivência da própria urbe, tem estado fortemente ligada à respectiva laguna costeira ao longo dos séculos (Souto, 1923). Actualmente, a Ria de Aveiro apresenta uma importância económica elevada, sendo uma das principais atracções turísticas pela beleza paisagística e pela riqueza em termos de fauna e flora (Reis, 1993). As actividades directamente ligadas à laguna, e em particular à pesca, são a principal (e às vezes única) fonte económica de muitos agregados familiares das povoações circunvizinhas.

1.4.1.2. Contaminação ambiental na Ria de Aveiro

As zonas estuarinas têm sido zonas preferenciais de industrialização e urbanização, não só pelas facilidades de transporte e de desenvolvimento, mas especialmente pela possibilidade de uma “diluição natural” e de descarga de resíduos (Spencer, 2002).

A contaminação com mercúrio (Hg) da Ria de Aveiro tem sido salientada em vários estudos (Hall et al., 1985; Lima, 1986; Lucas et al., 1986; Hall et al., 1987; Hall et al., 1988; Pereira et al., 1995; Abreu, 1997; Pereira, 1997; Pereira et al., 1998a; Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Válega, 2002; Monterroso et al., 2003; Pereira et al., 2006; Pereira et al., 2007; Pereira et al., 2008) sendo proveniente da descarga de um efluente industrial de uma fábrica de cloro e soda cáustica, situada no complexo industrial de Estarreja (Hall et al., 1985; Pereira, 1997). O Largo do Laranjo, que recebeu durante décadas o efluente da unidade industrial, foi considerado zona com problemas de contaminação ambiental (Hall et al., 1985; Pereira et al., 1998a; Pereira et al., 1998b; Abreu et al., 1998; Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Válega, 2002; Monterroso et al., 2003). Uma estimativa relativamente recente aponta para que cerca de 90% das 27 toneladas de metal acumuladas nas zonas mais contaminadas da Ria se encontram no Largo do Laranjo, sendo necessárias dezenas de anos para que o ecossistema possa recuperar (Pereira et al., 1998b; Abreu et al., 1998).

Os teores de mercúrio nos sedimentos superficiais próximos da descarga do efluente industrial atingiram valores com cerca de $850 \mu\text{g g}^{-1}$ (Hall et al., 1985), diminuindo substancialmente na zona do Laranjo para cerca de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ (Hall et al., 1985; Pereira, 1997) e apresentando um decréscimo progressivo para as regiões mais afastadas, com valores inferiores a $1 \mu\text{g g}^{-1}$ (Pereira, 1997; Ramalhosa, 2002). Na coluna de água, as concentrações de mercúrio obtidas (Ramalhosa, 2002) são geralmente inferiores ao valor indicado pela Directiva 98/83/EC como limite máximo ($1,0 \mu\text{g L}^{-1}$), apenas com algumas excepções junto à zona do Laranjo, próximo da fonte antropogénica (Pereira, 1997).

Em relação à contaminação do biota (Lucas et al., 1986), as concentrações de mercúrio em robalos juvenis ($0,2 - 0,9 \mu\text{g g}^{-1}$, peso fresco), enguias ($1,6 \mu\text{g g}^{-1}$, peso fresco) e solhas ($5,6 \mu\text{g g}^{-1}$, peso fresco) capturadas no Largo do Laranjo indicaram teores de mercúrio elevados, enquanto que solhas capturadas em locais mais afastados apresentaram concentrações inferiores ($<1,0 \mu\text{g g}^{-1}$, peso fresco). A contaminação de mercúrio no biota tem revelado uma diminuição da acumulação com o afastamento à principal fonte antropogénica (Lucas et al., 1986; Lima, 1986), tendência confirmada com a publicação de trabalhos mais recentes (Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Abreu et al., 2000c; Pato et al., 2002) que indicam uma potencial recuperação do ecossistema, com

valores de mercúrio no biota que em geral não excedem o valor legislado ($0,5$ e $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$, consoante a espécie).

1.4.2. Estuário do rio Minho

O estuário do Rio Minho (Fig. 1.4.3) estabelece a fronteira entre Portugal e Espanha. O estuário é caracterizado por um acentuado gradiente de salinidade e o limite médio da penetração da maré no rio Minho é de cerca de 35km. As zonas intertidais apresentam praias e bancos com granulometria diversa entre areia e vasa, alternando com áreas de sapal. O Rio Minho representa o principal caudal fluvial variando entre 127 a $500\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ com um valor médio de $300\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ (INAG, 2000).

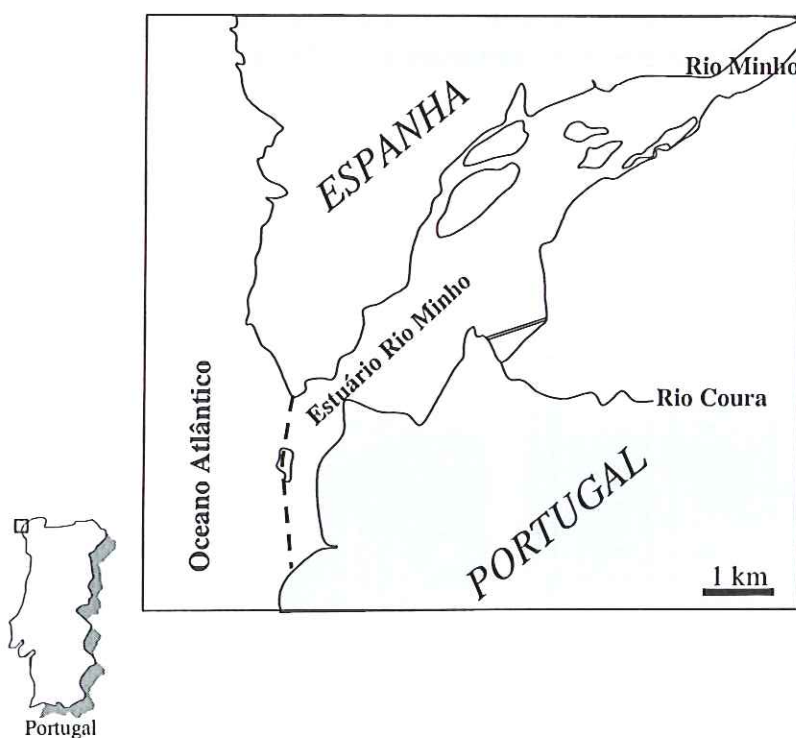


Figura 1.4.3. Estuário do Rio Minho: localização geográfica e mapa geral.

O ecossistema é importante do ponto de vista ornitológico como importante local de passagem migratória de passeriformes e sendo dos poucos locais na região onde ocorrem a Águia-sapeira (*Circus aeruginosus*), o Garçote (*Isobrychus minutus*) e a Garça-vermelha (*Ardea purpurea*).

As principais fontes de poluição tóxica provenientes da margem portuguesa da bacia hidrográfica derivam do sector pecuária e de utilizações domésticas, sendo a componente industrial pouco relevante (Instituto da água, 2001). Da parte espanhola, o rio Louro é proveniente de importantes aglomerados, incluindo o polígono industrial de Porriños e a localidade de Tuy. Segundo o Instituto da Água (2001) existe uma falha grave por ausência de monitorização de metais, nomeadamente ferro, alumínio, cobre, crómio, chumbo e mercúrio, embora os poucos valores existentes não evidenciem problemas de contaminação. A poluição difusa resulta principalmente de escorrências de terrenos agrícolas devido aos declives acentuados e a elevada precipitação.

No estuário do Minho foram considerados duas estações de amostragem próximas (<500m) mas apresentando características granulométricas distintas: C1 - zona intertidal vasosa e C2 - zona intertidal muito arenosa. A Figura 1.4.4 apresenta o aspecto geral das duas estações, C1 e C2.

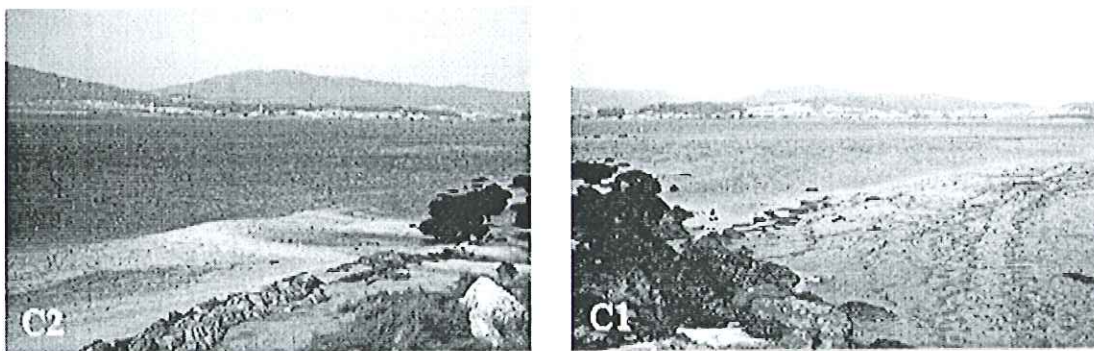


Figura 1.4.4. Aspecto geral das duas estações (C1 e C2) consideradas no estuário do Rio Minho.

1.5. Caracterização do biota

No âmbito deste trabalho foram utilizados espécimes de *Populus nigra* e *Pomatoschistus microps* no desenvolvimento de estudos sobre o estado actual, retrospectiva e evolução futura do padrão de contaminação com mercúrio no ecossistema lagunar estuarino. Na preparação do modelo geral sobre a contaminação com mercúrio apresentado no último capítulo desta dissertação foram também introduzidos dados resultantes de anteriores trabalhos já publicados, envolvendo em particular sestion, *Carcinus maenas* e *Dicentrarchus labrax*.

1.5.1. *Populus nigra*

O choupo, *Populus nigra* foi escolhido devido à existência de espécimes nas margens do canal que recebe a fonte antropogénica de mercúrio e com base num pressuposto de que poderia providenciar um registo das descargas de mercúrio nos tecidos dos anéis de crescimento do tronco. Um exemplar desta espécie recebeu particular atenção devido i) à idade (superior a 50 anos) reportando a tempos anteriores à instalação da unidade industrial e ii) ao posicionamento estratégico, imediatamente em frente ao ponto de descarga do efluente industrial, tendo sido colocada a hipótese de este espécime poder ter funcionado como “data logger” adquirindo o padrão da variação da intensidade de descarga de mercúrio para o sistema lagunar. A espécie apresenta uma distribuição global (Europa central e sul da Europa, incluindo o Reino Unido; Ásia temperada) e encontra-se frequentemente ladeando rios, lagos ou pequenos ribeiros. Os espécimes caracterizam-se por apresentarem um sistema radicular invasivo das fontes ou locais de passagem de água, podendo infiltrar-se em pequenas condutas. Além destas características, os tecidos

lenhosos são relativamente pouco duros facilitando a extracção de cores e aplicação de técnicas de dendroquímica.

1.5.2. Seston

O seston apresenta uma grande afinidade com os elementos vestigiais (Sanders & Riedle, 1998). A associação do seston a metais pode ocorrer por adsorção à superfície destas partículas ou por incorporação atravessando as barreiras celulares no caso do plâncton (Fisher & Reinfelder, 1995). Desta forma, os metais, e em particular o mercúrio, podem ser adsorvidos ou incorporados em partículas (detríticas ou planctónicas) presentes na coluna de água, contribuindo para a dispersão e transporte, promovendo a transferência do contaminante para cadeia trófica e a sua bioacumulação (Wiener & Stokes, 1990; Watras & Bloom, 1992) em locais afastados da fonte antropogénica.

O seston engloba o conjunto de partículas em suspensão na coluna de água, incluindo o plâncton. No plâncton incluem-se os produtores fitoplanctónicos e os primeiros níveis tróficos dos consumidores de todo o ecossistema lagunar. Deste modo, os metais agregados ou incorporados no plâncton podem ser transferidos ao longo da cadeia trófica pelos organismos (Wiener & Stokes, 1990; Watras & Bloom, 1992; Lawson & Mason, 1998).

Tabela I.5.1. Distribuição de mercúrio total e de metilmercúrio no plâncton e na coluna de água, com indicação dos respectivos factores de bioconcentração (adaptado de Watras & Bloom, 1992).

	[Hg total] (ng g ⁻¹)		[meHg] (ng g ⁻¹)
	BCF (Hg total)		BCF (meHg)
Zooplâncton	56		20
Fitoplâncton	30	4,7	4
Água	0,0011	4,4	0,00005
			4,9
			5,6

BCF = $\log (C_i/C_w)$; assumindo zooplâncton com 80% humidade e fitoplâncton com 90% humidade (Watras & Bloom, 1992).

A capacidade de bioacumulação de mercúrio no plâncton tem sido observada no meio natural com elevados factores de bioconcentração (Tabela I.5.1.) (Watras & Bloom, 1992), com especial relevo para as espécies químicas de mercúrio metiladas em que os factores de bioconcentração podem aumentar cerca de 0,5 unidades logarítmicas por cada nível trófico, indicando um inequívoco processo de bioamplificação (Watras & Bloom, 1992). Os factores de bioconcentração (BCF) podem diminuir durante os períodos de elevada produção, normalmente designados por “blooms” (Sanders & Riedel, 1998).

Por outro lado, devido ao facto de ser transportado passivamente pelas correntes (Omori & Ikeda, 1984) e estar sujeito à acção dinâmica das marés, o plâncton apresenta-se como uma possível via de exportação de mercúrio das zonas mais contaminadas da Ria de Aveiro, actuando no transporte e dispersão do mercúrio para o restante ecossistema lagunar.

1.5.3. *Carcinus maenas*

Os invertebrados bentónicos representam um importante elo na transferência de metais para a cadeia trófica, devido à associação (contacto directo) que estes invertebrados estabelecem com os sedimentos e à tolerância e capacidade de acumulação de metais nos respectivos tecidos (William, 1991).

O caranguejo *Carcinus maenas*, representado na Figura. 1.5.1., é uma espécie que apresenta uma vasta área de distribuição geográfica que inclui Mediterrâneo, Atlântico, Canal da Mancha e Báltico (Campbell, 1994). *C. maenas* é um agressivo e voraz predador, habitando zonas intertidais e subtidais abrigadas, podendo ser encontrado em substrato móvel ou rochoso (Campbell, 1994). O crescimento do caranguejo é um processo descontínuo e ocorre por mudança da respectiva carapaça. No primeiro ano de vida os caranguejos efectuam várias mudanças de carapaça e os machos atingem dimensões de 30

a 44 mm (largura do cefalotorax) enquanto que as fêmeas atingem 20 a 30 mm. Nos anos seguintes, o caranguejo efectua apenas uma mudança de carapaça por ano e atinge cerca de 50 mm de largura do cefalotorax ao fim de 3 a 4 anos (Gomes, 1991a; Gomes, 1991b).

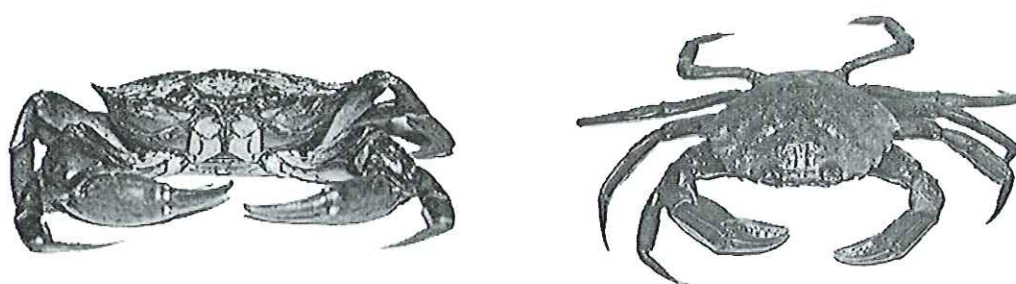


Figura 1.5.1. Caranguejo *Carcinus maenas* (Linnaeus), em posição frontal e dorsal.

O caranguejo *C. maenas* é um organismo bentónico que tem a capacidade de manipular a superfície do sedimento, estabelecendo uma relação directa com os sedimentos superficiais, intervindo activamente na interface sedimento/coluna de água e alterando os equilíbrios anteriormente estabelecidos – bioturbação. Esta acção pode alterar a biodisponibilidade de um contaminante nos sedimentos superficiais (Vale & Sundby, 1998).

A presença de mercúrio no caranguejo *C. maenas* permite avaliar a biodisponibilidade do contaminante no ecossistema, contribuindo para a avaliação da bioacumulação de mercúrio na Ria de Aveiro. A bioacumulação de mercúrio em caranguejo habitando zonas contaminadas apresenta um risco elevado, devido a essa permanente interacção com os sedimentos onde o mercúrio se encontra preferencialmente armazenado (Reynoldson, 1987). Elementos não essenciais, como o mercúrio, tendem a variar em função do grau de exposição porque não são regulados intra-tecidos por mecanismos bioquímicos vitais (Turoczy et al., 2001). Os caranguejos podem acumular mercúrio por adsorção ao exoesqueleto, por absorção através do tegumento interno ou

pelas brânquias, e por assimilação digestiva após ingestão de comida, sedimento ou água (Reynoldson, 1987). Se a eficiência na assimilação de mercúrio é elevada, os caranguejos representam um óbvio risco para os predadores.

Em alguns estudos (Jewet & Naidu, 2000) não se observaram evidências de que os caranguejos reflectissem a contaminação ambiental. No entanto, em experiências de campo controladas a gradientes de contaminação, *C. maenas* apresentou respostas significativamente diferentes (Astley et al., 1999). Alguns autores (Laporte et al., 1997) referem que a acção combinada da salinidade e do pH podem influenciar a bioacumulação de mercúrio em *C. maenas*.

Na Ria de Aveiro, o caranguejo *C. maenas* apresenta uma considerável importância económica, sendo a sua maioria exportada. Na década de oitenta exportavam-se cerca de 100 toneladas por mês para as indústrias em Espanha, representando cerca de 50 mil euros mensais (Gomes, 1991a). Em termos de legislação espanhola, exigia-se que o tamanho mínimo da largura do cefalótórax fosse de 50 mm (Gomes, 1991a), mas em “termos reais” foram observados lotes de caranguejo para exportação com exemplares cujas medições revelaram larguras de cefalotórax desde 20 a 71 mm (Gomes, 1991a). A importância económica do caranguejo tem ainda alguma expressão para efeitos de venda local ao consumidor e para isca, principalmente na pesca artesanal.

Na legislação actual, Regulamento (EC) 221/2002, na espécie *Carcinus maenas* são admitidos valores máximos de mercúrio de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$, por peso fresco.

1.5.4. *Pomatoschistus microps*

O góbio comum *Pomatoschistus microps* (Fig. 5.1.2) é uma espécie com uma ampla distribuição geográfica nos estuários da costa atlântica do noroeste da Europa (Arruda et al., 1993; Bouchereau & Guelorget, 1997; Maes et al., 1998), ocupando preferencialmente as zonas de maior salinidade durante a fase larvar (Faria et al., 2006). Na fase adulta, os espécimes - predadores intermédios - geralmente não excedem os 6 cm de comprimento mas representam uma base crucial na cadeia trófica das zonas costeiras

(Jovanovic et al., 2007). *P. microps* é uma espécie abundante na costa atlântica Portuguesa e os exemplares fêmeas conseguem atingir a maturidade com 3cm de comprimento standard (Arruda et al., 1993), podendo ocorrer um ou mais períodos de desova (Arruda et al., 1993; Bouchereau & Guelorget, 1997).

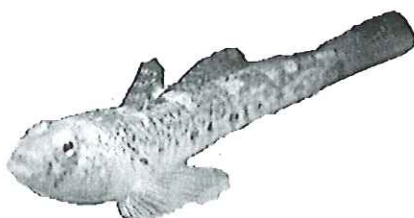


Figura 1.5.2. Góbio comum, *Pomatoschistus microps*.

O habitat encontra-se nas zonas arenosas e vasosas das zonas intertidais ou estuários (Arruda et al., 1993), geralmente não excedendo os 30 m de profundidade, alimentando-se de pequenos crustáceos (ex. copépodos e anfípodes) (Picton & Morrow, 2005). Esta espécie apresenta uma característica epibêntica, estabelecendo uma relação directa com os sedimentos superficiais onde, na fase adulta, encontram diversas presas como *Nereis* spp, *Corophium volutator*, nematoda e chironomidae (Leif, 1985; Williams & Williams, 1998).

P. microps é uma espécie que reflecte a contaminação ambiental, tendo sido utilizada de uma forma bem sucedida em testes de ecotoxicologia e recomendada para estudos com biomarcadores (Christiansen et al., 1998; Quintaneiro et al., 2005; Monteiro et al., 2006; Monteiro et al., 2007).

Em termos de legislação (Regulamento (EC) 221/2002), na espécie são admitidos valores máximos de mercúrio de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$, por peso fresco.

1.5.5. *Dicentrarchus labrax*

O robalo, *Dicentrarchus labrax*, representado na Figura 1.5.3., sendo um peixe predador e ocupar um dos níveis de topo da cadeia trófica na laguna (Rebelo, 1993), é considerado um potencial bioacumulador, com fortes possibilidades de bioamplificação de mercúrio na cadeia trófica (Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Pombo et al., 2000; Pato et al., 2002).

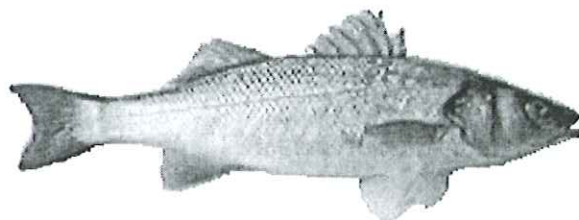


Figura 1.5.3. Robalo *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus).

D. labrax, conhecido como robalo-legítimo, pode atingir 80 cm de comprimento e encontra-se, principalmente, em substratos arenosos ou rochosos, na zona sublitoral até aos -100m; a sua distribuição inclui o Mediterrâneo, Atlântico, Canal da Mancha e Báltico (Campbell, 1994).

O robalo efectua a postura no oceano entre Janeiro e Abril, desenvolvendo o seu período larvar e pós-larvar (<3,5 cm) ainda no oceano (Rebelo, 1993). Posteriormente, os alevins (3,5 a 7,5 cm) iniciam a colonização da laguna e dirigem-se para as zonas mais afastadas da Barra. Nesta fase, os peixes são muito vorazes e as principais presas são misidáceos (em especial *Neomys* e *Paramysis*) (Rebelo, 1993). Os juvenis (7,5 a 15 cm) procedem à colonização de toda a laguna mas preferem as zonas periféricas, muito produtivas, com elevada matéria orgânica em suspensão e com baixa salinidade (Laranjo, Vagueira e entrada do rio Vouga). Neste período do ciclo de vida, as principais presas são decápodos (*Carcinus* e *Crangon*); no Verão, na região da Barra e na zona norte da laguna,

incluem também poliquetas (*Nereis*); e durante o inverno e a primavera, em regiões sujeitas a forte pressão poluente, acrescentam à sua dieta isópodes (*Sphaeroma*). Os espécimes jovens (>15 cm), menos vorazes que os juvenis, preferem as regiões próximas da barra e alimentam-se, durante todo o ano, preferencialmente de decápodos; no período de verão incluem também teleósteos (particularmente *Sardina pilchardus*) (Rebelo, 1993).

Durante o primeiro ano de vida os robalos geralmente não ultrapassam os 15 cm de comprimento. Após este período, os robalos aproximam-se progressivamente da região da embocadura, onde permanecem até empreenderem a migração de volta ao oceano (Rebelo, 1993).

O robalo é um peixe muito apreciado na região em termos gastronómicos e a sua pesca, artesanal ou desportiva, realiza-se durante todo o ano em toda a laguna.

Em termos de legislação (Regulamento (EC) 221/2002), na espécie *Dicentrarchus labrax* são admitidos valores máximos de mercúrio de $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$, por peso fresco.

1.6. Justificação da importância do trabalho realizado e objectivos

1.6.1. Justificação do trabalho realizado

O mercúrio e os seus compostos são altamente tóxicos para o homem e para os diversos ecossistemas. As diversas imposições de ordem legislativa têm produzido efeitos, nomeadamente na reconversão de indústrias de produção de cloro e soda cáustica, com implicações na diminuição drástica das descargas das unidades industriais para o meio aquático, ainda que várias toneladas de mercúrio continuem armazenadas nos sedimentos das zonas mais contaminadas (Pereira et al., 1998a; Pereira et al., 1998b; Abreu et al., 2008).

Actuando como zonas preferenciais de sedimentação, os ecossistemas estuarinos estão sujeitos a uma presença elevada de contaminantes que, podendo afectar negativamente esses ecossistemas, estão submetidos a um controlo por leis ambientais internacionais (Ridgway & Shimmield, 2002). Os registos cronológicos dos níveis de contaminação nas zonas estuarinas têm sido obtidos com base em cores de sedimentos, tendo a avaliação dos níveis de contaminação existentes e a respectiva distribuição sido muito importantes como base de partida para o desenvolvimento de normas e atitudes, visando minimizar as agressões e os impactos de uma contaminação estuarina (Ridgway & Shimmield, 2002). Este registo cronológico pode ser complexo, ou de difícil interpretação, devido aos processos de ressuspensão/sedimentação que podem eliminar estratos (camadas) de sedimentos, apagando parcialmente ou interferindo no registo.

Nas últimas três décadas, o estudo dos anéis de crescimento em troncos de árvores – dendrocronologia - tem sido utilizado como fonte de registo cronológico da presença de contaminantes no ambiente (Watmough, 1997; Nabais et al., 1999; Tommasini et al., 2000; Orlandi et al., 2002) mas a sua aplicação tem sido excepcionalmente direccionada para o conhecimento e quantificação do impacto da poluição atmosférica em florestas (Ferreti et al., 2002; McLaughlin et al., 2002; Worbes, 2002). Na análise dos anéis de crescimento assume-se que quando os tecidos cessam funções, os elementos presentes na seiva são retidos e isolados formando deste modo um registo cronológico (Momoshima & Bondietti, 1990), admitindo que não ocorre uma mobilidade significativa (Nabais et al., 1999).

Numa primeira abordagem, a aplicação de técnicas de dendrologia para registo cronológico de uma contaminação ambiental em zonas aquáticas estuarinas, poderia parecer desadequada ou mesmo despropositada. Em estudos de climatologia com análise de isótopos, a resolução apresentada pelos anéis de crescimento foi superior aos valores encontrados em cores de gelo glacial, os quais apresentam uma resolução superior à resolução proporcionada pela análise de sedimentos (McCarroll & Loader, 2004). Deste modo, a utilização de anéis de crescimento, para avaliação e registo do padrão de contaminação com mercúrio para um meio lagunar estuarino, apresentar-se-ia como uma mais-valia desde que fosse possível a respectiva aplicabilidade. A concretização desta aplicação exigiria a presença (“sentinela” ao longo do tempo) de uma espécie arbórea localizada em zona privilegiada e exigiria também que a fonte contaminante fosse uma

fonte predominantemente pontual, além de que o elemento contaminante (o mercúrio), após incorporação, não manifestasse translocações entre os anéis de crescimento da espécie (translocações radiais). Para a realização deste trabalho, o local de estudo, além de apresentar uma espécie com potencialidade de providenciar registos cronológicos do padrão de descargas efectuadas para o sistema estuarino, revelou a presença “estratégica” de um exemplar cuja plantação (origem) antecedeu a data de início de produção da unidade industrial e respectivas descargas. A presença deste espécime na margem oposta (<5m) ao ponto de descarga do efluente industrial responsável pela fonte antropogénica de mercúrio providenciou a “sentinela” e instrumento de registo cronológico do padrão de descargas para o ecossistema estuarino durante as últimas cinco décadas, intervalo de tempo que abrange os períodos atribuídos a descargas e consequente contaminação por mercúrio da Ria de Aveiro (Hall et al., 1985; Pereira et al., 1995; Pereira, 1997; Pereira & Duarte, 1997; Pereira et al., 1998a; Pereira et al., 1998b). A comparação entre os dados obtidos na análise e quantificação de mercúrio nos anéis de crescimento, e os dados obtidos nos cores de sedimentos destes outros estudos permitiu validar as técnicas dendroquímicas, ultrapassando as limitações apontadas aos estudos dendroquímicos devidas ao curto período experimental de observações (Ferreti et al., 2002).

A persistência de mercúrio em ambientes aquáticos, as suas características tóxicas e a possibilidade de bioacumulação ao longo das cadeias tróficas, conferem uma grande importância aos estudos que contribuam para compreender os complexos fenómenos que regulam a transferência deste contaminante no ambiente (Bloom, 1992; Amiard-Triquet et al., 1993; Mason et al., 1994; Mason et al., 1995; Langford & Ferner, 1999; Faganeli et al., 2003). Um aumento progressivo das concentrações de mercúrio nos organismos aquáticos, mesmo em locais remotos, tem sido registado a nível global, em consequência das múltiplas fontes antropogénicas e respectivas descargas para os ecossistemas (Hoffman et al., 2003). Paralelamente, a morosidade na recuperação das zonas contaminadas por mercúrio em termos da qualidade dos produtos da pesca (Kawaguchi et al., 1999; Sager, 2002) e o pouco conhecimento da biogeoquímica do mercúrio em zonas de interface continente – oceano (Stoichev et al., 2004) reforçam a vital importância em avaliar o estado passado e presente do sistema, de modo a inferir sobre o grau de contaminação actual e futuro.

O trabalho realizado tem como principais razões: i) contribuir para o conhecimento da biogeoquímica do mercúrio numa zona de interface continente-oceano, ii) contribuir para a validação da dendroquímica no registo cronológico do padrão de descargas de mercúrio para um sistema (estuarino) aquático, iii) quantificar a bioacumulação de mercúrio na Ria de Aveiro e avaliar o risco da contaminação com mercúrio no ecossistema estuarino, atendendo à respectiva importância económica local e regional.

O trabalho apresenta três etapas distintas. Numa primeira fase foram realizados trabalhos para avaliar o passado e presente do padrão da contaminação ambiental no ecossistema estuarino costeiro. O recurso a técnicas de dendroquímica permitiu avaliar os padrões de descarga de mercúrio (registo cronológico do perfil de descarga) no ecossistema lagunar, desde o estabelecimento da unidade industrial fonte antropogénica de mercúrio; complementada com a validação do perfil obtido por comparação os dados obtidos em cores de sedimentos e com os dados de produção da unidade industrial.

Numa segunda fase, os estudos realizados foram direccionados para a quantificação da bioacumulação de mercúrio em peixes demersais estabelecendo um paralelismo com a contaminação ambiental nos sedimentos superficiais e respectiva distribuição.

Numa terceira fase foi avaliado o padrão evolutivo da contaminação com mercúrio no ecossistema estuarino confrontando dados de campo com as previsões de um modelo matemático anteriormente adaptado e aplicado (há cerca de década e meia) na produção de uma estimativa da evolução dos níveis de contaminação (nos sedimentos superficiais do canal que recebe o efluente industrial fonte do mercúrio antropogénico) e da estimativa do tempo de recuperação do ecossistema lagunar.

A conjugação dos resultados obtidos com dados anteriormente publicados permitiu apresentar um modelo evolutivo (passado, presente e estimativa futura) do padrão de contaminação num ecossistema lagunar costeiro tendo como referência a Ria de Aveiro.

1.6.2. Objectivos específicos e estratégias utilizadas

O objectivo geral do presente trabalho é o estudo da bioacumulação e dinâmica de mercúrio num ecossistema lagunar costeiro (Ria de Aveiro), em termos de passado histórico, estado da contaminação actual e avaliação da evolução futura e apresenta os seguintes objectivos específicos:

- **Avaliar o historial do input da contaminação com mercúrio do ecossistema estuarino com apresentação do registo do padrão de descargas desde a implantação da unidade industrial com base no registo de mercúrio nos anéis de crescimento em *Populus nigra* L.**

Estudo desenvolvido com quantificação de mercúrio em cores recolhidos no tronco de árvores posicionada nas margens do canal que recebe o efluente industrial com relevo para o espécime localizado a <5m do ponto de descarga da conduta do efluente industrial. Comparação com os padrões a) de produção da unidade industrial e b) dos níveis de mercúrio publicados para cores de sedimentos.

- **Avaliar a biodisponibilidade e a bioacumulação de mercúrio no ecossistema estuarino**
 - i) Captura de exemplares de peixes demersais (*Gobius*) e de sedimentos em estações com diferente grau de contaminação ambiental (C. Bico, P. Aveiro e Barra); quantificação de mercúrio e caracterização. Comparação com recolhas de peixes e sedimentos em outro local de referência (Caminha). Caracterização da importância da contaminação na fracção fina do sedimento superficial no estabelecimento dos factores de bioacumulação.
 - ii) Captura de exemplares de robalo nas zonas mais contaminadas; quantificação de mercúrio e caracterização. Avaliação do estado da contaminação actual numa espécie predadora e comparação com registos anteriormente publicados.
- **Estabelecer um modelo geral da contaminação do ecossistema estuarino com base no passado histórico, situação presente e futura, incluindo previsão do tempo de recuperação do ecossistema lagunar.**

Estudo desenvolvido i) com base no historial de dados publicados sobre contaminação com mercúrio para o ecossistema em estudo; ii) com a confrontação de dados actuais da dispersão de mercúrio com os dados produzidos anteriormente (1995) pelo modelo matemático (EcoS) com previsões para 2005 e 2010; e iii) com base no historial de bioacumulação no biota, particularmente na acumulação de robalo capturado nas zonas mais contaminadas.

Os trabalhos realizados permitem identificar as zonas e períodos de maior risco, caracterizando o padrão de comportamento do mercúrio num ecossistema lagunar costeiro em termos de passado, presente e evolução futura, tendo como referência a Ria de Aveiro.

CAPÍTULO II - METODOLOGIAS

2.1. Métodos e técnicas de amostragem

2.1.1. Amostragem de cores em *Populus nigra*

Para estudo do perfil de descargas e registo histórico da contaminação com mercúrio proveniente do efluente industrial foram escolhidos três espécimes de *Populus nigra* localizados em posições estratégicas ao longo do Esteiro de Estarreja.

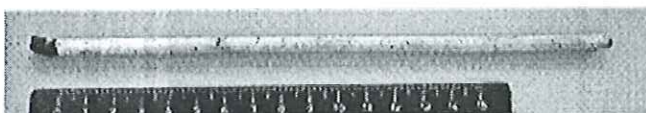
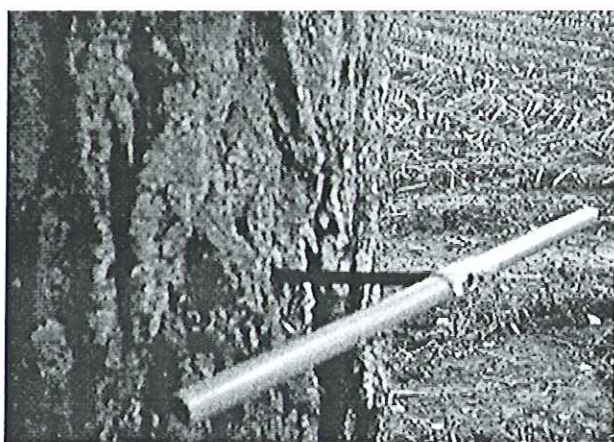


Figura 2.1.1. Processo de recolha dos cores no tronco de *P. nigra* e apresentação do core após a extracção.

O primeiro espécime (T_A), com cerca de 90cm de diâmetro de tronco (1,3 – 1,5m acima do solo) e posicionado sobre a margem esquerda do canal, encontra-se a uma distância inferior a 5m do local de descarga do efluente industrial; um segundo espécime (T_B), 70cm de diâmetro de tronco e situado na margem direita a cerca de 100m a montante do local de descarga; e (T_C), 50cm de diâmetro de tronco e localizada na margem direita a cerca de 1,6km a jusante do local de descarga.

Em cada um dos espécimes foram efectuadas três ou mais recolhas de cores a um altura de cerca de 1,5m acima do solo usando uma verruma de extracção (perfuração com 5mm de diâmetro e 30cm de comprimento) em aço inox revestida internamente com teflon. A Figura 2.1.1 ilustra o processo de recolha de cores no tronco do espécime T_A , com apresentação da amostra de core após a extracção.

2.1.2. Amostragem de sedimentos

A amostragem de sedimentos superficiais foi efectuada com o apoio de uma pá de plástico sendo considerados os primeiros 5 cm da camada superficial de sedimentos. A amostragem foi realizada em dois momentos distintos tendo em consideração os objectivos pretendidos. Numa primeira fase, para correlacionar a contaminação ambiental com a bioacumulação de mercúrio, foram recolhidos sedimentos em Fevereiro e Março de 2006 (paralelamente com a captura de *Pomatoschistus microps*), com o estabelecimento de três estações de acordo com o afastamento à fonte antropogénica de mercúrio (C. Bico, P. Aveiro e Barra, seguindo um gradiente decrescente de contaminação) e duas estações em Caminha (C1 – praia vasosa e C2 – praia arenosa). Numa segunda fase, para verificar a avaliação estimada pelo modelo matemático aplicado à dispersão de mercúrio no Esteiro de Estarreja (Abreu et al., 1998), as amostras de sedimentos foram recolhidas em nove estações ao longo do canal (300m, 1150m; 1500m, 1900m, 2300m; 2500m, 3000m; 4000m, 5000m) em Novembro de 2007.

Após a recolha, as amostras dos sedimentos foram acondicionadas em sacos de polietileno descontaminados e foram mantidas refrigeradas em malas térmicas durante o transporte para o laboratório.

2.1.3. Amostragem de *Pomatoschistus microps*

A amostragem de *Pomatoschistus microps* foi realizada em Fevereiro e Março de 2006 nas mesmas estações de recolha dos sedimentos superficiais: na Ria de Aveiro (C. Bico, P. Aveiro e Barra) e em Caminha (C1 e C2). A captura dos espécimes foi efectuada utilizando pequenas redes de arrasto actuando ao longo das margens com profundidades variando entre 0,5 a 1,0 metros. Após a captura, os peixes foram mantidos vivos em malas térmicas refrigeradas e transportados para o laboratório onde foram congelados ou processados imediatamente.

2.1.4. Amostragem de *Dicentrarchus labrax*

A captura de *Dicentrarchus labrax* foi efectuada em Setembro de 2006 no Largo do Laranjo utilizando redes de arrasto tipo chinha em profundidades geralmente inferiores a 2m. Após a captura, os peixes foram acondicionados em sacos de polietileno descontaminados e mantidos em malas térmicas antes de serem transportados para o laboratório onde foram congelados a -20°C .

2.2. Trabalho de laboratório: tratamento das amostras e métodos de análise

O processo de manipulação das amostras foi efectuado de forma a minimizar os possíveis riscos de contaminação. Nesta secção do capítulo II são apresentadas as metodologias aplicadas neste trabalho, com excepção dos métodos específicos na determinação de mercúrio que serão apresentadas no sub-capítulo seguinte.

2.2.1. Tratamento dos cores de *Populus nigra*

Os cores foram colocados a secar a temperatura ambiente (25°C) durante 2 semanas. Posteriormente, os cores foram seccionados em segmentos de 1cm de comprimento (correspondendo a cerca de dois anos de crescimento da planta) e colocados individualmente em ependorfs de 500µL devidamente etiquetados.

2.2.2. Tratamento dos sedimentos

No laboratório, cada amostra de sedimentos superficiais foi subdividida para avaliação dos seguintes parâmetros: i) percentagem de humidade, ii) teor em matéria orgânica, iii) granulometria (% da fracção granulométrica < 63 µm), e iv) mercúrio total. A descrição dos métodos utilizados na determinação de mercúrio é efectuada em capítulos posteriores. Na preparação dos sedimentos para quantificação de mercúrio ao longo do Esteiro de Estarreja (Cap. IV) foi seguindo o protocolo utilizado no estudo de modelação da dispersão de mercúrio ao longo do Esteiro (Abreu et al., 1998), passando os sedimentos por um processo de secagem durante 3 dias a temperatura ambiente (25°C), procedido de uma secagem no forno a 50°C durante 24 horas. Na preparação das restantes amostras, os sedimentos foram liofilizados durante 48 a 72 horas.

2.2.2.1. Avaliação do teor em humidade

Neste estudo foram consideradas amostras de sedimento com cerca de 2,000g que foram rigorosamente pesadas e colocadas em estufa a 110°C até atingirem peso constante. A avaliação da percentagem de humidade foi obtida por diferença de peso.

2.2.2.2. Avaliação do teor em matéria orgânica

A avaliação do teor em matéria orgânica nos sedimentos foi efectuada por calcinação e quantificação da matéria orgânica por perda de peso. As amostras foram previamente liofilizadas (durante 48 a 72 horas), homogeneizadas e crivadas por um peneiro de poliéster com uma malha de 1mm, sendo removidos os fragmentos de

granulometria grosseira (nomeadamente, fragmentos de conchas e restos de componentes radiculares).

No processo de calcinação, as amostras de sedimento (fracção <1000 μ m e <63 μ m) foram colocadas numa mufla a 550°C, durante 4 horas, e a percentagem do teor em matéria orgânica foi obtida por diferença de peso.

2.2.2.3. Determinação da percentagem da fracção granulométrica inferior a 63 μ m

Na determinação da percentagem da fracção granulométrica inferior a 63 μ m foram consideradas sub-amostras dos sedimentos previamente homogeneizados e crivados pelo peneiro com uma malha de 1 mm. Os sedimentos destas sub-amostras foram posteriormente crivados por uma rede de 63 μ m para obtenção da fracção de sedimentos finos e respectiva percentagem.

2.2.3. Pomatoschistus microps

Os espécimes de *P. microps* foram pesados e medidos individualmente no laboratório e posteriormente liofilizados isoladamente em ependorfs de 500 μ L. Após o processo de liofilização, os exemplares foram novamente pesados para determinação da percentagem de humidade.

2.2.4. Dicentrarchus labrax

Os espécimes de *D. labrax* foram pesados e medidos individualmente no laboratório. Posteriormente foram retiradas amostras individuais de tecido muscular, pesadas, e posteriormente liofilizadas. Após o processo de liofilização, os tecidos foram novamente pesados para determinação da percentagem de humidade.

2.3. Determinação de mercúrio

2.3.1. Metodologia

A determinação de mercúrio total foi efectuada por decomposição térmica e análise por espectrofotometria de absorção atômica (equipamento Leco, AMA-254). Esta metodologia simplifica a análise e quantificação de mercúrio ao substituir toda a fase delicada do processo de digestão da amostra (Hintelman, 1999) por uma decomposição termal (pirólise) da amostra com libertação do mercúrio, minimizando as interferências de matriz (Costley et al., 2000).

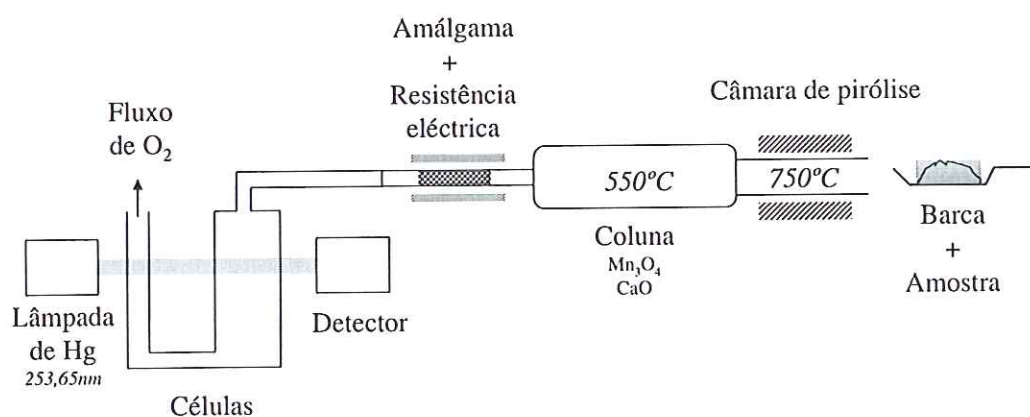


Figura 2.3.1. Representação esquemática da metodologia utilizada no equipamento Leco, AMA-254, na determinação de mercúrio.

A Figura 2.3.1 apresenta um esquema simplificado da metodologia aplicada. As amostras liofilizadas (0,0100-0,1000 g) foram rigorosamente pesadas, colocadas directamente na barca de níquel do equipamento e introduzidas automaticamente num tubo de quartzo, onde ocorre uma desidratação seguida de pirólise a 750 °C, proporcionada por um fluxo (200 mL min⁻¹) de oxigénio ultra puro (Costley et al., 2000). Os gases resultantes da combustão (óxidos de azoto e de enxofre, assim como halogéneos) são removidos num “segundo” forno a 550 °C (Costley et al., 2000), numa coluna formada por uma mistura catalítica à base Mn₃O₄ e CaO. O vapor de mercúrio (Hg⁽⁰⁾) é retido numa amalgama de ouro e posteriormente libertado para duas células de leitura situadas no percurso óptico de uma lâmpada de mercúrio (253,65 nm) (Hall & Pelchat, 1997; Costley et al., 2000). O limite de detecção do equipamento AMA-254 é de 4ng. A Tabela II.3.1. apresenta as condições usadas na determinação de mercúrio no espectrofotómetro de absorção atómica Leco, AMA-254.

Tabela II.3.1. Condições usadas na determinação de mercúrio com o espectrofotómetro de absorção atómica Leco, AMA-254.

Caudal do oxigénio	200 mL min ⁻¹
Temperaturas:	
temperatura de desidratação da amostra	120 °C
temperatura decomposição da amostra	750-800 °C
temperatura do catalisador	550 °C
temperatura da câmara da amálgama	120 °C
temperatura da amálgama durante aquecimento	850 °C
temperatura das câmaras de leitura	120 °C
Tempos:	
tempo de secagem para amostra sólida	10 s
tempo de secagem para amostra líquida	70 s/100 µL
tempo de decomposição	150 s
tempo de espera do sinal	45 s
tempo de leitura	56 s

2.3.2. Controlo e garantia da qualidade analítica

Uma das medidas de controlo e de garantia da qualidade da metodologia aplicada é a utilização de materiais de referência para validação dos métodos de digestão e de determinação de mercúrio (Horvat, 1999; Quevauviller, 1996).

A escolha do material de referência foi efectuada de acordo com o tipo de matriz em análise (sedimento e biota). Na Tabela II.3.1. apresentam-se os materiais de referência indicando os respectivos valores certificados e os valores obtidos na análise e quantificação do mercúrio.

Tabela II.3.1. Materiais de referência com valores certificados e respectivos valores obtidos para o mercúrio total.

	CRM 277 <i>Sedimento estuarino</i>	NIST-SRM 1575a <i>pine needles</i>	TORT-2 <i>Hepatopâncreas de lagosta</i>	CRM 463 <i>Tuna</i>
	Hg total ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg total (ng g^{-1})	Hg total ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg total ($\mu\text{g g}^{-1}$)
<i>Valor certificado</i>	1,77 \pm 0,03	39,7 \pm 0,9	0,27 \pm 0,03	2,85 \pm 0,08
<i>Valor obtido</i>	1,75 \pm 0,2 n= 17	39,2 \pm 0,3 n = 12	0,27 \pm 0,04 n = 132	2,82 \pm 0,09 n = 106

Valor médio "as Hg" \pm desvio padrão;

A determinação de mercúrio com a metodologia associada ao equipamento Leco AMA-254 apresentou valores que não diferem significativamente dos valores certificados. Os resultados finais das concentrações de mercúrio são apresentados considerando a taxa de recuperação obtida para o material certificado de referência.

2.3.3. Apresentação dos resultados finais

Os resultados finais da análise de mercúrio representam valores médios de replicados com um mínimo cada de quatro leituras de absorvância por amostra com um coeficiente de variação geralmente igual ou inferior a 5%. As concentrações de mercúrio expressas em termos de $\mu\text{g g}^{-1}$, referem-se a massa de mercúrio por massa de peso seco da amostra, salvo alguns casos específicos em que, para efeitos de comparação com os valores legislados (no caso de tecidos biológicos), alguns dos resultados foram transformados, para massa de mercúrio por “peso fresco” de tecido, através de cálculo com aplicação do valor da percentagem de humidade obtido para a respectiva amostra.

Na apresentação dos resultados finais das concentrações de mercúrio foi considerada a taxa de recuperação obtida para o material certificado de referência, tendo sido efectuada a conversão de acordo com a taxa de recuperação obtida em cada processamento da amostra, dividindo o valor obtido na análise do mercúrio da amostra, pela razão entre o valor obtido na análise do material de referência e o respectivo valor certificado.

CAPÍTULO III - TREE RINGS, *POPULUS NIGRA L.*, AS MERCURY
DATA LOGGER IN AQUATIC ENVIRONMENTS: CASE
STUDY OF AN HISTORICALLY CONTAMINATED
ENVIRONMENT

Tree Rings, *Populus nigra* L., as Mercury Data Logger in Aquatic Environments: Case Study of an Historically Contaminated Environment

S. N. Abreu^a, A. M. V. M. Soares^b, A. J. A. Nogueira^c, F. Morgado^d.

CESAM & Department of Biology, University of Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

Tel. +351 234 370 790; Fax +351 234 426 408

^a siz@ua.pt, ^b asoares@ua.pt, ^c antonio.nogueira@ua.pt, ^d fmorgado@ua.pt

(*Bull Environ Contam Toxicol* (2008) 80: 294-299)

Abstract

In this study, a tree (*Populus nigra* L.) has been presented as data logger of mercury release in aquatic environments using tree rings chemistry to provide chronological historical monitoring of mercury discharge from a chlor-alkali industrial effluent to a coastal lagoon. Tree rings (*Populus nigra* L.) as mercury data logger is suggested by mercury accumulation trends in the tree rings reflecting the industrial plant capacity increments in the early stages of mercury discharges and enhancing industrial plant controls to minimize mercury discharges in the last two decades after imposed global regulations on mercury emissions.

Keywords: aquatic environment, data-logger, dendrochemistry, mercury, tree rings

Widespread environmental and health problems have been related to mercury (Hg) (Pacyna et al., 2001; Bindler 2003; Horvat et al., 2003; Braune et al., 2005; OJEU 2005; OJEU 2006) since the outbreak of the methylmercury poisoning – Minamata disease (Kudo et al., 1998; Ekino et al., 2007). Anthropogenic emissions have contributed with two thirds of present global Hg cycle, elevating the global concentration four to five times the background levels (Wihlborg and Danielson, 2006). Environmental transport and

distribution of Hg on a global scale involves the atmospheric circulation of elemental Hg vapour. On a local scale, apart from atmospheric deposition, it depends mainly on both natural and anthropogenic sources of Hg and subsequent methylation of inorganic Hg (Boening 2000).

Data on historical trends of atmospheric Hg deposition, especially on the natural conditions preceding the pollution advent, represent an important gap in the understanding of large-scale Hg pollution and Hg global cycle (Bindler 2003). Paleo-studies involving natural archives such as peat bogs, glacial ice and surface sediments have been used to fulfil this critical gap (Bindler 2003).

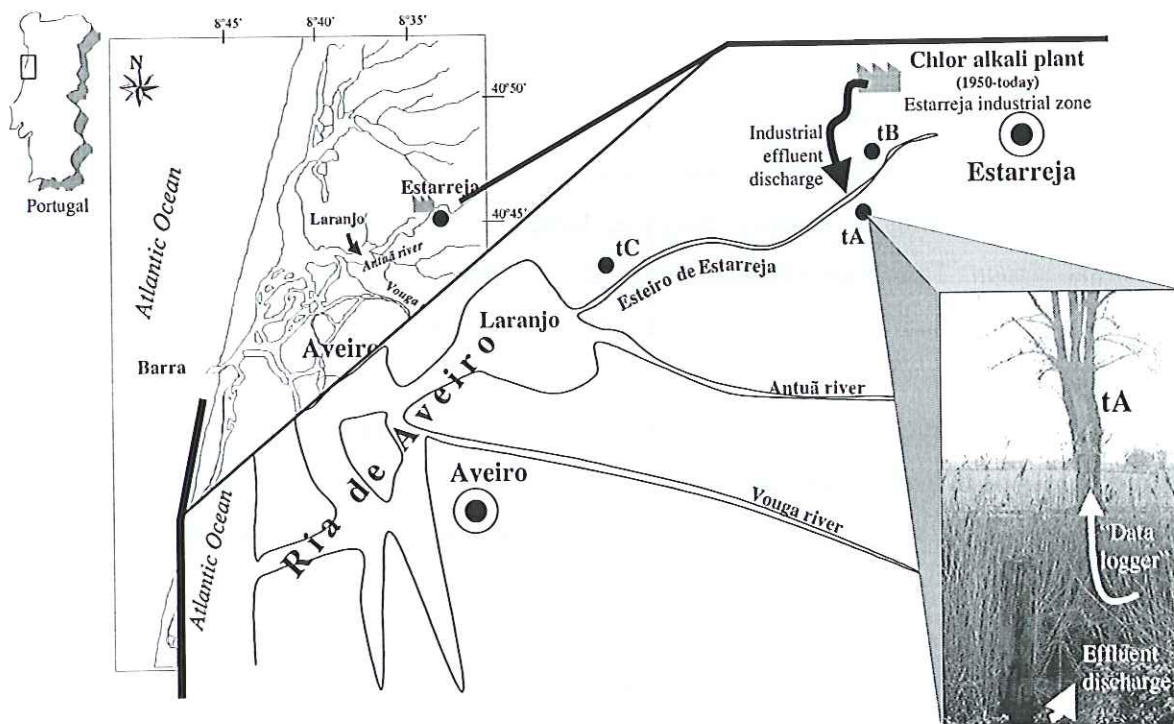


Figure 3.1. Study site and trees (tA, tB, and tC) location.

In this study, tree rings were used to obtain a retrospective environmental record of mercury discharges into an historically chlor-alkali mercury contaminated estuarine lagoon (Ria de Aveiro Portugal). Tree cores were taken from *Populus nigra*, located along the channel that receives the anthropogenic mercury from the industrial effluent. *P. nigra* is a specie of soft wood that prefers moist, sandy, rich soils. *Populus nigra* roots are highly invasive towards waters sources, thus they are commonly found along the borders of streams, ponds, and lakes. The most significant pathway is through the root system (Berger et al., 2004) and it is assumed that when annual rings lose function it retains and isolates a chronological record of current sap chemistry (Momoshima and Bondietti 1990). The basic assumption in tree rings chemistry (dendrochemistry) is the stability of the element distribution associated with no significant mobility after storage (Nabais et al., 1999).

Tree rings have already been used as bio-geochemical tracers to map the extent of environmental pollution due to anthropogenic emissions by the different countries (Tommasini et al., 2000) and several studies have used dendrochemistry to address environmental pollution from no point sources (Satake et al., 1996; Watmough 1997; Orlandi et al., 2002; Bindler et al., 2004; Witte et al., 2004; Becner et al., 2004). However, only a few studies have directly related trace metal levels in wood to changes in metal emissions from suspected pollution sources (Watmough 1997) and comparison with data from other natural archives such as surface sediments have not been made yet to our knowledge.

Ria de Aveiro (Portugal) is an estuarine lagoon that has been receiving anthropogenic mercury from a chlor-alkali plant for the last 50 years (Pereira et al., 1998a; Pereira et al., 1998b) (Fig. 1). The chlor-alkali plant, the main anthropogenic mercury contamination source in Ria de Aveiro, started its activity in the early decade of 1950 (A - Fig. 2a) presenting different stages and phases of production increments (Fig. 2a) (Pereira 1997; OSPAR 2005) and being responsible for the main Portuguese chlor and caustic production (OSPAR 2005).

Following impositions from regulations on mercury emissions (e.g. PARCON Decision 80/2) (Yarime 2003), the industrial plant has introduced time-sequential (Fig. 2.a) minimization measures (B and C) to reduce the continuous discharge of mercury into the environment (Pereira 1997; Pereira et al., 1998a), including replacement of all mercury-

based technology (D) by membrane cells (a free-mercury technology) in January 2002 (OSPAR 2005). Those measures contributed to a large decrease in mercury losses through product, wastewater and air by the chlor-alkali industry (Fig. 2b) after the middle decade 1980-1990 (Yarime 2003; OSPAR 2005). Mercury discharges have been tracked in sediment cores (Pereira 1997; Pereira et al., 1998a; Ramalhosa et al., 2006) presenting a peak around 1985 and decreasing until today in the surface sediments (Fig. 2c). Aquatic organisms also present an indication of mercury environmental contamination decrease in the last two decades (Lucas et al., 1986; Abreu et al., 2000).

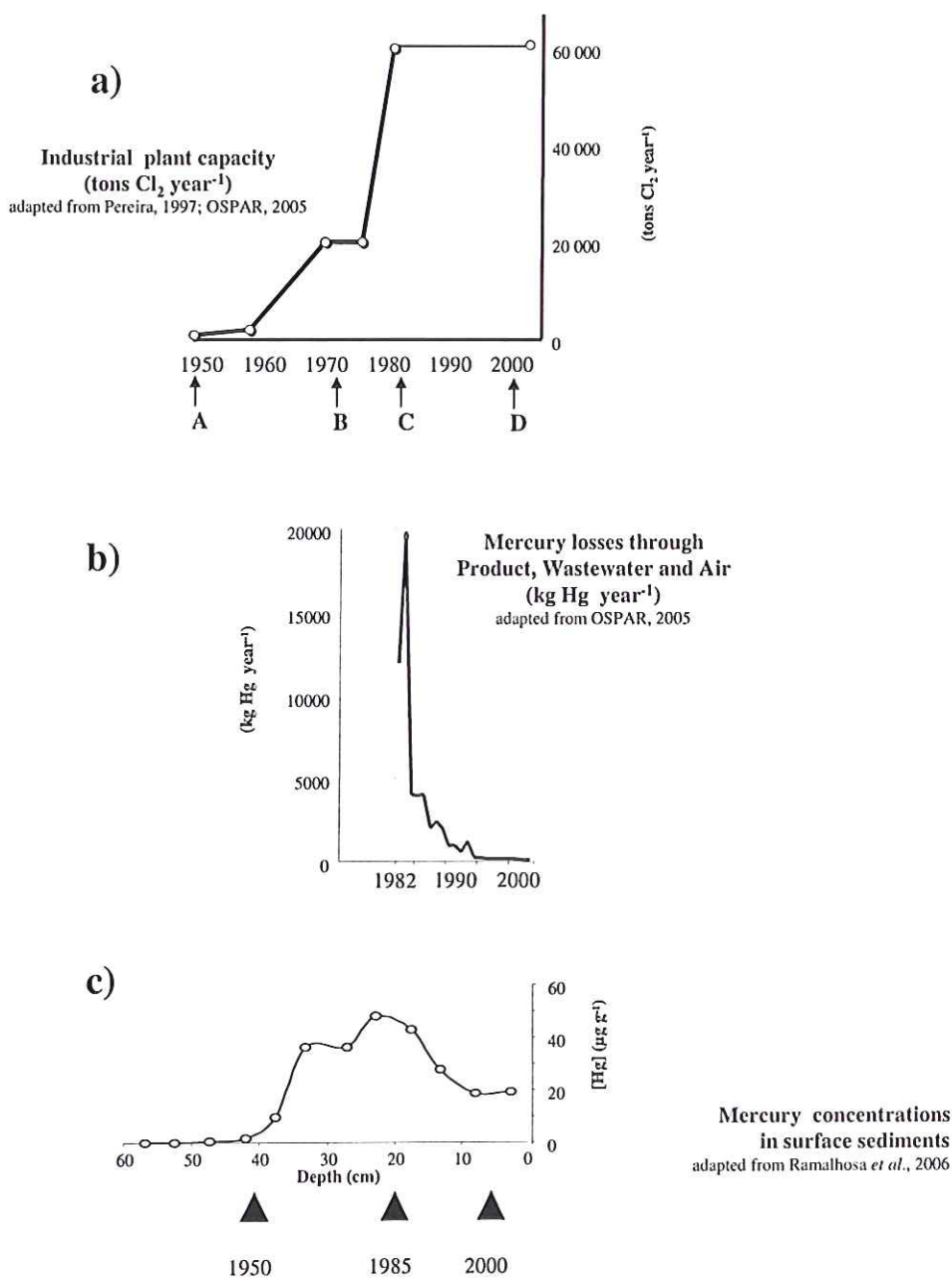


Figure 3.2. a) Industrial plant production (tons Cl₂ year⁻¹), date of unit implant (A) and moments (B and C) of changes introduced into the industrial plant system to minimize mercury discharges, and (D) last changes to membrane cells technology (January 2002) adapted from Pereira, 1997; OSPAR, 2005. b) Mercury losses through product, wastewater and air by the chlor-alkali industry in Portugal, after the imposed regulations on mercury emissions (adapted from OSPAR, 2005). c) Pattern of mercury discharges obtained from mercury concentrations in surface sediments (adapted from Ramalhosa, 2006).

Materials and Methods

Three trees (*Populus nigra* L.) located along the margins of the channel (Esteiro de Estarreja) that receives the industrial effluent have been selected to sample the tree cores (Fig. 1). Cores were taken at breast height (~1.5m) from each tree using a stainless steel borer (5 mm in diameter and 300 mm in length). One of the trees (tA) has about 90cm in diameter at breast height and it is located in the left margin directly in front (<5m) of the industrial effluent discharge point (Fig. 1). The second tree (tB) has about 70cm in diameter at breast height and is located in the right margin 100m upstream of the industrial effluent discharge point. The third tree (tC) has about 50cm in diameter at breast height and it is located in the right margin 1.6km downstream the discharge point.

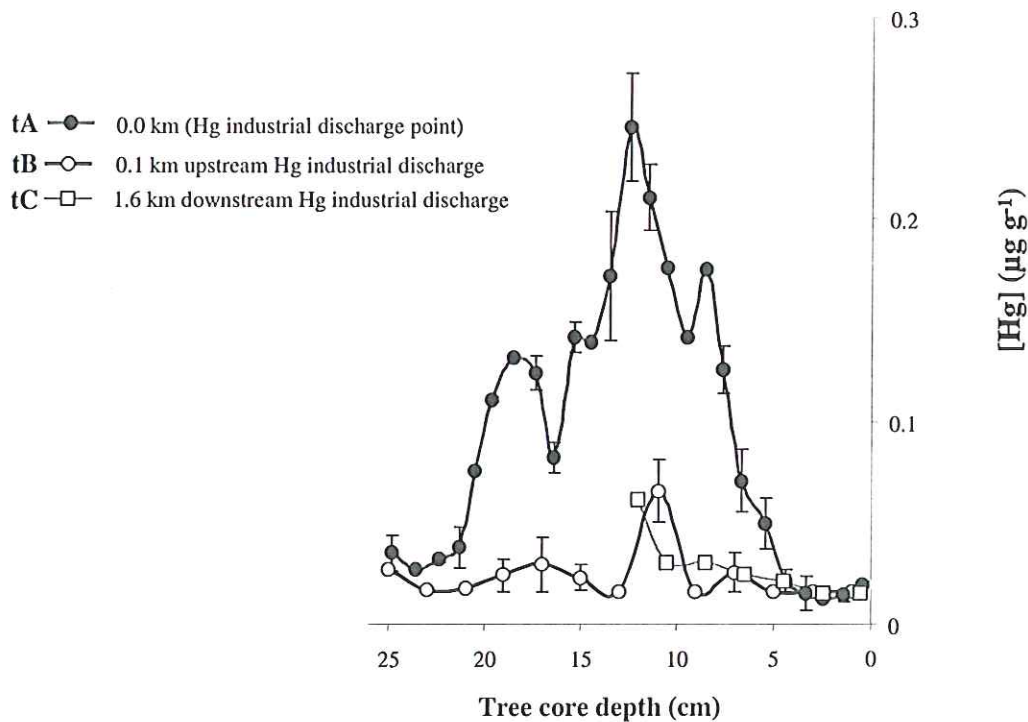
Cores were sectioned into 1cm segments corresponding to ~2-years intervals, a shorter period compared to other studies presenting 5-years intervals (Berish and Ragsdale 1985). Mercury was quantified in every segment using atomic absorption spectrometry after integrated pyrolysis of samples (without pre-treatment). Compared to traditional methods of analysis, such as atomic absorption or atomic fluorescence where a time consuming sample pre-digestion process would lead towards a mercury dilution in the digested sample solution, this methodology quantifies mercury directly from the combusted sample, requiring small amounts of sample, thus allowing the direct quantification of mercury in shorter core segments, meaning mercury quantification in shorter time periods.

Replicate blanks and the reference material NIST-SRM 1575a $39.7 \pm 0.9 \text{ ng g}^{-1} \text{ Hg}$, on a dry basis) were analysed for quality control purposes. Precision of the measurements, determined on replicate digestions of SRM ranged between 2.2% and 5.6%. Results, expressed on a dry weight basis, were reported considering corresponding precision percentage obtained in reference material analysed at same time.

Results and Discussion

Mercury concentrations in the annular tree rings obtained in the three trees (tA, tB and tC) show different mercury accumulation levels but similar trends (Fig. 3). Mercury

accumulation levels depend on the tree location, exhibiting tA (on the opposite margin directly in front of the industrial effluent discharge point) comparatively higher mercury



concentrations.

Figure 3.3. Mercury concentration in the annular tree rings sampled from the three trees: tA – directly in front of the effluent discharge, tB – 0.1 km upstream the effluent discharge, and tC – 1.6 km downstream the effluent discharge.

Cores sampled upstream discharge point (tB) reflect lower mercury accumulation, probably associated with tidal reflux reflecting the fraction of metal transport upstream. Cores sampled downstream (tC) indicate mercury dilution away from the discharge point and mercury transport towards the rest of the lagoon. Mercury concentration standard deviations are mainly due to ring growth differentiation occurred during the environmental recording (data logging) period.

Cores sampled in tA (length of approximately 25 cm) corresponds to an annual growth of about 5mm year^{-1} in agreement to the radial grow of *P. nigra* (Helle and Scheser, 2004) therefore reflecting about 50 years of environmental record (Fig.4.a). Mercury

accumulation trends in the tree rings reflect industrial plant capacity evolution trend ($\text{kt Cl}_2 \text{ year}^{-1}$) (Pereira 1997; OSPAR 2005) and chlor-alkali discharge events chronology, enhancing trees as data loggers (Fig. 4).

Mercury concentration in the inner annular tree rings (tA), environmental record – data logging – of first discharges, shows low mercury accumulation ($< 40 \text{ ng g}^{-1}$), followed by an increment of mercury accumulation in the following tree rings, recording the industrial plant capacity increase and subsequent production trend reflecting not only the mercury discharges into the environment but also the minimization measures to reduce the discharge of mercury into the environment, according to the regulations on mercury emissions imposed on the chlor-alkali industry in the early 70's by the Paris Commission and the European Community (Yarime 2003). The industrial plant begun producing chlor and caustic soda in the early decade of 1950, increasing its production up $20,000 \text{ tons year}^{-1}$ in the decade of 1970, when the discharge system it was changed from an open effluent (until 75) to a closed pipe work system having the outlet almost directly ($< 5\text{m}$) to the root environment of “our data logger” - tA.

Tree rings also record the industrial plant production increment up to $60,000 \text{ tons year}^{-1}$ in the early 80's, leading mercury concentration in annular rings from $0.02\text{-}0.03 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ to $0.22\text{-}0.28 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$.

A decrease in the tree ring mercury accumulation it was also recorded reflecting the decrease in mercury discharge into the environment due to the implement of new technology such as close circuits and hermetic cells (in the 80's), and diaphragm membranes (in the 90's) (Pereira 1997), until the last replacement by membrane cells in January 2002 (OSPAR 2005). The peak of mercury in the annular tree rings occurs in central segments of the tree cores and it is consistent with the increase of production in the 80's, showing the peak of mercury discharge into the environment before last minimization measures have taken place.

Overall data obtained in the tree cores show similar trends representing chronological historical record of anthropogenic mercury discharge into the estuarine lagoon. In the period before the 80's, mercury concentration in the tree rings and data on industrial plant production presented a strong positive correlation ($p < 0.001$), supporting the use of *P. nigra* as mercury "data loggers". After the 80's, mercury concentration in the tree rings also reflects similar trend to mercury losses through product, wastewater and air (Fig. 2b) (OSPAR 2005).

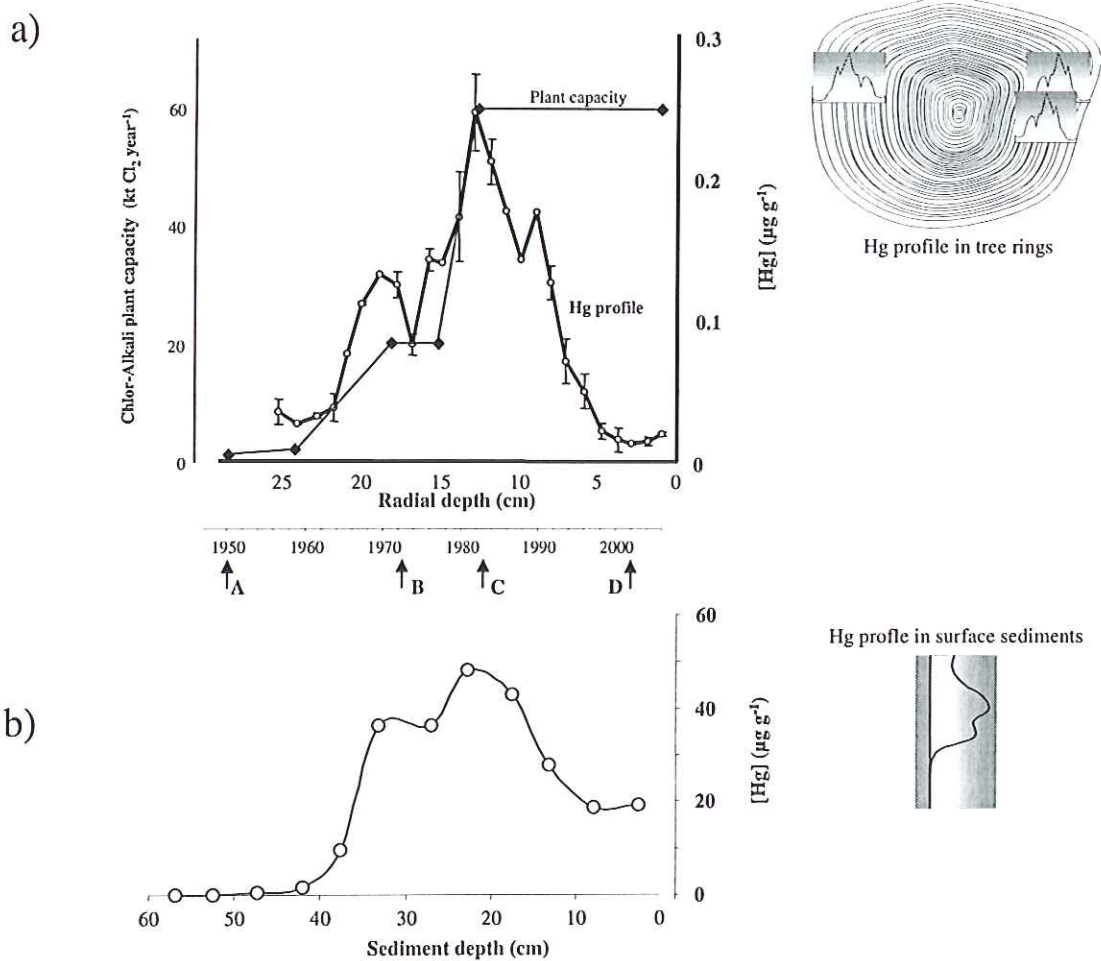


Figure 3.4. a) Mercury concentration in the annular tree rings (tA) sampled from the tree directly in front of the effluent discharge comparing to industrial plant capacity and b) mercury concentration in the sediment cores sampled at the end of the channel (~ 4km downstream) that receives the effluent discharge.

Mercury concentration in the annular tree rings also follows the pattern obtained in sediment cores (sampled at the end of the channel that receives the effluent discharge – about 4km downstream) (published data from Ramalhosa et al., 2006).

The similar pattern (Fig. 4b) enhances annular tree rings as “data loggers”, despite mercury concentration in the tree rings being 25 times lower than mercury concentration in the sediment core.

The pronounced decrease of mercury concentration obtained in the annular rings for the last decade could represent a more reliable record of the mercury discharge (point source) into the environment, contrary to the moderate decrease observed in the first layers from the sediment core, where the arrival of contaminated particles from upstream areas may postpone the decrease of mercury in the surface sediments.

Considering the pattern of mercury accumulation in all tree cores and the decrease of the trees mercury burden in relation to the distance from the industrial effluent discharge point, it is assumed that mercury present in the samples has mostly entered via the root system.

Some authors have stated that tree-ring chemistry is not a useful indicator and some tree species are better spatial indicators of pollution than historical monitors (Watmough 1997; Nabais et al., 1999) due to radial translocation of elements, radial tendencies in element concentration from pith to bark, physiological differences between heartwood and sapwood, or even bias soil uptake (Bindler et al., 2004). Therefore, the adequacy of dendrochemistry to historical environment monitoring seems to be strongly dependent on the choice of the tree specie and on the elements to be studied. Although these uncertainties associated with the method, Becnel et al., (2004) found a good correlation (0.85 ± 0.03) between Hg in tree rings and lichens and there are many reports published where the analysis of tree-ring chemistry have been successfully used to reconstruct trace-metal deposition from a variety of sources (Watmough 1997; Orlandi et al., 2002; Witte et al., 2004), using tree rings (Orlandi et al., 2002) or tree bar pockets (Satake et al., 1996).

The shared trends between trees suggest that variations in Hg are related to factors common to all trees and could potentially reflect changes in local environmental conditions. Mercury accumulation in the annular rings is able to mimic not only historical discharges of mercury, enhancing trends and peaks of production, but also tracks the moments of the industrial plant efforts controlling mercury discharges. The analysis of the

time-trend of mercury in the tree rings (before introduction of new technologies in the 80's) is in agreement with data on industrial plant production, therefore representing chronological historical trend record of anthropogenic mercury discharge into the aquatic environment (the estuarine lagoon Ria de Aveiro). Mercury concentration in the tree cores agrees with published results on mercury concentration in sediment core profiles, indicating the 80's as the peak of anthropogenic mercury discharges into the lagoon, followed by a sudden decrease until present, and also reflecting and "recording" the industrial plant efforts in order to minimize mercury discharges.

Contrary to sediment core profiles (exposed to dynamic resuspension and sedimentation processes), annular tree rings present a chronological reliable matrix providing support to historical recording of environmental contamination.

Despite a more detailed understanding of nutrient and metal cycling in trees is needed (Smith 2003), the application of dendrochemistry in environmental monitoring and its use as environmental recorders – data loggers acting trees as "quite sentinels" – seem to be promising, not only to monitor historical changes in soil and atmospheric pollution but also to record trends of metal discharges into the aquatic environment provided the specificity of the tree location.

References

- Abreu SN, Pereira E, Vale C, Duarte AC (2000) Accumulation of mercury in sea bass from a contaminated Lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Mar Pollut Bull* 40(4): 293-297
- Becnel J, Falgeust C, Cavalier T, Gauthreaux, Landry F, Blanchard M, Beck MJ, Beck JN (2004) Correlation of mercury concentrations in tree core and lichen samples in southeastern Louisiana. *Microchemical Journal* 78: 205-210
- Berger TW, Köllensperger G, Wimmer R (2004) Plant-soil feedback in spruce (*Picea abies*) and mixed sprucebeech (*Fagus sylvatica*) stands as indicated by dendrochemistry. *Plant and Soil* 264: 69-83

- Bindler R (2003) Estimating the natural background atmospheric deposition rate of mercury utilizing ombrotrophic bogs in Southern Sweden. *Environ Sci Technol* 37: 40-46
- Bindler R, Renberg I, Klinder J, Emteryd O (2004) Tree rings as Pb pollution archives? A comparison of $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ isotope ratios in pine and other environmental media. *Sci Tot Environ* 319: 173-183
- Boening DW (2000) Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere* 40: 1335-1351
- Ekino S, Susa M, Ninomiya T, Imamura K, Kitamura T (2007) Minamata disease revisited: An update on acute and chronic manifestations of mercury poisoning. *J Neurol Sci* 262: 131-144
- European Commission (2001) Integrated Pollution Prevention and Control (IPPC), Chlor-alkali manufacturing industry.
- Helle G, Scherer GH (2004) Beyond CO_2 -fixation by Rubisco – an interpretation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant, Cell and Environment* 27: 367-380
- Horvat M, Nolde N, Fajon V, Jered V, Logar M, Lojen S, Jacimovic R, Falnoga I, Liya Q, Faganeli J, Drobne (2003) Total mercury, methyl mercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China. *Sci Total Environ* 304: 231-256
- Kudo A, Fujikawa Y, Miyahara S, Zheng J, Takigami H, Sugahara M, Muramatsu T (1998) Lessons from Minamata mercury pollution, Japan after a continuous 22 years of observation. *Water Sci Tech* 38 (7): 187-193
- Lucas MF, Caldeira MT, Hall A, Duarte AC, Lima C (1986) Distribution of Mercury in the sediments and fishes of the lagoon of Aveiro, Portugal. *Wat Sci Tech* 18: 141-148
- Momoshima N, Bondietti EA (1990) Cation binding in wood: Applications to understanding historical changes in divalent cation availability to red spruce. *Can J For Res* 20: 1840–1849
- Nabais C, Freitas H, Hagemeyer J (1999) Dendroanalysis: a tool for biomonitoring environmental pollution? *Sci Tot Environ* 232: 33-37
- OJEU (2005) Directive 2004/11/EC of the European Parliament and of the Council, Official Journal of the European Union, 26.1.2005: L23/3 – L23/15

- OJEU (2006) Directive 2006/11/EC of the European Parliament and of the Council, Official Journal of the European Union, 4.3.2006: L64/52 – L64/58
- Orlandi M, Pelfini M, Pavan M, Santilli M, Colombini MP (2002) Heavy metals variations in some conifers in Valle d'Aosta (Western Italian Alps) from 1930 to 2000. *Microchemical Journal* 73: 237-244
- OSPAR Commission (2005) Mercury losses from the chlor-alkali industry (1982-2003), Hazardous Substances Series.
- Pacyna EG, Pacyna JM, Pirrone (2001) European emissions of atmospheric mercury from anthropogenic sources in 1995. *Atmospheric environment* 35: 2987- 2996
- Pereira ME (1997). Distribuição, reactividade e transporte do mercúrio na Ria de Aveiro, tese de Doutoramento [Distribution, reactivity and transport of mercury in Ria de Aveiro, PhD thesis], Departamento de Química, Universidade de Aveiro.
- Pereira ME, Duarte AC, Millward GE, Abreu SN, Vale C (1998a) An estimation of industrial mercury stored in sediments of a confined area of the lagoon of Aveiro (Portugal). *Wat Sci Tech* 37 (6-7): 125-130
- Pereira ME, Duarte AC, Millward GE, Vale C, Abreu SN (1998b) Tidal export of particulate mercury from the most contaminated area of Aveiro's Lagoon, Portugal. *Sci Tot Environ* 213: 157-163
- Ramalhosa E, Pato P, Monterroso P, Pereira E, Vale C, Duarte AC (2006) Accumulation versus remobilization of mercury in sediments of a contaminated lagoon. *Mar Pollut Bull* 52: 353-356
- Satake K, Tanaka A, Kimura K (1996) Accumulation of lead in tree trunk bark pockets as pollution time capsules. *Sci Tot Environ* 181: 25-30
- Smith KT (2003) Dendrochemistry of base cations in red spruce: the fallacy of the passive recorder, *Eos. Trans. AGU*, 84(46) Fall Meet. Suppl., Abstract B12F-04.
- Tommasini S, Davies GR, Elliott T (2000) Lead isotope composition of tree rings as biogeochemical tracers of heavy metal pollution: a reconnaissance from Firenze, Italy. *App Geoch* 15: 891-900
- Watmough SA (1997) An evaluation of the use of dendrochemical analyses in environmental monitoring. *Environ. Rev./Dossiers environ* 5(3-4): 181-201

- Wihlborg P and Danielson A (2006) Half a century of mercury contamination in lake Vänern (Sweden). *Water Air Soil Pollut* 170: 285-300
- Witte kM, Wanty RB, Ridley WI (2004) Engelmann Spruce (*Picea engelmannii*) as a biological monitor of changes in soil metal loading related to past mining activity. *App Geoch* 19: 1367-1376
- Yarime M (2003) From end-of-pipe technology to clean technology: effects of environmental regulation on technological change in the chlor-alkali industry in Japan and Western Europe. PhD thesis, University of Maastricht.

CAPÍTULO IV - LONG TERM VALIDATION OF A MODEL
EVALUATION OF MERCURY ACCUMULATION IN
SEDIMENTS AND RECOVERY TIME IN A COASTAL
LAGOON (RIA DE AVEIRO, PORTUGAL)

**Long-term Validation of a model evaluation of Mercury Accumulation in
sediments and Recovery time in a coastal lagoon
(Ria de Aveiro, Portugal)**

Abreu S.N., Soares A.M.V.M., Morgado F., and Nogueira A.J.A.
CESAM & Department of Biology, University of Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal
Tel. +351 234 370 972; Fax +351 234 426 408; siz@ua.pt
(to be submitted to *Water Science & Technology*)

Abstract

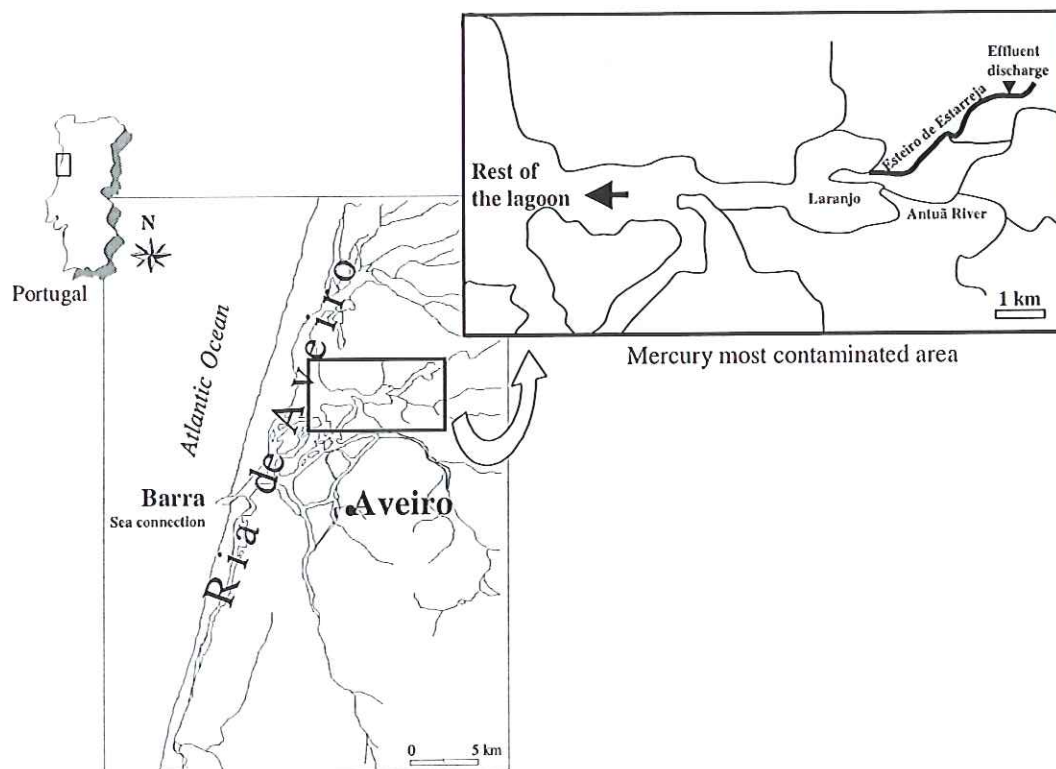
Long-term validation is achieved using field data obtained twelve years after the use of a mathematical model (ECoS) to evaluate mercury accumulation in sediments and recovery time in a coastal lagoon. Field data indicate a recovery in surface sediments mercury showing mercury concentrations decreasing to levels predicted by the mathematical model. As predicted by the model, field data suggests a dilution/lixiviation process in the coarse fraction of surface contaminated sediments in conjugation with a deposition/resuspension downstream movement of the fine sediments (<63 μ m) as the main via of mercury and contaminated particles towards the rest of the lagoon. However, according to field data, the downstream movement of mercury maximums along the channel (that directly receives the industrial effluent discharge) appear to be slower than model evaluation as predicted. In spite of that, long-term validation has enhanced model evaluation has a useful toll predicting “future scenarios” concerning mercury contamination and recovery time.

Keywords: aquatic environment, ECoS, estuarine, long-term validation, matematic model

Introduction

Model evaluations are often used to provide useful information on the process of the contaminant usually showing sources, sinks and the equilibrium or non-equilibrium state of the contaminant process, estimating future development of pollution (Rajar et al., 2007). Results obtained from measurements, modelling and mass balance calculation have been used for simulation of future scenarios often based on policy target objectives.

Ria de Aveiro (Fig. 4.1) is a coastal lagoon that has been receiving mercury discharges



from a chlor-alkali industrial plant since 1950.

Figure 4.1. Study area (Ria de Aveiro), enhancing the mercury most contaminated area including Esteiro de Estarreja, the channel that receives the effluent discharge.

During the last two decades, several studies on mercury accumulation in the lagoon (Lucas et al., 1986; Hall et al., 1987; Hall et al., 1988; Pereira et al., 1995; Pereira et al., 1998a; Pereira et al., 1998b), including a mathematical model evaluation (Abreu et al., 1998) using ECoS (Varney, 1992, Harris et al., 1993), have enhanced a mercury contamination concern situation. The model evaluation (performed in 1995) was used to predict the accumulation of mercury in the sediments (in the subsequent five decades) and the lagoon recovery time (Abreu et al., 1998) applying the commercialised programme ECoS. The model had been calibrated using field data obtained up to 1995 and validated applying mercury contamination records obtained in 1994 (Abreu et al., 1998) (Fig. 4.2).

In this study, a long-term validation has been attempted comparing model evaluation – “the future scenario” established more than twelve years ago – and recent field data on mercury contamination in the previous evaluated surface sediments.

Methods

Field data (2007): Samples were obtained in November 2007 from surface sediments along the previous evaluated Esteiro de Estarreja channel that receives the industrial effluent discharge (Abreu et al., 1998). Sediment samples were air dried for 3 days and oven dried at 50°C for 1 day. After drying the sediments were disaggregated and dry sieved using 1mm stainless sieve. Each sample was divided in two sub-samples: one for mercury analysis in sediment total granulometric fraction and the second sieved using a 63µm sieve and used for mercury analysis in the fine (<63µm) granulometric fraction; triplicates of 5 to 75 ng of total sediment fraction and 5 to 15 ng of the fine fraction were weighted for mercury quantification. Mercury was quantified by atomic absorption spectrometry after integrated pyrolysis of samples (without pre-treatment) using a mercury analyser model Ama 524 (Lecos). Replicate blanks and the reference material NIST-SRM 39.7 ± 0.9 ng g⁻¹ Hg, on a dry basis) were analysed for quality control purposes. Precision of the measurements, determined on replicate of SRM ranged between 1.3% and 4.7%.

Old Field data (1994): Mercury concentrations field data obtained in 1994 (Abreu et al., 1998) are also presented for comparison.

Model data: model evaluation was performed in 1995 and published in 1998 (Abreu et al., 1998)

Results

Mercury concentrations in surface sediments collected along Esteiro de Estarreja in 2007 are shown in Figure 2, where recent data is compared against previous field data on mercury contamination (1994) and model evaluation (1995) adapted from Abreu et al., 1998.

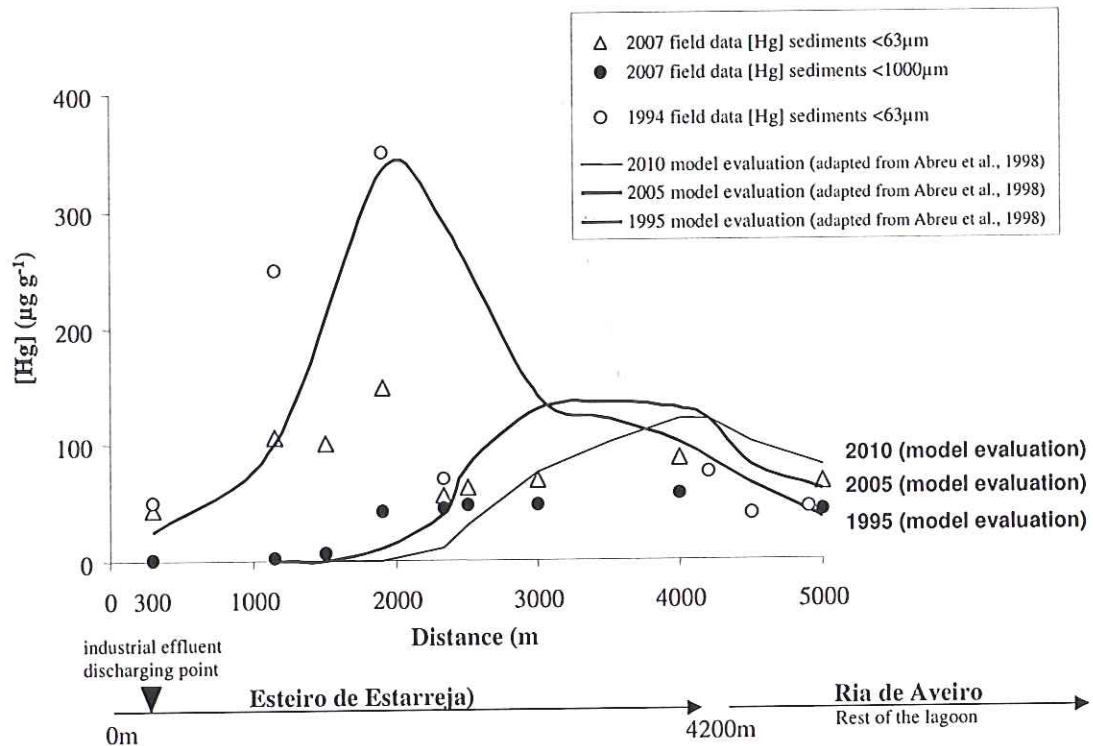


Figure 4.2. Field and model data of mercury concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$) in surface sediments along Esteiro de Estarreja, the channel that receives the industrial effluent discharge.

In the beginning of the channel, close to the effluent discharge (300m), surface sediments $<1000\mu\text{m}$ collected in 2007 show a relevant decrease in mercury concentration from

around $50\mu\text{g g}^{-1}$ to $1.7\mu\text{g g}^{-1}$; while the fine sediments $<63\mu\text{m}$ (less than 1% of total granulometric fraction in the sample) keep track of the 1994's field contamination records showing values of $47\mu\text{g g}^{-1}$ mercury concentration. In the following segment of the channel, as predicted by the model evaluation in 1995, the peak of mercury along the channel has moved downstream decreasing mercury concentrations from a maximum of $350\mu\text{g g}^{-1}$ to values around $60\mu\text{g g}^{-1}$ indicating a decrease in mercury contamination but not reaching the evaluated decrease down to $1\mu\text{g g}^{-1}$. This fact might have been related to the model running set conditions conditioning to zero mercury discharges from the industrial effluent since 1995 (Abreu et al., 1998). However, even though the industrial plant has reduced mercury discharges, the conversion to cell technology (mercury free) occurred only in 2002. Residual mercury discharges and occasional releases of contaminated particles from the inside of the industrial pipeline may explain the residual tail of mercury contamination and the recovery time delay. The recovery state is sustained by last decade studies (Abreu et al., 2000; Ramalhosa et al., 2001; Monterroso et al., 2003; Pereira et al., 2006; Abreu et al., 2008) indicating a decrease in mercury contamination.

Overall field data indicate a recovery in surface sediments mercury showing mercury concentrations decreasing near levels predicted by the mathematical model. Field data suggests a dilution/lixiviation process in the coarse fraction of surface contaminated sediments in conjugation with a deposition/resuspension downstream movement of the organic matter enriched fine sediments ($<63\mu\text{m}$) as the main via of mercury associated to contaminated particles towards the rest of the lagoon.

The downstream movement of mercury maximums along the channel (that directly receives the industrial effluent discharge) appear to be slower than model evaluation as predicted. Therefore, recovery time appears to be longer even though mercury concentrations in the last segment of the channel are in agreement with model data evaluation.

Long-term validation has enhanced model evaluation has a useful toll predicting "future scenarios" concerning mercury contamination and recovery time. As expected, total matches would be hard to be achieved not only by model limitations but also by intrinsic field physical and chemical changes ruled by transitory equilibriums states.

References

- Abreu S.N, Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 1998. The use of a mathematical model to evaluate mercury accumulation and mercury recovery time in a coastal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Water Science and Technology*, 37 (6-7): 33-38.
- Abreu S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2000. Accumulation of mercury in sea bass from a contaminated Lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Marine Pollution Bulletin*, 40(4): 293-297.
- Abreu S.N., Soares A.M.V.M., Nogueira A.J.A., Morgado F., 2008. Tree Rings, *Populus nigra* L., as Mercury Data Logger in Aquatic Environments: Case Study of an Historically Contaminated Environment. *Bulletin of Environmental Toxicology and Contamination*, 80(3): 294-299.
- Hall A., Duarte A.C., Caldeira M.T.M. & Lucas M.F.B., 1987. Sources and sinks of mercury in the coastal lagoon of Aveiro, Portugal. *The Science of the Total Environment*, 64 (1-2): 75-87.
- Hall A., Duarte A.C., Oliveira J.B. & Lucas M.F.B., 1988. Particulate mercury in the coastal area Off Aveiro, Portugal. In: M. Astruc & J. N. Lester [eds], *Heavy Metals in the Hydrological Cycle*,. Publications Division, 507-518.
- Harris, J.R.W., Gorley, R.N. and Bartlett, C.A., (1993). ECoS version 2. An Estuarine Simulation Shell. User Manual. Natural Environment Research Council (N.E.R.C.) 145 pp.
- Lucas M.F., Caldeira M.T., Hall A., Duarte A.C & Lima C., 1986. Distribution of Mercury in the sediments and Fishes of the Lagoon of Aveiro, Portugal. *Water Science and Technology*, 18: 141-148.
- Monterroso P., Abreu S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2003. Estimation of Cu, Cd and Hg transported by plankton from a contaminated area (Ria de Aveiro), *Acta Oecologica*, 24(S1): S351-S357.
- Pereira M.E., Duarte A.C. & Millward G.E, 1995. Seasonal variability in mercury inputs into the Ria de Aveiro, Portugal. *Neth. J. Aquatic Ecology*, 29 (3-4): 291-296.

- Pereira M.E., Duarte A.C., Millward G.E., Abreu S.N. & Reis M.C., 1997. Distribution of mercury and other heavy metals in the Ria de Aveiro. *Química Analítica*, 16 [Suppl1]: S31-S35.
- Pereira M.E., Duarte A.C., Millward G.E. & Abreu S.N., 1998a. Tidal export of particulate mercury from the most contaminated area of Aveiro's Lagoon, Portugal. *The Science of the Total Environment*, 213: 157-163.
- Pereira M.E., Duarte A.C., Millward G.E., Abreu S.N. & Vale C., 1998b. An estimation of industrial mercury stored in sediments of a confined area of the lagoon of Aveiro (Portugal). *Water Science and Technology*, 37 (6-7): 125-130.
- Pereira M.E., Abreu S.N., Coelho J.P., Pato P., Pardal M.A., & Duarte A.C., 2008. Influence of tidal resuspension on seston lithogenic and biogenic partitioning in shallow estuarine systems: Implications for sampling. *Marine Pollution Bulletin*, 56(2): 348-354.
- Ramalhosa E., Monterroso P., Abreu S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2001. Storage and export of mercury from a contaminated bay (Ria de Aveiro, Portugal). *Wetlands Ecology and Management*, 9: 311-316.
- Varney M., (1992). EcoS EstuarineContaminant Simulator. *Nature*. 355, 122.

**CAPÍTULO V - EFFECTS OF MERCURY-BOND FRACTIONS IN THE
ASSESSMENT OF BIOACCUMULATION SEDIMENT
FACTORS (BASF) IN DEMERSAL FISH**

Effects of mercury-bond fractions in the assessment of Bioaccumulation Sediment Factors (BASF) in demersal fish

Abreu S., Soares A.M.V.M., Nogueira A., Morgado F.

CESAM & Department of Biology, University of Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal
Tel. +351 234 370 790; Fax +351 234 372 587; siz@ua.pt
(To be submitted to *Marine Pollution Bulletin*)

Abstract

Bioaccumulation factors are often applied to global and local models predicting the contaminant dynamics including transference to the food chain. Mercury bioaccumulation sediment factors (BASF) use to be defined as the ratio between mercury concentration in biota (C_b) and mercury concentration in the sediments (C_s). The evaluation of this relation is particularly important in epibenthic organisms such as the euryhaline fish *Pomatoschistus microps* interacting directly with mercury contaminated particles in surface sediments. These organisms might bioaccumulate mercury and might be responsible for the transference of contaminant to higher trophic levels. In this study, mercury assimilation in *P. microps* appeared to be not affected by sediment granulometric differences even though BASF values were strongly dependable upon sediment granulometric fraction ($<1000\mu\text{m}$ or $<63\mu\text{m}$) used criterion for mercury quantification.

Keywords: Bioacumulation, granulometry, mercury bioaccumulation, sediment particle size

Introduction

Aquatic organisms may uptake mercury from food, water or sediment and progressively incorporate in the organism; bioaccumulation occurs when assimilation processes are more efficient than metabolic and excretory processes (Huckabee *et al.*, 1979). Bioaccumulation of mercury in demersal fish and subsequent trophic transference to pelagic organisms presents an efficient via of mercury transference from contaminated sediments to the aquatic food chains (Lawrence & Mason, 2001). Continued mercury discharges, human action (e.g. dredging), and resuspension of contaminated sediments promotes mercury uptake to food chains (Sager, 2002). Methylmercury increases (up to 95-99%) in the high trophic levels (Baldi, 1997; Meili, 1997; Boudou & Ribeyre, 1997) due to the reduced excretory efficiency of the organic mercury (Bloom, 1992; Post *et al.*, 1996; Wiener & Spry, 1996; Boudou & Ribeyre, 1997; Joiris *et al.*, 1999) and mercury concentrations use to be positively related to body size, weight and age. Surface sediment grain size has a strong influence on the distribution of mercury (Hissler & Probst, 2006). Mercury bioaccumulation implies an increase of the element concentration inside the organism comparatively to the surrounding medium and the process is the result of direct intake (mainly by gills) and by assimilation (food uptake and ingestion) followed by retention and storage in a tissue or organ (Connell, 1991; Fisher & Reinfelder, 1995; Langstone & Spence, 1995; Mason *et al.*, 1996). Bioaccumulation factors between biota and sediments do not imply an accumulation-specific mechanism but they are indicative of the degree of exposure of the organisms that inhabit polluted sediments (Foster & Wright, 1988). Bioaccumulation and biomagnification along the trophic chain might lead to high concentration of mercury, sometimes exceeding legislation limits ($0.5\mu\text{g g}^{-1}$ or $1.0\mu\text{g g}^{-1}$ - (EC) 221/2002).

Bioaccumulation sediment factors (BASF) use to be defined as the ratio between mercury concentration in biota (C_b) and mercury concentration in the sediments (C_s) (Evans & Engels, 1994; Langston & Spence, 1995). The evaluation of this relation is particularly important in organisms inhabiting the demersal zone and contacting directly with sediments (e.g. *Pomatoschistus microps* L.) because these organisms might bioaccumulate

and might be responsible for the transference of mercury to higher trophic levels (Evans & Engels, 1994; Langston & Spence, 1995).

$$\text{BASF} = \log (\text{Cb/Cs})$$

Mercury concentration in surface sediments generally increases in the small granulometric fraction of the surface sediments, having higher metal concentrations the smaller organic rich particles. Factors such as selective particle feeding (particle nature and size) and biota behaving act control biota-sediment interaction ruling the bioaccumulation processes. Therefore, looking for an interaction between biota and sediment contaminant concentration, which granulometric fraction (of the surface sediments) would be more representative leading to mercury uptake and bioaccumulation?

The common goby *P. microps* L. is a small and slender bodied demersal fish growing up to 6 cm. It inhabits sandy or muddy areas, intertidal with shallow sandy pools and estuaries in summer from the low shore to a depth of approximately 30m and feeding on small crustacean e.g. copepods and amphipods (Picton & Morrow, 2005). *P. microps* has been recommended as a suitable and relevant test organism for ecotoxicological experiments.

Study areas

The study was performed using i) three stations in a mercury contaminated estuarine lagoon (Ria de Aveiro, Portugal) and ii) two stations in a non contaminated reference site Caminha (Minho estuary, Portugal). Ria de Aveiro is located in the Western north coast of Portugal (Fig. 5.1) having a chlor-alkali mercury environmental contamination problem that has been studied by several authors (Hall *et al.*, 1985; Lima, 1986; Lucas *et al.*, 1986; Hall *et al.*, 1988; Pereira *et al.*, 1995; Abreu, 1998; Pereira, 1997; Pereira *et al.*, 1998; Abreu *et al.*, 2000; Válega, 2002; Monterroso *et al.*, 2003). An inside basin (Laranjo) has been estimated to have trapped 90% (about 25 tons) of the total mercury in the contaminated surface sediments (Pereira *et al.*, 1998b), exhibiting levels ranging from around 1 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Pereira, 1997; Ramalhosa, 2002) to 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Hall *et al.*, 1985; Pereira,

1997). In spite of the natural mercury decontamination process has been observed in beginning of the new century, surface sediments along the channel (Esteiro de Estarreja) that receives the industrial effluent have shown hundreds of ppm of mercury. Three sampling stations were selected along a decreasing contamination gradient: C. Bico, P. Aveiro and Barra.

Minho estuary has been considered a mercury non-contaminated reference site (Caminha) and it is located in the North of the Western north coast of Portugal (Fig. 4.1). In this area were chosen two sampling stations: a muddy intertidal zone (C1) and a sandy intertidal zone (C2).

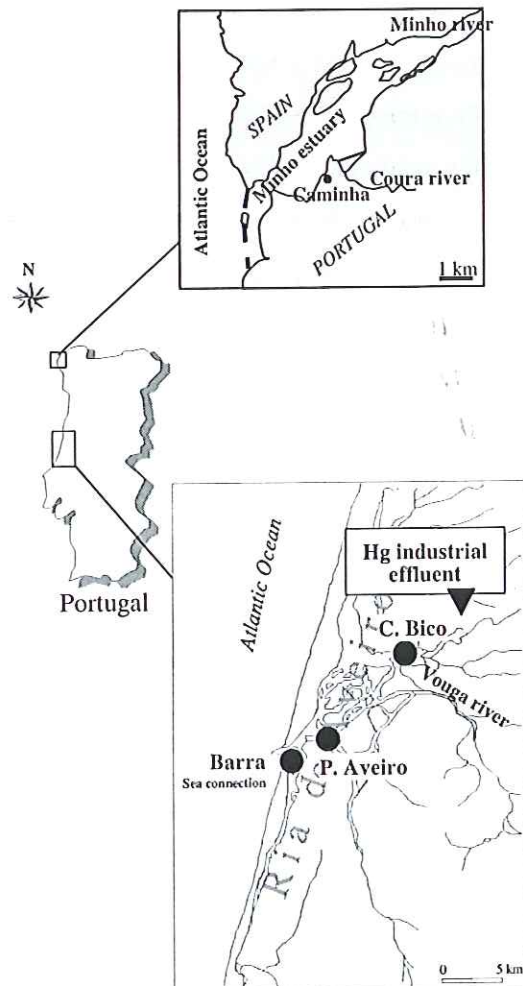


Figure 5.1. Study areas: Ria de Aveiro and Minho estuary.

Material and Methods

Fish were captured using manually operated small trawl nets along the intertidal areas having 70-80cm water column height. *Pomatoschistus microps* specimens were collected, identified, selected and kept alive inside cooler boxes prior arrival to lab. In the lab specimens were individually measured, weighted, and then, frozen and stored below -20°C . Before mercury analysis, samples were lyophilised and weighted.

Surface sediments were collected from the first 5cm surface sediments using a small plastic shovel and stored in previous ultra-cleaned plastic bags. In the lab, the sediments were freeze-dried for 48 to 72h at and then sieved using 1000 μm and 63 μm mesh cleaned sieves. Organic matter determination was obtained by loss on ignition (L.O.I.) under 550°C , during 4 hours.

Mercury quantification was performed in fish and sediments using the atomic absorption spectrometry after integrated pyrolysis of the sample.

Mercury quantification in fish: - in the majority of the cases it was necessary to use the entire specimen lyophilised body due to the reduced mass. Replicate blanks and the certified reference material (CRM) TORT2 $0,27 \pm 0,03 \mu\text{g g}^{-1}$ (Hg, on a dry basis) were analysed for quality control purposes. Precision of the measurements, determined on replicate digestions of CRM was below 5%. Results, expressed on a dry weight basis, were reported considering corresponding precision percentage obtained in CRM analysed at same analytical moment. Results expressed in mass of mercury by fish fresh weight were calculated using body humidity percentage.

Mercury quantification in sediments: - mercury was quantified in both <1000 and <63 granulometric fractions. Replicate blanks and the certified reference material CRM 277 $1.77 \pm 0.03 \mu\text{g g}^{-1}$ (Hg, on a dry basis) were analysed for quality control purposes.

Results and Discussion

Mercury in sediments

Mercury concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) in surface sediments (<1000 and <63 granulometric fractions), mercury ratios between particle fractions ($[\text{Hg}]_{63\mu\text{m}}/[\text{Hg}]_{1000\mu\text{m}}$), organic matter (%) and relative abundance of both sediment granulometric fractions are shown in Figure 5.2.

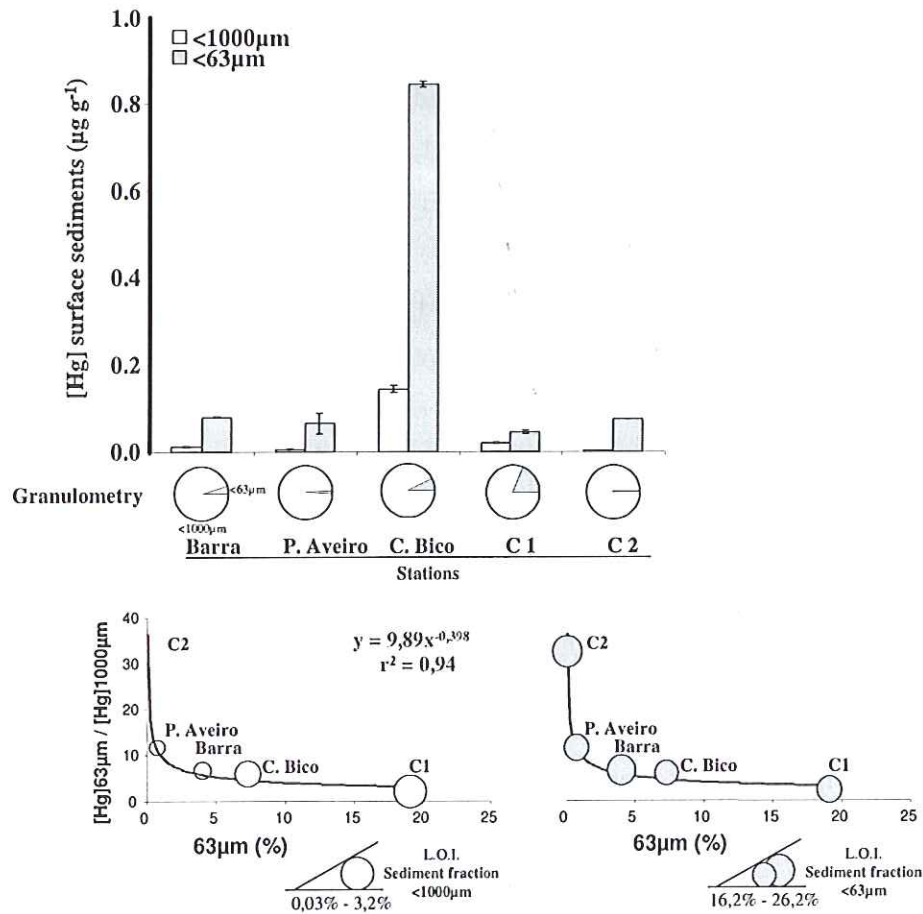


Figure 5.2. Mercury concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$) in surface sediments (<1000 and <63 granulometric fractions), mercury ratios between particle fractions ($[\text{Hg}]_{63\mu\text{m}}/[\text{Hg}]_{1000\mu\text{m}}$), organic matter in <63 μm and <1000 μm fractions (%) and relative abundance of both sediment granulometric fractions (%).

The percentage of fine particles ranged from 0.04 to 19.1%, while organic matter percentage was higher in the fine sediments (16.2 – 26.2%) comparatively to the coarse sediment (0.03 – 3.2%).

Large sediment particles (<1000 μm) show lower mercury concentration (the majority <0.02 $\mu\text{g g}^{-1}$, except C.Bico station around 0.15 $\mu\text{g g}^{-1}$) comparatively to the fine particles fraction. Mercury concentrations in surface fine sediments (<63 μm) were very similar in all stations except in C. Bico due to the proximity to the industrial effluent discharge. Mercury concentrations ranged from less than 0.1 $\mu\text{g g}^{-1}$ (in the majority of the stations), to around 0.85 $\mu\text{g g}^{-1}$ close to the most contaminated area. In the two stations located in Minho estuary, C1 exhibited the highest percentage of fine particles < 63 μm (19,1%) contributing to a comparatively higher presence of mercury in the sample of the coarse sediment <1000 μm . On the other hand, surface sediments in C2 revealed the opposite, presenting the lowest percentage of fine sediments (<1%) but showing higher mercury concentration comparatively to C1 station. Comparing the percentage of the particles < 63 μm and the ratio of total mercury between < 63 μm and < 1000 μm particles, over all data (Fig. 5.2) indicate a power correlation ($y=9.89x^{-0.398}$, $r^2=0.94$) suggesting that mercury might have had to “overcharge” the very scarce fine particles adsorbed to the available surfaces or incorporated into the organic matter, explaining the comparatively higher mercury concentration in C2 fine sediments (< 63 μm), even though fine sediments fraction represents a very small percentage of the total sediments. Data suggests a bias association of mercury to the fine particle, not only favoured by the volume/area ratio of the small particles, providing an increase of surface to mercury adsorption but also due to the higher presence of organic matter in the fine sediment.

Mercury in fish

Captured *P. microps* are juveniles fish showing a power correlation between total length and body weight ($y = 0.0041x^{3.323}$, $r^2=0.81$ and $y = 0.0006x^{3.452}$, $r^2=0.66$; fresh and dry weight, respectively) illustrating a progressive body mass gain during the growing process (Fig. 5.3).

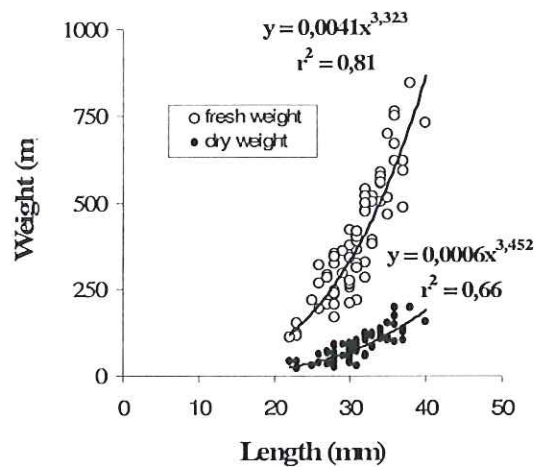


Figure 5.3. Length (mm) and body weight (mg) correlation in juvenile *P. microps*.

Whole body mercury concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) versus fresh weight (mg) in *P. microps* are shown in Fig. 5.4.

Mercury concentrations in *P. microps* exhibited maximums at C. Bico around $0.2 \mu\text{g g}^{-1}$ (0.1 to $0.4 \mu\text{g g}^{-1}$) and ten times lower at Barra ($0.01 \mu\text{g g}^{-1}$) in the opposite station close to the sea entrance. Mercury burden biota appears to be unaffected by body weight but increased towards the anthropogenic mercury source, reflecting environmental contamination, and reflecting environmental contamination in Ria de Aveiro aquatic system.

The two stations (C1 and C2) in Caminha show similar levels and mercury concentrations in fish are slightly lower compared to mercury concentrations in Barra, the less mercury contaminated station in Ria de Aveiro.

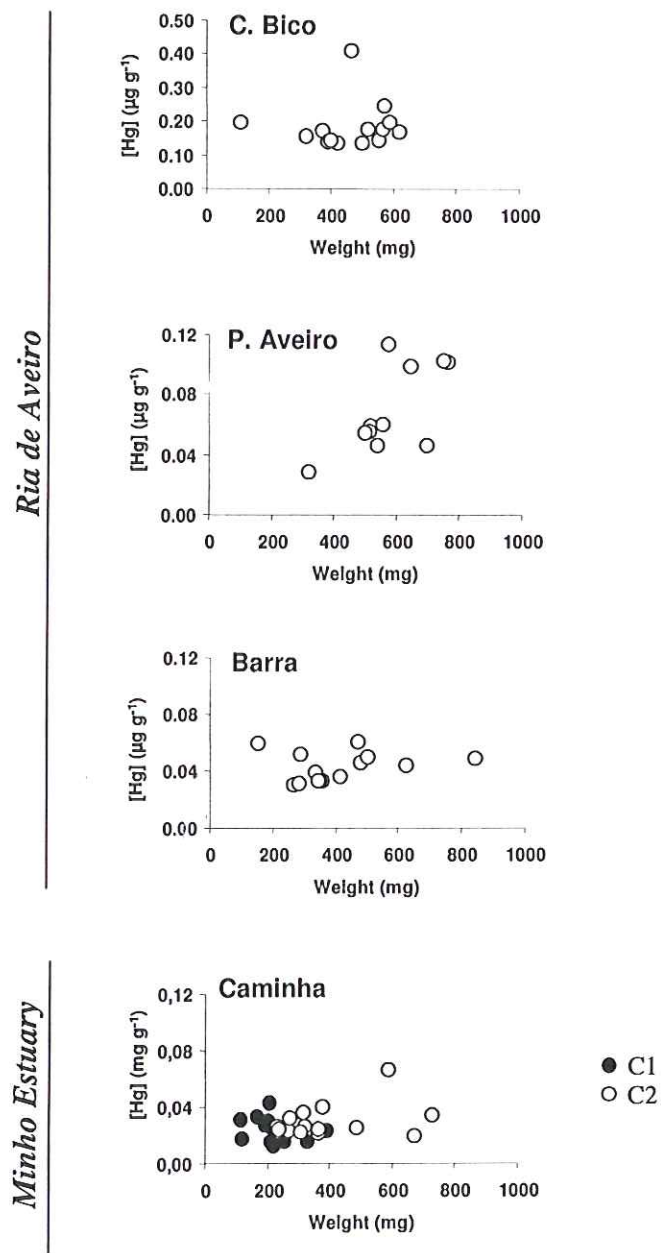


Figure 5.3. Mercury concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$, fresh weight) in epibentic fish, *P. microps*, versus body fresh weight (mg).

Bioaccumulation sediment factors

The relation between mercury accumulation in sediments and mercury bioaccumulation in *P. microps* is shown in Fig. 5.4 using bioaccumulation sediment factors (BASF).

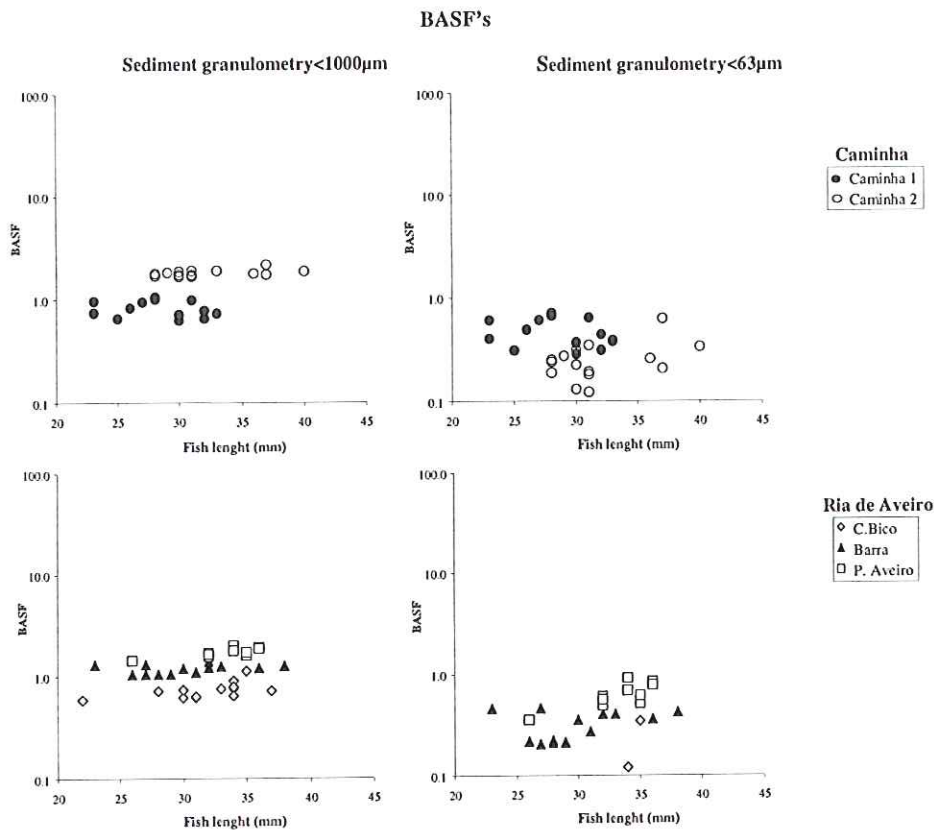


Figure 5.4. Bioaccumulation sediment factors (BASF) in total granulometric fraction (<1000µm) and fine sediments (<63µm).

BASF were calculated applying individual mercury accumulation in relation to mercury accumulation in the two sediment granulometric fractions <1000µm and <63µm.

Considering all data, BASF appeared to be higher in the stations presenting lower values of mercury accumulation in sediments. Data suggests that equilibrium between biota and sediments might not have been reached in the stations showing higher sediment accumulation.

The difference between BASF values obtained for <1000µm in the Minho estuary (C1 and C2) plus the homogeneity of BASF values obtained for <63µm in the same stations might suggest that mercury accumulation in *P. microps* fish is mainly related to concentration of

mercury in fine sediment even when the sediment coarse fraction represents almost 100% of total granulometric fraction, as in C2. The Fig. 5.5 shows the average ratio between biota and sediment mercury concentrations (not logarithmized BASF values) enhancing the difference relating mercury in biota to distinct mercury-bound fractions in surface sediments.

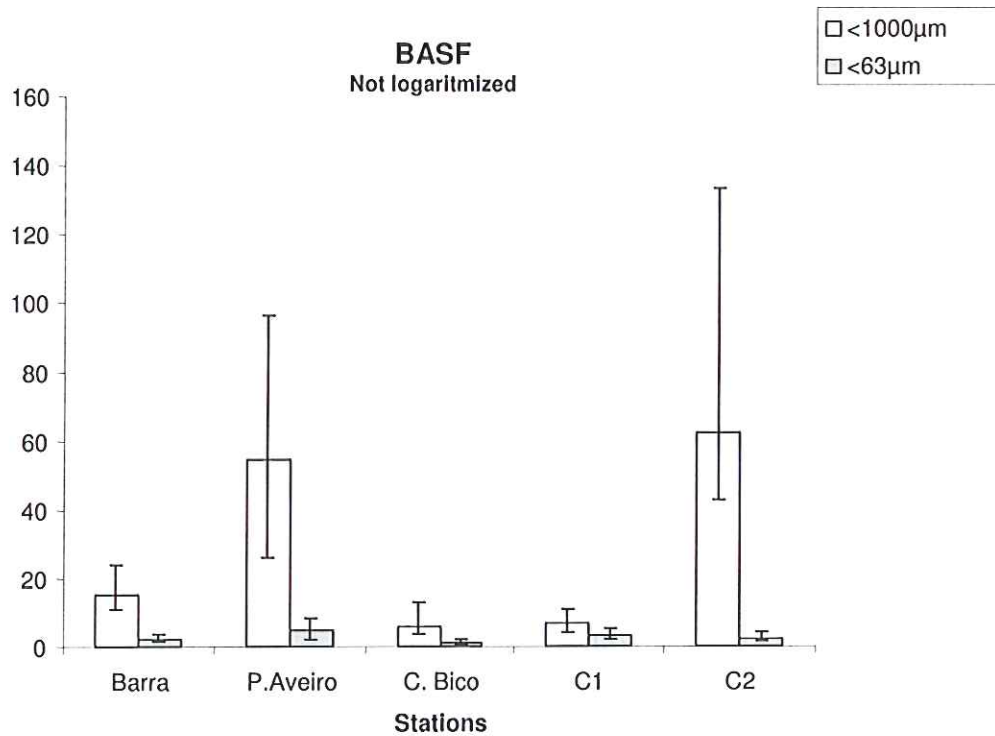


Figure 5.5. Average values not logarithmized of Bioaccumulation Sediment Factors (BASF) in coarse sediments (<1000µm) and fine sediments (<63µm).

The difference between BASF calculated relating mercury concentration in biota to two different granulometric fractions of the surface sediments indicates that BASF calculation might be biased, depending on the mercury-bound fractions used in the assessment. This fact is particularly important in modelling studies where BASF parameters are often applied and mostly on a global scale where the need of data extrapolation is rather essential and required.

References

- Abreu S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2000. Accumulation of mercury in sea bass from a contaminated Lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Marine Pollution Bulletin*, **40**(4): 293-297.
- Abreu S.N., Pereira M.E. & Duarte A.C., 1998. The use of a mathematical model to evaluate mercury accumulation in sediments and recovery time in a coastal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Water, Science and Technology*, **37** (6-7): 33-38.
- Baldi F., 1997. Microbial transformation of mercury species and their importance in the biogeochemical cycle of mercury. *In: A. Sigel & H. Sigel [eds], Metal ions in biological systems: mercury and its effects on environment and biology*, Marcel Dekker, **34**: 213-257.
- Bloom N.S., 1992. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, **49**: 1010-1017.
- Boudou A. & Ribeyre F., 1997. Mercury in the food web: accumulation and transfer mechanisms. *In: A. Sigel & H. Sigel [eds], Metal ions in biological systems: mercury and its effects on environment and biology*, Marcel Dekker, **34**: 289-319.
- Christiansen P.D., Brozek M., and Winding Hansen B., 1998. Energetic and behavioral responses by the common goby, *Pomatoschistus microps* (krøyer), exposed to linear alkylbenzene sulfonate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**(10): 2051-2057.
- Connell D.W., 1991. Extrapolating test results on bioaccumulation between organism groups. *In: R. Nagel & R. Loskill [eds], Bioaccumulation in aquatic systems*, VCH, New York, 132-149.
- Evans D.W. & Engels D.W., 1994. Mercury bioaccumulation in finfish and shellfish from Lavaca Bay, Texas: descriptive models and annotated bibliography. U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric administration, 89 p.
- Foster G.D. & Wright D.A., 1988. Unsubstituted polynuclear aromatic hydrocarbons in sediments, clams and clamworms from Chesapeake bay. *Mar Pollut Bull* **19** (9): 459-465.

- Hall A., Duarte A.C., Oliveira J.B. & Lucas M.F.B., 1988. Particulate mercury in the coastal area Off Aveiro, Portugal. *In: M. Astruc & J. N. Lester [eds], Heavy Metals in the Hydrological Cycle*,. Publications Division, 507-518.
- Hall A., Lucas M.F., Caldeira M.T. & Duarte A.C., 1985. Presença de mercúrio nos sedimentos da Ria de Aveiro, In: Actas das Jornadas da Ria de Aveiro, Poluição da Ria de Aveiro, Câmara Municipal de Aveiro, I: 103-125.
- Hissler C., & Probst J-L., 2006. Chlor-alkali industrial contamination and riverine transport of mercury: distribution and partitioning of mercury between water, suspended matter, and bottom sediment of the Thur River, France. *Applied Geochemistry*, 21: 1837-1854.
- Huckabee J.W., Elwood J.W. & Hildebrand S.G., 1979. Accumulation of mercury in freshwater biota. *In: J.O. Nriagu [ed], Biogeochemistry of mercury in the environment*, Elsevier, New york, 277-302.
- Joiris C.R., Holsbeek L. & Moatemri N.L., 1999. Total and methylmercury in sardines *Sardinella aurita* and *Sardina pilchardus* from Tunisia. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 188-192.
- Langston W.J. & Spence S.K., 1995. Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. *In: A. Tessier & D.R. Turner [eds], Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*, John Wiley & Sons, 407-478.
- Laporte J.M., Ribeyre F., Truchot J.P. & Boudou A., 1997. Combined effects of water pH and salinity on the bioaccumulation of inorganic mercury and methylmercury in the shore crab *Carcinus maenas*. *Marine Pollution Bulletin* 34: 880-893.
- Lawrence A.L. & Mason R.P., 2001. Factores controlling the bioaccumulation of mercury and methylmercury by the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus*. *Environmental Pollution*, 111: 217-231.
- Lima C., 1986. Impacto da Poluição por Mercúrio nos Organismos Aquáticos da Ria de Aveiro. *Relatório INIP- Lisboa*, 66, pp. 27.
- Lucas M.F., Caldeira M.T., Hall A., Duarte A.C & Lima C., 1986. Distribution of Mercury in the sediments and Fishes of the Lagoon of Aveiro, Portugal. *Water Science and Technology*, 18: 141-148.

- Mason R.P., Ozerova N.A., Akagi H., Cossa D., Fitzgerald W.F. & Horvat M., 1996. Working group report on oceanic mercury cycling. *In*: W. Baeyens, R. Ebinghaus & O. Vasiliev [eds], *Global and regional mercury cycles: sources, fluxes and mass balances*, Kluwer Academic Publishers, 531-541.
- Monterroso P., Abreu S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2003. Estimation of Cu, Cd and Hg transported by plankton from a contaminated area (Ria de Aveiro), *Acta Oecologica*, **24**(S1): S351-S357.
- Pereira M.E., Duarte A.C, Millward G.E., Abreu S.N. & Vale C., 1998. An estimation of industrial mercury stored in sediments of a confined area of the lagoon of Aveiro (Portugal). *Water Science and Technology*, **37** (6-7): 125-130.
- Pereira M.E., Duarte A.C. & Millward G.E, 1995. Seasonal variability in mercury inputs into the Ria de Aveiro, Portugal. *Neth. J. Aquatic Ecology*, **29** (3-4): 291-296.
- Pereira M.E., Duarte A.C., Millward G.E, Abreu S.N. & Reis M.C., 1997. Distribution of mercury and other heavy metals in the Ria de Aveiro. *Quimica Analitica*, **16** [Suppl1]: S31-S35.
- Picton B.E. & Morrow C.C., 2005. *[in] Enciclopedia of Marine Life of Britain and Ireland*, <http://www.habitas.org.uk/marinelife/species.asp>.
- Post J.R., Vandenbos R. & McQueen D.J., 1996. Uptake of food-chain and waterborne mercury by fish: field measurements, a mechanistic model, and an assessment of uncertainties. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, **52**: 395-407.
- Sager D.R., 2002. Long-term variation in mercury concentrations in estuarine organisms with changes in releases into Lavaca Bay, Texas. *Marine Pollution Bulletin*, **44**: 807-815.
- Wiener J.G. & Spry J.S., 1996. Toxicological significance of mercury in fresh water fish. *In*: W.N. Beyer, G.H. Heinz & A.W. Redmon-Norwood [eds], *Environmental Contaminants in Wildlife - interpreting tissue concentrations*, CRC Press.

**CAPÍTULO VI - DINÂMICA DE MERCÚRIO NUM ECOSISTEMA
LAGUNAR COSTEIRO E ESTUARINO**

6.1. Evolução do estado de contaminação do ecossistema

No caso da Ria de Aveiro, o início da actividade industrial no princípio da década de 1950 e o posterior incremento na produção conduziu a um máximo de descargas de mercúrio para o ecossistema estuarino na década de 1980. A evolução dessa actividade foi registada no âmbito deste trabalho com recurso a técnicas de dendroquímica (Abreu et al., 2008). O padrão (perfil) das concentrações de mercúrio obtidas em cores extraídos de *P. nigra* marginais ao canal que recebe o efluente industrial responsável pela fonte antropogénica de mercúrio situa o pico de descargas para o ecossistema lagunar com maior contaminação entre 1980-1990 (Abreu et al., 2008), tendo similar registo sido sugerido pela análise de mercúrio em cores de sedimentos superficiais (Ramalhosa et al., 2006). As concentrações de mercúrio nos sedimentos superficiais ao longo do canal que recebe o efluente industrial (Esteiro de Estarreja) indicam uma diminuição geral no segmento inicial do canal próximo do ponto de descarga, sugerindo uma diminuição acentuada de mercúrio proveniente da fonte antropogénica. Na confluência do efluente industrial com o Esteiro de Estarreja, as concentrações de mercúrio diminuíram entre 3 a 20 vezes, desde valores entre 150 e 850 $\mu\text{g g}^{-1}$ em 1984-85 (Lucas et al., 1986), para concentrações entre 44 e 52 $\mu\text{g g}^{-1}$ em 2007.

A comparação entre diversos estudos publicados os níveis de mercúrio ao longo do Esteiro de Estarreja (Lucas et al., 1986; Pereira, 1997; Abreu et al., 1998) e os dados actuais obtidos no âmbito deste trabalho (Fig. 6.1.1), sugerem o movimento para jusante de sedimentos finos ($<63\mu\text{m}$) contaminados. Paralelamente com a migração dos sedimentos superficiais finos ao longo do esteiro, o máximo de concentração de mercúrio nos sedimentos finos tem derivado igualmente no sentido da bacia de sedimentação adjacente (Largo do Laranjo) e restante zona lagunar. Por este motivo, apesar das descargas de mercúrio do efluente industrial terem registado uma redução acentuada nas últimas décadas (Abreu et al., 2008), a ressuspensão de partículas contaminadas dos sedimentos superficiais e consequente transferência de mercúrio para a coluna de água, constitui uma

das vias de entrada (input) de mercúrio para a restante zona lagunar, constituindo um risco ainda actual para todo o ecossistema lagunar em termos de bioacumulação de mercúrio e potencial transferência trófica. Deste modo, em termos de evolução futura, atendendo aos níveis de mercúrio ainda residente nos sedimentos superficiais do canal que recebeu o efluente industrial, o tempo de recuperação do ecossistema lagunar será previsivelmente mais longo que o estimado anteriormente pela modelação (Abreu et al., 1998).

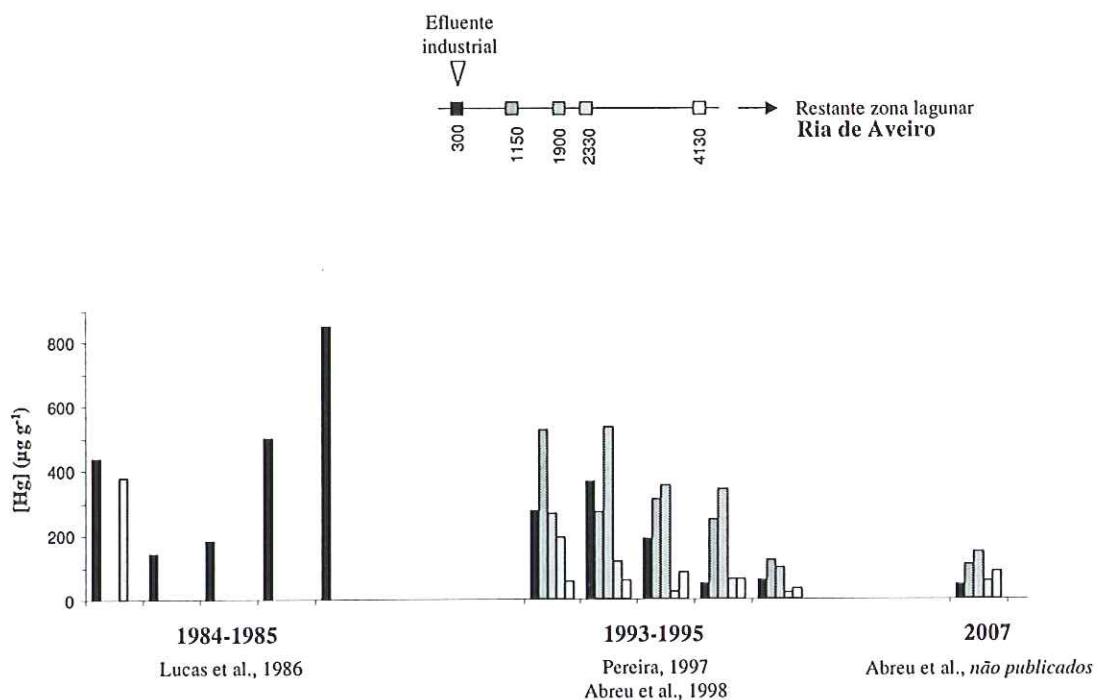


Figure 6.1.1. Evolução das concentrações de mercúrio nos sedimentos superficiais ao longo do canal (Esteiro de Estarreja) que recebe o efluente industrial.

Diversos estudos (Pereira, 1997; Pereira et al., 1998a; Pereira et al., 1998b; Ramalhosa et al., 2006; Abreu et al., 2008) têm indicado uma diminuição da descarga de mercúrio para o ecossistema lagunar nas últimas décadas, sugerindo uma potencial recuperação do ecossistema. No entanto, inicialmente restrita às proximidades do ponto de descarga, a contaminação com mercúrio do ecossistema tende a dispersar com o evoluir do tempo.

6.2. Dinâmica de mercúrio no ecossistema

6.2.1. A acção da maré e o seston

A acção da maré tem intervindo directamente na transferência e dispersão de mercúrio, além de, cumulativamente, promover os processos de ressuspensão de partículas contaminadas dos sedimentos superficiais na interface sedimento – coluna de água. Na coluna de água, para além da fracção dissolvida, o seston tem actuado como via de transporte do mercúrio, podendo o metal estar adsorvido à superfície das partículas de natureza litogénica ou incorporado e adsorvido nas formas plantónicas. A eficácia da transferência depende não apenas da composição do seston mas também da natureza litogénica ou orgânica das partículas e dos equilíbrios instáveis de relação e repartição destas partículas.

Na Ria de Aveiro, o papel fundamental da acção dinâmica da maré na transferência de mercúrio da zona do Largo do Laranjo para a restante zona lagunar foi evidenciado em diversos trabalhos (Pereira, 1997; Pereira et al., 1998a; Pereira et al., 1998b; Abreu et al., 2001; Monterroso et al. 2003; Pereira et al., 2007; Pereira et al. 2008). Estes estudos referem a fracção particulada como a principal via de transporte de mercúrio salientando como principais elementos dinamizadores: a intensidade da corrente de maré, a reduzida altura da coluna de água, os processos de ressuspensão (e conseqüente dispersão), a transferência de partículas contaminadas dos sedimentos para a coluna de água (com progressão para zonas a jusante do ponto de contaminação) e a capacidade das partículas para adsorver/incorporar mercúrio, com destaque da eficiência do seston (63µm e 200µm) no transporte de mercúrio. Embora representem uma pequena fracção da generalidade do material particulado em suspensão (partículas > 0,45µm) e seja responsável por apenas cerca de 10% da quantidade de mercúrio particulado transferido (saída-entrada) para jusante da zona mais contaminada, o seston têm revelado uma maior eficiência no transporte (transferência/entrada) de mercúrio no transporte de mercúrio (com valores entre

300 e 450%) indicando uma diferença elevada entre a massa de mercúrio transferido na vazante (associado a estas partículas) e a quantidade de mercúrio que é “devolvida” no regresso do seston pela enchente, comparativamente às partículas de menor dimensão (Monterroso et al., 2003). Esta diferença é devida i) à quantidade de partículas “transferidas” para fora do Largo do Laranjo (durante a vazante) e que não efectuam o retorno no período de enchente e ii) à maior presença de plâncton (com correspondente incorporação de mercúrio) nos períodos de vazante. Ao contrário destas partículas de maior dimensão, a generalidade das partículas (SPM) permanece mais tempo em suspensão, durante o ciclo de maré, retornando na enchente e “anulando”, dessa forma, a sua capacidade de transferência do contaminante.

Desta forma, o mercúrio pode ser transferido para zonas lagunares gradualmente mais distantes do ponto de descarga, incluindo dispersão nas zonas costeiras marginais ou locais mais distantes envolvendo no processo as correntes oceânicas. Na zona de fronteira para a zona costeira adjacente, os estudos realizados sugerem uma predominância da fracção de mercúrio particulado, embora podendo ocorrer um “retorno” de mercúrio na fracção dissolvida, principalmente devido a acção dos cloretos da água do mar (mais salina) complexando o mercúrio particulado, resultando na dissociação do metal em relação às partículas e consequente depuração do material particulado, com incremento de mercúrio na fracção dissolvida.

Considerando a transferência de mercúrio para a zona costeira adjacente, os estudos realizados sugerem uma predominância na fracção de mercúrio particulado, alternando com um retorno de mercúrio à laguna na fracção dissolvida.

Ocupando a base da cadeia alimentar, o seston (e principalmente a componente plâncton) é também responsável pela assimilação de mercúrio e consequente transferência para a cadeia trófica, potencializando o risco de contaminação de todo o meio aquático de um ecossistema.

6.2.2. Biota como indicador da contaminação ambiental

6.2.2.1. *Pomatoschistus microps*

No capítulo V foi abordada a relação da acumulação de mercúrio em *P. microps* com a repartição do mercúrio pela granulometria (<1000 e <63 μm) dos sedimentos superficiais, com relevo para a importância da partição granulométrica dos sedimentos superficiais na bioacumulação de mercúrio.

Neste capítulo é apresentada a relação entre a bioacumulação de mercúrio em góbios juvenis e o gradiente de contaminação ambiental, tendo como base a contaminação de mercúrio nos sedimentos superficiais finos (<63 μm).

A Figura 6.2.1. apresenta as concentrações de mercúrio em *P. microps* e as concentrações de mercúrio nos sedimentos do ecossistema estuarino da Ria de Aveiro em três estações gradualmente afastadas da fonte antropogénica (C. Bico, P. Porto e Barra). Os sedimentos superficiais de granulometria fina apresentam concentrações de mercúrio com máximos (0,85 $\mu\text{g g}^{-1}$) no C. Bico. As estações P. Aveiro e Barra apresentam níveis de mercúrio cerca de 10 vezes inferiores, com níveis de acordo com a generalidade dos sedimentos na Europa (<0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$). As concentrações de mercúrio mais elevadas no biota foram obtidas nos peixes capturados em C. Bico (nas imediações do Largo do Laranjo) com maior proximidade ao local de descarga do efluente industrial, observando-se uma diminuição com o afastamento à fonte de contaminação. Os resultados obtidos indicam que a contaminação do biota reflecte a contaminação ambiental, apresentando um padrão similar aos resultados para outras espécies como *D. labrax* e *Carcinus maenas* (Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Abreu et al., 2000c; Pato et al., 2002; Pereira et al., 2008). No presente estudo, sendo os exemplares amostrados ainda peixes juvenis, com um potencial de bioacumulação elevado dada a reconhecida capacidade de bioamplificação de mercúrio com a idade, os resultados obtidos sugerem um risco potencial de transferência

de mercúrio para a cadeia trófica, principalmente na área mais contaminada do ecossistema lagunar.

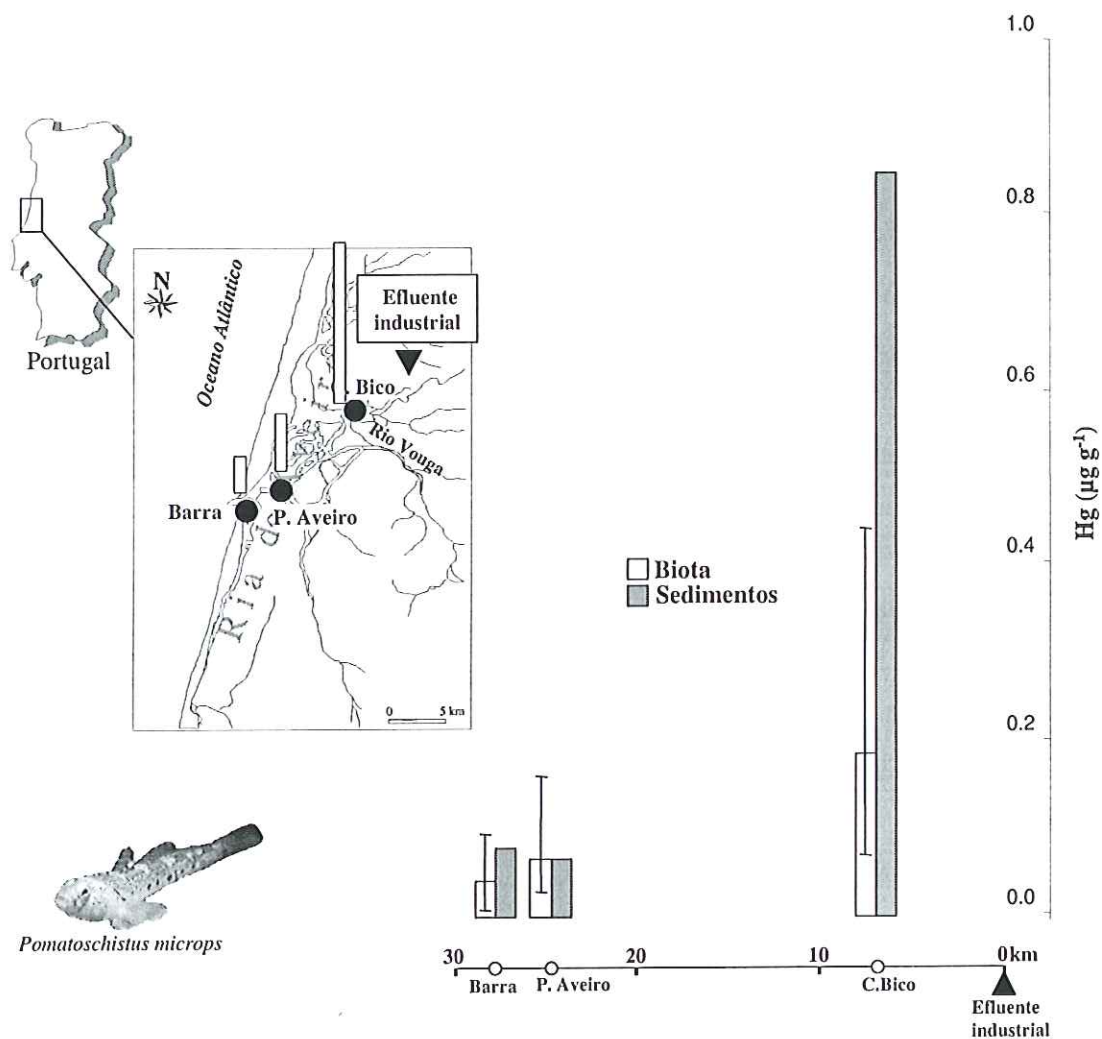


Figure 6.2.1. Concentrações de mercúrio em sedimentos superficiais finos e no biota, *P. microps*, pertencentes a um ecossistema identificado com uma contaminação com mercúrio – Ria de Aveiro (estações C. Bico, P. Aveiro e Barra, gradualmente afastadas da área mais contaminada).

6.2.2.2. *Dicentrarchus labrax*

Alguns trabalhos até agora realizados na Ria de Aveiro com *D. labrax* (Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Pato et al., 2002) indicam que o biota no ecossistema lagunar apresenta uma contaminação diferenciada, apresentando concentrações de mercúrio mais elevadas nas áreas próximas da fonte antropogénica (Laranjo), reflectindo a contaminação ambiental.

D. labrax tem sido uma das espécies predadoras mais estudadas neste ecossistema com registos de concentrações de mercúrio em juvenis desde o período de maior descarga de mercúrio proveniente da fonte industrial (Lucas et al., 1986).

Com a diminuição da descarga de mercúrio, observada nas últimas três décadas, seria esperado que o biota reflectisse a diminuição do input de mercúrio. As concentrações de mercúrio obtidas em juvenis capturados no Laranjo em Setembro 2006 são apresentadas na Figura 6.2.2.

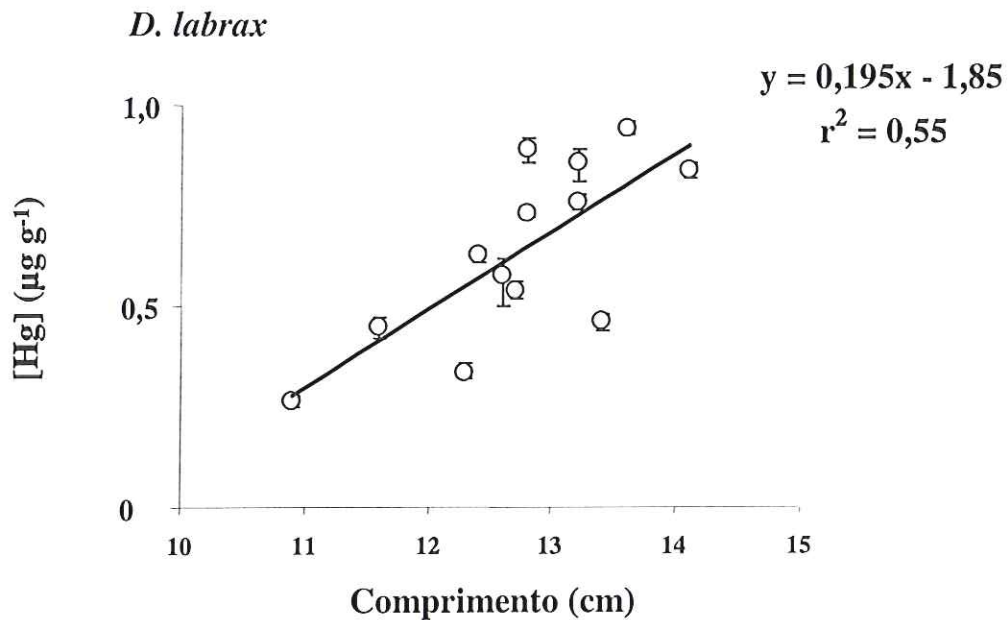


Figure 6.2.2. Concentração de mercúrio em função do comprimento total do espécime, obtidas em juvenis de *D. labrax* capturados no Laranjo em Setembro de 2006.

As concentrações de mercúrio obtidas indicam um incremento com o crescimento dos exemplares ($y = 0,195x - 1,85$, $r^2 = 0,55$), são semelhantes aos níveis publicados por Abreu et al., (2000b) para a zona mais contaminada, podendo indicar uma bioamplificação com a idade.

Comparando os níveis de mercúrio obtidos actualmente com os resultados publicados anteriormente (Lucas et al., 1986; Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Pato et al., 2002) (Fig. 6.2.3) observa-se que, apesar do significativo decréscimo das descargas de mercúrio industrial, as concentrações de mercúrio em espécimes (ainda) juvenis de *D. labrax* se mantêm relativamente elevados (próximos do limite máximo $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$) na zona mais contaminada (Laranjo).

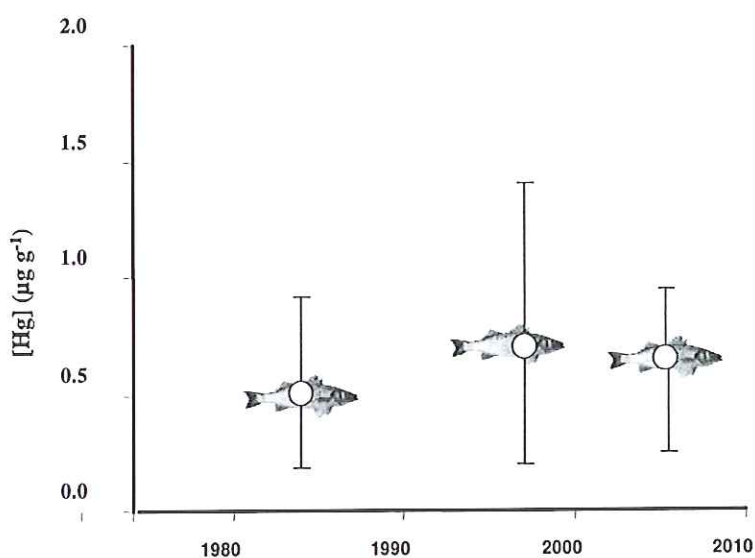


Figure 6.2.3. Comparação dos níveis de mercúrio (mínimo, média e máximo) em juvenis de *D. labrax* capturados no Laranjo em Setembro de 2006 e os resultados publicados anteriormente para juvenis capturados em anos anteriores na mesma estação.

A manutenção dos níveis de mercúrio no biota, após o acentuado decréscimo do input de mercúrio nas últimas três décadas, parece evidenciar uma maior biodisponibilidade do mercúrio actualmente residente no ecossistema. Sabendo que o mercúrio acumulado nos peixes (e em particular nas espécies predadoras) se encontra na forma de mercúrio orgânico, o incremento da biodisponibilidade sugere uma gradual

metilação do mercúrio industrial proveniente das descargas. Na actualidade, apesar da menor disponibilidade de mercúrio total, uma maior biodisponibilidade da fracção orgânica justificaria a manutenção dos níveis de concentração elevados, devido à maior taxa de acumulação das formas orgânicas de mercúrio no biota.

6.3. Evolução da bioacumulação na Ria de Aveiro

Os primeiros trabalhos sobre a presença de mercúrio no biota da Ria de Aveiro datam a meados da década de 1980 (Lucas et al., 1986).

Estudos recentes realizados com *D. labrax* (Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Pato et al., 2002) e com *C. maenas* (Abreu et al., 2000c; Pereira et al., 2008) indicam que o biota tem reflectido a contaminação ambiental. Por outro lado, em termos cronológicos não se tem verificado uma diminuição da contaminação no biota desde a data em que ocorreram os picos máximos de descarga de mercúrio (1980-1990). *D. labrax* foi alvo de estudo em 1984-1985 (Lucas et al., 1986), em 1997-1998 (Abreu et al., 2000) e no âmbito deste estudo. A Figura 6.3.1. apresenta a evolução das concentrações de mercúrio no biota da Ria de Aveiro ao longo do tempo, com especial relevo para a espécie *D. labrax*.

Comparativamente aos trabalhos de Lucas et al. (1986), e tendo como base a espécie *Dicentrarchus labrax* que é estudada em vários estudos posteriores (considerando amostras recolhidas no Largo do Laranjo e envolvendo peixes juvenis entre 11 a 16 cm de comprimento total), as concentrações de mercúrio no biota apresentam uma evolução inicial contrária ao sentido de descida da descarga do efluente industrial para a Ria de Aveiro, aparentando uma tendência de subida no final da década de 1990 e mantendo valores similares na actualidade. Tendo em consideração que os estudos realizados com cores de sedimentos (Pereira 1997; Pereira et al., 1998a; Ramalhosa et al., 2006) e em anéis de crescimento de *P. nigra* (Abreu et al., 2008) que apontavam a década de 1980-1990 como sendo o período máximo de descarga de mercúrio; então, a maior disponibilidade ambiental de mercúrio não foi traduzida numa maior biodisponibilidade

resultante em concentrações elevadas de mercúrio no biota. Por esse motivo, os resultados sugerem que a biodisponibilidade de mercúrio seria mais reduzida no período de maior descarga da fonte industrial e que o potencial de bioacumulação aumentou nos anos posteriores. Este facto poderia ser justificado pela actuação de processos de metilação, transformando progressivamente o mercúrio inorgânico da descarga industrial em compostos orgânicos de mercúrio com maior potencial de bioacumulação.

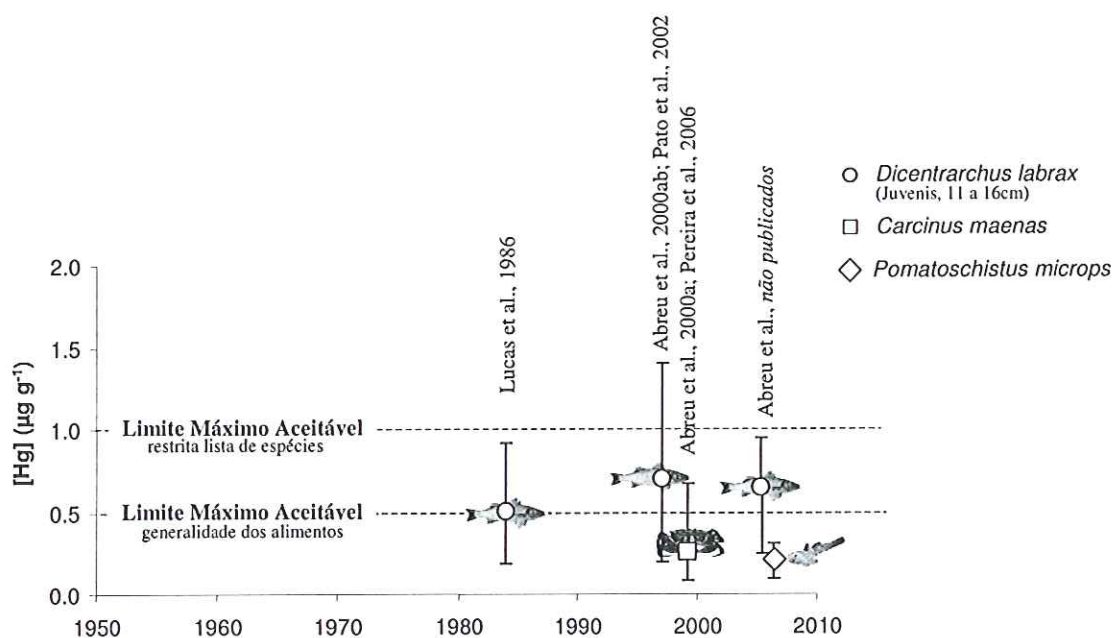


Figure 6.3.1. Evolução das concentrações de mercúrio no biota aquático da Ria de Aveiro.

Sendo *D. labrax* uma espécie cuja importância é apreciada, nomeadamente na pesca artesanal e desportiva, o registo de valores relativamente levados pode constituir um potencial risco, no entanto esta ocorrência está confinada às zonas envolventes da área mais contaminada, em particular o Largo do Laranjo.

CAPÍTULO VII - DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES

7.1. Passado histórico

Os estudos desenvolvidos com aplicação de técnicas de dendroquímica contribuíram para o estabelecimento de um perfil da evolução histórica dos inputs de mercúrio para o sistema estuarino. O padrão obtido reflecte os níveis de actividade da fonte antropogénica, incluindo a redução de descargas de mercúrio decorrentes de obrigações legislativas com implementação de nova tecnologia, resultando numa diminuição da perda de mercúrio libertado para o ecossistema.

O reconhecimento de um perfil de concentrações de mercúrio nos anéis de crescimento positivamente correlacionado com o padrão histórico das descargas antropogénicas para o ecossistema lagunar, introduziu o conceito de árvore funcionando como “data logger” dos inputs de mercúrio de um efluente industrial para o ecossistema lagunar, actuando como “sentinela silenciosa” mas vigilante. Uma espécie com larga distribuição geográfica e apetência para ladear linhas de água *P. nigra* (choupo negro) apresenta capacidade para preservar as propriedades químicas da seiva dos sucessivos momentos, armazenando e preservando essa informação nos anéis de crescimento do tronco, reflectindo as condições químicas contemporâneas do momento em que as células cessam funções e passam a constituir o correspondente anel de crescimento. O padrão histórico apenas é conseguido quando os sucessivos anéis de crescimento armazenam e retêm inalterados os registos ao longo do tempo – princípio básico da dendroquímica (Nabais et al., 1999).

No caso da Ria de Aveiro, o registo histórico dos inputs de mercúrio para o ecossistema estuarino indicou o início da actividade industrial no princípio da década de 1950 e valores máximos de descarga na década de 1980, coincidente com os valores apontados por estudos com cores em sedimentos (Pereira 1997; Pereira et al., 1998a; Ramalhosa et al., 2006). O registo histórico apresenta também inflexões do perfil de descargas que revelam e enquadram no tempo as sucessivas inovações tecnológicas

introduzidas na unidade industrial de forma a minimizar as perdas de mercúrio para o ambiente.

Ainda que esta aplicação tenha alguma especificidade em termos de espécie e de estratégia de posicionamento, a figura de árvore “data logger” é apelativa e deveria ser mais explorada. Qual seria o resultado da obrigatoriedade de colocação de árvores sentinela nas zonas marginais dos efluentes industriais para controlo das descargas de mercúrio?

7.2. Estado actual da bioacumulação

Os diversos trabalhos sobre a concentração de mercúrio dos ecossistemas estuarinos têm salientado a importância da contaminação dos sedimentos superficiais na bioacumulação de mercúrio. A acção dinâmica da maré tem contribuído para a dispersão do mercúrio na coluna de água, onde o seston tem um papel activo.

Espécies predadoras como *D. labrax* têm sido estudadas em termos de bioacumulação de mercúrio desde o período de descarga máximas de mercúrio de fonte antropogénica para o ecossistema lagunar. Os resultados obtidos no âmbito deste estudo com *D. labrax* e o registo da contaminação histórica de juvenis desta espécie, capturados na proximidade do local mais contaminado (Lucas et al., 1986; Abreu et al., 2000a; Abreu et al., 2000b; Pato et al., 2002), não evidenciam indícios de uma diminuição da contaminação nesta espécie, onde o mercúrio orgânico representa cerca de 100% do mercúrio total. A manutenção de concentrações de mercúrio relativamente elevadas no biota, comparativamente aos níveis de mercúrio em exemplares juvenis da mesma espécie capturados no período de descarga máxima de mercúrio (~1983), sugere um incremento da biodisponibilidade da fracção orgânica, com maior taxa de acumulação e maior potencial de toxicidade. Sendo *D. labrax* uma espécie com elevada importância económica e muito apreciada na pesca artesanal e na pesca desportiva, os níveis de contaminação no biota apresentam um risco potencial ainda

presente, ainda que os níveis máximos se mantenham confinados à zona mais contaminada. Estudos com outras espécies como *C. maenas* têm evidenciado alguma sazonalidade (Abreu et al., 2000c; Pereira et al., 2008) da bioacumulação de mercúrio mas reforçam principalmente a diferenciação espacial com máximos de concentração de mercúrio na área mais influenciada pela fonte antropogénica.

Os estudos com *P. microps* sugerem que os organismos são contaminados não apenas pela exposição directa mas também pela ingestão selectiva de partículas ou de presas contaminadas. As concentrações de mercúrio em *P. microps* indicam a espécie com capacidade de reflectir a contaminação ambiental em zonas estuarinas contaminadas com um mercúrio, mas alertam para a afinidade com as concentrações de mercúrio da fracção fina (<63µm) dos sedimentos superficiais. A diminuição da percentagem de partículas finas nos sedimentos superficiais parece favorecer a adsorção de mercúrio a estas partículas, aumentando a carga de mercúrio por partícula e podendo incrementar a biodisponibilidade de mercúrio para espécies com afinidade para estas partículas.

A utilização de modelos matemáticos requer factores que relacionem os diversos componentes do ecossistema, nomeadamente os factores de bioacumulação de acordo com a especificidade dos diversos organismos. Todavia, a simples diversidade da granulometria das partículas de um sedimento pode influenciar o cálculo dos factores de bioacumulação, produzindo resultados diversos. A validade destes factores decreta, ou não, a respectiva aplicabilidade em termos globais.

7.3. Previsão da evolução do estado de contaminação

As concentrações de mercúrio nos sedimentos superficiais ao longo do canal que recebe o efluente industrial (Esteiro de Estarreja) indicam uma diminuição geral no segmento inicial do esteiro próximo do ponto de descarga. Na confluência do efluente

industrial com o Esteiro de Estarreja, as concentrações de mercúrio diminuíram entre 3 a 20 vezes, desde valores entre 150 e 850 $\mu\text{g g}^{-1}$ em 1984-85 (Lucas et al., 1986), para concentrações entre 44 e 52 $\mu\text{g g}^{-1}$ em 2007. No entanto, os sedimentos superficiais do canal ainda apresenta actualmente concentrações de mercúrio com máximos na fracção fina ($\sim 150\mu\text{g g}^{-1}$) que excedem em cerca de mil e quinhentas (1500) vezes os níveis de base ($<0,1\mu\text{g g}^{-1}$) dos sedimentos na Europa.

Em termos de evolução futura, atendendo i) ao reduzido deslocamento do pico máximo e ii) ao mercúrio ainda residente e retido nos sedimentos superficiais do canal que recebeu a fonte antropogénica; o tempo de recuperação do ecossistema lagunar será previsivelmente mais lento que o estimado em anteriores estudos (Abreu et al., 1998). A comparação dos diversos estudos publicando os níveis de mercúrio ao longo do Esteiro de Estarreja (Lucas et al., 1986; Pereira, 1997; Abreu et al., 1998) e os dados actuais obtidos no âmbito deste trabalho (Cap. 6.1), sugerem o movimento para jusante de sedimentos finos contaminados, sugerindo mesmo uma evolução para um acréscimo das concentrações de mercúrio no percurso terminal do esteiro.

A problemática do mercúrio é actualmente considerada como uma poluição crónica e difusa de índole global que evoluiu de um conjunto de problemas de contaminação aguda e local. No entanto, é no conhecimento do padrão de contaminação: registo histórico, dimensão actual e perspectivas de evolução futura que poderá residir a chave dos processos de minimização e remediação conducentes à diminuição global da exposição ao mercúrio.

Os estudos desenvolvidos no âmbito deste trabalho pretendem apenas representar um fragmento de uma das peças desse grande *puzzle* global.

REFERÊNCIAS

- Abreu S.N., 1997. Modelação da dispersão de mercúrio no Esteiro de Estarreja. Tese de Mestrado, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 90 pp.
- Abreu S.N., Soares A.M.V.M., Nogueira A. J. A., Morgado F., 2008. Tree Rings, *Populus nigra* L., as Mercury Data Logger in Aquatic Environments: Case Study of an Historically Contaminated Environment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 80: 294-299.
- Abreu, S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2000a. Acumulação de Mercúrio em robalo da Ria de Aveiro. *In: A. Duarte, C. Vale & R. Prego [eds], Estudos de bioquímica na Zona Costeira Ibérica, Universidade de Aveiro, 277-282.*
- Abreu S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2000b. Accumulation of mercury in sea bass from a contaminated Lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Marine Pollution Bulletin*, 40(4): 293-297.
- Abreu S.N., Lopes C., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2000c. Accumulation of mercury in the crab *Carcinus maenas* from areas of Ria de Aveiro with different contamination. *In: Livro de Comunicações do 3º Congresso Ibérico de Contaminação e Toxicologia Ambiental (CICTA 2000), Universidade do Algarve, Faro, 179.*
- Abreu S.N., Pereira M.E. & Duarte A.C., 1998. The use of a mathematical model to evaluate mercury accumulation in sediments and recovery time in a costal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Water, Science and Technology*, 37 (6-7): 33-38.
- Amiard-Triquet C., Jeanet A. Y. & Berthet B., 1993. Metal transfer in marine food chains: bioaccumulation and toxicity. *Acta Biológica Hungarica* 44 (4): 387-409.
- APA, 2002. Marés 2002, Gabinete de Apoio à Estratégia, Comunicação, Imagem e Marketing – APA, Porto de Aveiro, 52pp.
- Arruda L.M., Azevedo J.A. & Neto A.I., 1993. Abundance, Age-structure and growth, and Reproduction of Gobies (Pisces; Gobiidae) in the Ria de Aveiro Lagoon (Portugal).
- Astley K.N., Meigh H.C, Glegg G.A., Braven J. & Depledge M.H., 1999. Multivariate Analysis of Biomarker Responses in *Mytilus edulis* and *Carcinus maenas* from the Tees Estuary (UK), *Marine Pollution Bulletin*, 39 (1-12): 145-154.

- Back R.C., Gorski P.R., Cleckner L.B. & Hurley, J.P., 2003. Mercury content and speciation in the plankton and benthos of Lake Superior. *The Science of the Total Environment*, 304: 349-354.
- Baldi F., 1997. Microbial transformation of mercury species and their importance in the biogeochemical cycle of mercury. *In: A. Sigel & H. Sigel [eds], Metal ions in biological systems: mercury and its effects on environment and biology*, Marcel Dekker, 34: 213-257.
- Barrosa J.O., 1985. Breve caracterização da Ria de Aveiro, *In: Actas das Jornadas da Ria de Aveiro*, Câmara Municipal de Aveiro, II: 9-14.
- Becher D.S. & Bighan G.N., 1995. Distribution of mercury in the aquatic food web of Onondaga Lake, New York. *Water, Air, and Soil Pollution* 80: 563-571.
- Beckvar N., Field J., Salazar S., & Hoff R., 1996. Contaminants in aquatic habitats at hazardous waste sites: mercury. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 100. Seattle: Hazardous materials response and assessment division, National Oceanic and Atmospheric Administration. 74 pp.
- Becnel J., Falgeust C., Cavalier T., Gauthreaux., Landry F., Blanchard M., Beck M.J., Beck J.N., 2004. Correlation of mercury concentrations in tree core and lichen samples in southeastern Louisiana. *Microchemical Journal*, 78: 205-210.
- Berger T.W., Köllensperger G., Wimmer R., 2004. Plant-soil feedback in spruce (*Picea abies*) and mixed sprucebeech (*Fagus sylvatica*) stands as indicated by dendrochemistry. *Plant and Soil*, 264: 69-83.
- Bindler R., 2003. Estimating the natural background atmospheric deposition rate of mercury utilizing ombrotrophic bogs in Southern Sweden. *Environ Sci Technol*, 37: 40-46.
- Bindler R., Renberg I., Kilminder J., Emteryd O., 2004. Tree rings as Pb pollution archives? A comparison of $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ isotope ratios in pine and other environmental media. *Sci. Tot. Environ.*, 319: 173-183
- Bloom N.S., 1992. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, 49: 1010-1017.
- Boening D.W., 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40: 1335-1351.
- Bouchereau J-L & Guelorget, O., 1997. Comparison of the three Gobiidae (Teleostei) life history strategies over their geographical range. *Oceanologica Acta*, 21(3): 503-517.
- Boudou A. & Ribeyre F., 1997. Mercury in the food web: accumulation and transfer mechanisms. *In: A. Sigel & H. Sigel [eds], Metal ions in biological systems: mercury and its effects on environment and biology*, Marcel Dekker, 34: 289-319.

- Bowles K.C., Apte S.C., Maher W.A., Kawei M. & Smith R., 2001. Bioaccumulation and biomagnification of mercury in Lake Murray, Papua New Guinea. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, 58: 888-897.
- Cabana G., Tremblay A., Kalff J. & Rasmussen J.B., 1993. Pelagic food chain structure in Ontario Lakes: a determinant of mercury levels in Lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, 51: 381-389.
- Campbell A., 1994. Fauna e flora do litoral de Portugal e Europa. FAPAS – Fundo para a protecção dos animais selvagens. INOVA, 320 pp.
- Chapman P.M., 1997. Is bioaccumulation useful for predicting impacts? *Marine Pollution Bulletin*, 34 (5): 282-283.
- Chapman P.M., Wang F., Jansen C., Persoone G., & Allen H.E., 1998. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, 55: 2221-2243.
- Christiansen P.D., Brozek M. & Hansen B.W., 1998. Energetic and Behavioral responses by the common goby, *pomatoschistus microps* (Kroyer), exposed to linear alkylbenzene sulfonate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(10): 2051-2057.
- Clark K.E., Gobas F.A.P.C. & Makay D., 1990. Model of organic chemical uptake and clearance by fish from food and water. *Environ. Sci. Technol.*, 24 (8): 1203-1213.
- Comissão das Comunidades Europeias, 2005. Estratégia comunitária sobre o mercúrio. Comunicação da Comissão ao Conselho e ao Parlamento Europeu, 11 pp.
- Connell D.W., 1991. Extrapolating test results on bioaccumulation between organism groups. In: R. Nagel & R. Loskill [eds], *Bioaccumulation in aquatic systems*, VCH, New York, 132-149.
- Connolly J.P., 1991. Application of a food chain model to polychlorinated biphenyl contamination of the lobster and winter flounder food chains in New Bedford harbor. *Environ. Sci. Technol.* 25(4): 760-770.
- Costley C.T., Mossop K.F., Dean J.R., Garden L.M., Marshal J. & Carroll J., 2000. Determination of mercury in environmental and biological samples using pyrolysis atomic adsorption spectrometry with gold amalgamation. *Analytica Chimica Acta*, 405: 179-183.
- Dickson K.L., Giesy J.P., Parrish R. & Wolfe L., 1994. Closing remarks. In: J.L. Hamelink, P.F. Landrum, H.L. Bergman & W.H. Benson [eds], *Bioavailability: physical, chemical, and biological interactions*, Lewis publishers, London, 221-230.

- Driscoll C.T., Blette V., Yan C., Schofield C.L., Munson R. & Holsapple J., 1995. The role of dissolved organic carbon in the chemistry and bioavailability of mercury in remote Adirondack Lakes. *Water, Air and Soil Pollution*, 80: 499-508.
- Ekino S., Susa M., Ninomiya T., Imamura K., Kitamura T., 2007. Minamata disease revisited: An update on acute and chronic manifestations of mercury poisoning. *J. Neurol. Sci.*, 262: 131-144.
- European Commission. 2001. Integrated Pollution Prevention and Control (IPPC), Chlor-alkali manufacturing industry.
- European Environment Agency (EEA), 1998. Europe's environment: the second assessment, Luxembourg, 293 p.
- Evans D.W. & Engels D.W., 1994. Mercury bioaccumulation in finfish and shellfish from Lavaca Bay, Texas: descriptive models and annotated bibliography. U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, 89 p.
- Faganeli J., Horvat M., Covelli S., Fajon V., Lipej L. & Cermelj B., 2003. Mercury and methylmercury in the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea). *The Science of the Total Environment*, 204: 315-326.
- Faria A., Morais P. & Chácaro M.A., 2006. Ichthyoplankton dynamics in the Guadiana estuary and adjacent coastal area, South-East Portugal. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 70: 85-97.
- Fisher N. & Reinfelder J., 1995. The trophic transfer of metals in marine systems. In: A. Tessier & D.R. Turner [eds], *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*, John Wiley & Sons, 363-407.
- Fitzgerald W.F., Lamborg C.H., & Hammerschmidt C.R., 2007. Marine biogeochemical cycling of mercury. *Chemical Reviews*, 107: 641-662.
- Foster G.D. & Wright D.A., 1988. Unsubstituted polynuclear aromatic hydrocarbons in sediments, clams and clamworms from Chesapeake bay. *Mar Pollut Bull* 19 (9): 459-465.
- Francesconi K.A. & Lenanton R.C.J., 1992. Mercury contamination in a semi-enclosed marine embayment: organic and inorganic mercury content in biota, and factors influencing mercury levels in fish. *Mar. Environ. Res.*, 33: 189-212.
- Goldstein R.M., Brigham M.E. & Stauffer J.C., 1996. Comparison of mercury in liver, muscle, whole bodies, and composites of fish from the River of the North. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, 53: 244-252.
- Gomes V., 1991a. O caranguejo *Carcinus maenas* (L.) da Ria de Aveiro: dados sobre o valor económico, avaliação do stock e esforço de pesca. In: Seminário Eurocoast, A zona costeira e os problemas ambientais, Aveiro, Setembro de 1991, 159-166.

- Gomes V., 1991b. First results of tagging experiments on crab *Carcinus maenas* (L.) in the Ria de Aveiro lagoon - Portugal. *Ciênc. Biol. Ecol. Syst.* (Portugal), 11 (1/2): 21-29.
- Guentzel J.L. & Tsukamoto Y., 2001. Processes influencing mercury speciation and bioconcentration in the North Inlet-Winyah Bay Estuary, South Carolina, USA. *Marine Pollution Bulletin*, 42 (7): 615-619.
- Hall A., Duarte A.C., Caldeira M.T.M. & Lucas M.F.B., 1987. Sources and sinks of mercury in the coastal lagoon of Aveiro, Portugal. *The Science of the Total Environment*, 64 (1-2): 75-87.
- Hall A., Duarte A.C., Oliveira J.B. & Lucas M.F.B., 1988. Particulate mercury in the coastal area Off Aveiro, Portugal. In: M. Astruc & J. N. Lester [eds], *Heavy Metals in the Hydrological Cycle*, Publications Division, 507-518.
- Hall A., Lucas M.F., Caldeira M.T. & Duarte A.C., 1985. Presença de mercúrio nos sedimentos da Ria de Aveiro, In: Actas das Jornadas da Ria de Aveiro, Poluição da Ria de Aveiro, Câmara Municipal de Aveiro, I: 103-125.
- Hall G.E.M. & Pelchat P., 1997. Evaluation of a direct solid sampling atomic absorption spectrometer for the trace determination of mercury in geological samples. *Analyst*, 122: 921-924.
- Helle G., Scheser G.H., 2004. Beyond CO₂-fixation by Rubisco – an interpretation of ¹³C/¹²C variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant, Cell and Environment*, 27: 367-380.
- Hissler C., & Probst J-L., 2006. Chlor-alkali industrial contamination and riverine transport of mercury: distribution and partitioning of mercury between water, suspended matter, and bottom sediment of the Thur River, France. *Applied Geochemistry*, 21: 1837-1854.
- Hoffman D.J., Rattner B.A., Burton Jr. G.A. & Cairns Jr. J., 2003. Introduction. In: D.J. Hoffman, B.A. Rattner, G.A. Burton Jr. & J. Cairns Jr. [eds], *Handbook of Ecotoxicology*, Lewis publishers, London, 1-15.
- Horvat M., Nolde N., Fajon V., Jered V., Logar M., Lojen S., Jacimovic R., Falnoga I., Liya Q., Faganeli J., Drobne., 2003. Total mercury, methyl mercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China. *Sci Total Environ* 304: 231-256
- Horvat M., 1999. Current status and future needs for biological and environmental reference materials certified for methylmercury compounds. *Chemosphere*, 39 (7): 1167-1179.
- Huckabee J.W., Elwood J.W. & Hildebrand S.G., 1979. Accumulation of mercury in freshwater biota. In: J.O. Nriagu [ed], *Biogeochemistry of mercury in the environment*, Elsevier, New York, 277-302.

- Hutchison A.R. & Atwood D.A., 2003. Mercury pollution and remediation: the chemist's response to a global crisis. *Journal of Chemical of Crystallography*, 33 (8): 631- 645.
- INAG, 2000. Sistemas Aquíferos de Portugal Continental. INAG, Lisboa.
- Instituto da água, 2001. Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Minho: Relatório Final, Ministério do Ambiente e do Território Nacional, 521pp.
- Jackson T.A., 1998. Mercury in aquatic ecosystems. *In*: W.L Langston & M.J. Bebianno [eds], Metal metabolism in aquatic environments, Chapman & Hall, London, 77-158.
- Jewet S.C. & Naidu A.S., 2000. Assessment of heavy metals in red king crabs following offshore placer gold minning. *Marine Pollution Bulletin*, 40 (6): 478-490.
- Johannesson M., 2002. A review of risks associated to arsenic, cadmium, lead, mercury and Zinc, Kalmar University, Kalmar, 62 p.
- Joiris C.R., Holsbeek L. & Moatemri N.L., 1999. Total and methylmercury in sardines *Sardinella aurita* and *Sardina pilchardus* from Tunisia. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 188-192.
- Jovanovic B., Longmore C., O'Leary A. & Mariani S., 2007. Fish Community structure and distribution in a macrotidal inshore habitat in the Irish Sea. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 75: 135-142.
- Kawaguchi T., Porter D., Bushek D. & Jones B., 1999. Mercury in the american oyster *Crassostrea virginica* in South Carolina, USA, and Public Health Concerns. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 324-327.
- Kudo A., Fujikawa Y., Miyahara S., Zheng J., Takigami H., Sugahara M., Muramatsu T., 1998. Lessons from Minamata mercury pollution, Japan after a continuous 22 years of observation. *Water Science and Technology*, 38 (7): 187-193.
- Kudo A. & Miyahara S., 1992. Predicted restoration of the surrounding marine environment after artificial mercury decontamination in Minamata Bay, Japan – Economic values for natural and artificial processes. *Water Science and Technology*, 25 (11): 141-148.
- Lafabrie C., Pergent G., Pergent-Martini C., Capiomont A., 2007. *Posidonia oceanica* : a tracer of past mercury contamination. *Environmental Pollution*, 148: 688-692.
- Langford N.J. & Ferner R.E., 1999. Toxicity of mercury. *Journal of Human Hypertension*, 13: 651-656.
- Langston W.J. & Spence S.K., 1995. Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. *In*: A. Tessier & D.R. Turner [eds], Metal speciation and bioavailability in aquatic systems, John Wiley & Sons, 407-478.

- Laporte J.M., Ribeyre F., Truchot J.P. & Boudou A., 1997. Combined effects of water pH and salinity on the bioaccumulation of inorganic mercury and methylmercury in the shore crab *Carcinus maenas*. *Marine Pollution Bulletin* 34: 880-893.
- Lawrence A.L. & Mason R.P., 2001. Factores controlling the bioaccumulation of mercury and methylmercury by the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus*. *Environmental Pollution*, 111: 217-231.
- Lawson N.M. & Mason R.P., 1998. Accumulation of mercury in estuarine food chains. *Biogeochemistry*, 40: 235-247.
- Leif P., 1985. Food selection and consumption of mobile epibenthic fauna in shallow marine areas. *Marine Ecology – progress series*, 22: 169-179.
- Lima C., 1986. Impacto da Poluição por Mercúrio nos Organismos Aquáticos da Ria de Aveiro. *Relatório INIP- Lisboa*, 66, pp. 27.
- Lucas M.F., Caldeira M.T., Hall A., Duarte A.C & Lima C., 1986. Distribution of Mercury in the sediments and Fishes of the Lagoon of Aveiro, Portugal. *Water Science and Technology*, 18: 141-148.
- Maes J., van Damme P.A., Taillieu A. & Ollevier F., 1998. Fish communities along an oxygen-poor salinity gradient (Zeeschelde Estuary, Belgium). *Journal of Fish Biology*, 52: 534-546.
- Mason R., Kim E., Cornwell J., & Heyes D., 2006. An examination of the factors influencing the flux of mercury, methylmercury and other constituents from estuarine sediment. *Marine Chemistry*, 102: 96-110.
- Mason R.P., Fitzgerald W. F. & Morel F.M.M., 1994. The biogeochemical cycling of elemental mercury: anthropogenic influences. *Geochimica Acta*, 46: 2527-2535.
- Mason R.P., Ozerova N.A., Akagi H., Cossa D., Fitzgerald W.F. & Horvat M., 1996. Working group report on oceanic mercury cycling. In: W. Baeyens, R. Ebinghaus & O. Vasiliev [eds], *Global and regional mercury cycles: sources, fluxes and mass balances*, Kluwer Academic Publishers, 531-541.
- Mason R.P., Reinfelder J.R. & Morel F.M.M., 1995. Bioaccumulation of mercury and methylmercury. *Water, Air and Soil Pollution*, 80: 915-921.
- Mason R.P., Rolffhus K.R. & Fitzgerald W.F., 1998. Mercury in the North Atlantic. *Marine Chemistry*, 61: 37-53.
- Meili M., 1997. Mercury in lakes and rivers. In: A. Sigel & H. Sigel [eds], *Metal ions in biological systems: mercury and its effects on environment and biology*, Marcel Dekker, 34: 21-51.
- Momoshima N., Bondietti E.A., 1990. Cation binding in wood: Applications to understanding historical changes in divalent cation availability to red spruce. *Can J For Res*, 20: 1840-1849.

- Monteiro M., Quintaneiro C., Nogueira A.J., Morgado F., Soares A.M.V.M., F. & Guilhermino L., 2007. Impact of chemical exposure on the fish *Pomatoschistus microps* Krøyer (1838) in estuaries of the Portuguese Northwest coast. *Chemosphere*, 66: 514-522.
- Monteiro M., Quintaneiro C., Pastorinho M., Pereira M.L., Morgado F., Guilhermino L., & Soares A.M.V.M., 2006. Acute effects of 3,4-dichloroaniline on biomarkers and spleen histology of the common goby *Pomatoschistus microps*. *Chemosphere*, 62: 1333-1339.
- Monterroso P., Abreu S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2003. Estimation of Cu, Cd and Hg transported by plankton from a contaminated area (Ria de Aveiro), *Acta Oecologica*, 24(S1): S351-S357.
- Morgado F., 1997. Ecologia do zooplâncton da Ria de Aveiro. Caracterização espaço-temporal. Transporte longitudinal e dinâmica tidal, nictemeral e lunar. Tese de doutoramento, Universidade de Aveiro, 427 pp.
- Morgado F., Antunes C. & Pastorinho R., 2003. Distribution and patterns of emergence of suprabenthic and pelagic crustaceans in a shallow temperate estuary (Ria de Aveiro, Portugal). *Acta Oecologica* 24: S205-S217.
- Nabais C., Freitas H., Hagemeyer J., 1999. Dendroanalysis: a tool for biomonitoring environmental pollution? *Sci Tot Environ*. 232: 33-37.
- Nigro M., Campana A., Lanzillotta E. & Ferrara R., 2002. Mercury exposure and elimination rates in captive bottlenose dolphins. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 1071-1075.
- OJEU, 2005. Directive 2004/11/EC of the European Parliament and of the Council, *Official Journal of the European Union*, 26.1.2005: L23/3 – L23/15.
- OJEU, 2006. Directive 2006/11/EC of the European Parliament and of the Council, *Official Journal of the European Union*, 4.3.2006: L64/52 – L64/58.
- Oliveira O.O., 1987. Origens da Ria de Aveiro, Câmara Municipal de Aveiro, 61pp.
- Olsson P., Kling P. & Hogstrand C., 1998. Mechanisms of heavy metal accumulation and toxicity in fish. In: W.L Langston & M.J. Bebianno [eds], *Metal metabolism in aquatic environments*, Chapman & Hall, London, 321-350.
- Omori M. & Ikeda T., 1984. *Methods in Marine Zooplankton Ecology*, John Wiley & Son, Inc., New York, 332p.
- Oppenhuizen A., 1991. Bioconcentration and biomagnification: is a distinction necessary?, In: R. Nagel & R. Loskill [eds], *Bioaccumulation in aquatic systems*, VCH, New York, 67-80.
- Orlandi M, Pelfini M, Pavan M, Santilli M, Colombini MP (2002) Heavy metals variations in some conifers in Valle d'Aosta (Western Italian Alps) from 1930 to 2000. *Microchemical Journal* 73: 237-244.

- OSPAR Commission, 2005. Mercury losses from the chlor-alkali industry (1982-2003), Hazardous Substances Series.
- Pacyna E.G., Pacyna J.M., Pirrone, 2001. European emissions of atmospheric mercury from anthropogenic sources in 1995. *Atmospheric environment*, 35: 2987- 2996.
- Pato P., Abreu S., Pereira E., Vale C., & Duarte A.C., 2002. Níveis de mercúrio no músculo, fígado e conteúdo estomacal de robalo numa zona contaminada da Ria de Aveiro. *In*: R. Prego, A.C. Duarte, A. Panteleitchouk & T.R. Santos [eds], Estudos sobre contaminação ambiental na Península Ibérica, Instituto Piaget, 231-237.
- Pereira M.E., 1997. Distribuição, reactividade e transporte do mercúrio na Ria de Aveiro. Tese de Doutoramento, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 284 pp.
- Pereira M.E., Abreu S.N., Coelho J.P., Lopes C.B., Pardal M.A., Vale C., & Duarte A.C., 2006. Seasonal fluctuations of tissue mercury contents in the european shore crab *Carcinus maenas* from low and high contamination areas (Ria de Aveiro, Portugal). *Marine Pollution Bulletin*, 52: 1450-1457.
- Pereira M.E., Abreu S.N., Coelho J.P., Pato P., Pardal M.A., & Duarte A.C., 2008. Influence of tidal resuspension on seston lithogenic and biogenic partitioning in shallow estuarine systems: Implications for sampling. *Marine Pollution Bulletin*, 56(2): 348-354.
- Pereira M.E., Duarte A.C, Millward G.E. & Abreu S.N., 1998a. Tidal export of particulate mercury from the most contaminated area of Aveiro's Lagoon, Portugal. *The Science of the Total Environment*, 213: 157-163.
- Pereira M.E., Duarte A.C, Millward G.E., Abreu S.N. & Vale C., 1998b. An estimation of industrial mercury stored in sediments of a confined area of the lagoon of Aveiro (Portugal). *Water Science and Technology*, 37 (6-7): 125-130.
- Pereira M.E., Duarte A.C. & Millward G.E, 1995. Seasonal variability in mercury inputs into the Ria de Aveiro, Portugal. *Neth. J. Aquatic Ecology*, 29 (3-4): 291-296.
- Pereira M.E., Duarte A.C., Millward G.E, Abreu S.N. & Reis M.C., 1997. Distribution of mercury and other heavy metals in the Ria de Aveiro. *Quimica Analitica*, 16 [Suppl1]: S31-S35.
- Pereira, M. E., Abreu S., Pato P., Coelho J.P., Azeiteiro U.M. Pardal M.A., & Duarte A.C., 2007. Seasonal mercury concentrations in plankton-net material from a contaminated coastal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Fresenius Environmental Bulletin*, 16: 1442 –1450.
- Picton B.E. & Morrow C.C., 2005. [in] *Enciclopedia of Marine Life of Britain and Ireland*, <http://www.habitas.org.uk/marinelife/species.asp>.
- Pombo L., Borges R., Rebelo J.E., Duarte A.C., & Bóia C., 2000. Níveis de mercúrio no músculo de peixes (especialmente robalo, *Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) capturados no meio

- natural e em pisciculturas da Ria de Aveiro. In: A. Duarte, C. Vale & R. Prego [eds], Estudos de bioquímica na Zona Costeira Ibérica, Universidade de Aveiro, 251-259.
- Post J.R., Vandenbos R. & McQueen D.J., 1996. Uptake of food-chain and waterborne mercury by fish: field measurements, a mechanistic model, and an assessment of uncertainties. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, 52: 395-407.
- Quevauviller Ph., 1996. CRMs for quality control of determinations of chemical forms of elements in support to EU legislation. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 354: 515-520.
- Quintaneiro C., Querido D., Monteiro M., Morgado F., Soares A.M.V.M. & Guilhermino L., 2005. Characterization of the cholinesterases present in head tissues of the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: application to biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62: 341-347.
- Ramalhosa E., Pato P., Monterroso P., Pereira E., Vale C., Duarte A.C., 2006. Accumulation versus remobilization of mercury in sediments of a contaminated lagoon. *Marine Pollution Bulletin*, 52: 353-356.
- Ramalhosa E., 2002. Mercúrio na Ria de Aveiro: associações, reactividade e especiação. Tese de Doutoramento, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 353 pp.
- Ramalhosa E., Monterroso P., Abreu S.N., Pereira E., Vale C. & Duarte A.C., 2001. Storage and export of mercury from a contaminated bay (Ria de Aveiro, Portugal). *Wetlands Ecology and Management*, 9: 311-316.
- Rebelo, J.E., 1993. A Ictiofauna da Ria de Aveiro e o período lagunar do ciclo de vida do robalo, *Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758. Tese de doutoramento, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, 180 pp.
- Reis A., 1993. Ria de Aveiro, Memórias da Natureza, Câmara Municipal de Ovar, 137 pp.
- Reynoldson T.B., 1987. Interactions between sediment contaminants and benthic organisms. *Hydrobiologia* 149: 53-66.
- Ridgway J. & Shimmield G., 2002. Estuaries as repositories of historical contamination and their impact on Shelf Seas. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 55: 903-928.
- Riisgard H.U. & Hansen S., 1990. Biomagnification of mercury in a marine grazing food-chain: algal cells *Phaeodactylum tricorutum*, mussels *Mytilus edulis* and flounders *Platichthys flesus* studied by means of a stepwise-reduction-CVAA method. *Marine Ecology Progress Series*, 62: 259-270.
- Sager D.R., 2002. Long-term variation in mercury concentrations in estuarine organisms with changes in releases into Lavaca Bay, Texas. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 807-815.

- Sanders J.G. & Riedle G.F., 1998. Metal accumulation and impacts in plankton. *In*: W.L. Langston & M.J. Bebianno [eds], *Metal Metabolism in Aquatic Environment*, Chapman & Hall, London, 59-76.
- Satake K., Tanaka A., Kimura K., 1996. Accumulation of lead in tree trunk bark pockets as pollution time capsules. *Sci Tot Environ* 181: 25-30
- Silva J.J.F., 1994. Circulação de água na Ria de Aveiro: contribuição para o estudo da qualidade da água. Tese de Doutoramento, Departamento de Ambiente e Ordenamento, Universidade de Aveiro, 158 pp.
- Smith K.T., 2003. Dendrochemistry of base cations in red spruce: the fallacy of the passive recorder, *Eos. Trans. AGU*, 84(46) Fall Meet. Suppl., Abstract B12F-04.
- Souto A., 1923. Origens da Ria de Aveiro (Apontamentos sobre a geografia da Beira-Litoral). Minerva Central, Aveiro, 166 pp.
- Spencer K.L., 2002. Spatial variability of metals in the inter-tidal sediments of the Medway Estuary, Kent, UK. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 933-944.
- Steinnes E., 1995. Mercury. *In*: B.J. Alloway [ed], *Heavy metals in soil*, Blackie academic & professional, London, 245-259.
- Tommasini S., Davies G.R., Elliott T., 2000. Lead isotope composition of tree rings as biogeochemical tracers of heavy metal pollution: a reconnaissance from Firenze, Italy. *App Geoch.* 15: 891-900.
- Turoczy N.J., Mitchell B.D., Levings A.H. & Ranjendram V.S., 2001. Cadmium, copper, mercury, and zinc concentrations in tissues of the king crab (*Pseudocarcinus gigas*) from southeast Australian waters. *Environment International* 27: 327-334.
- Ullrich S.M., Tanton T.W. & Abdrashitova S.A., 2001. Mercury in Aquatic Environment: A review of factors affecting methylation. *Environmental Science and Technology*, 31(3): 241-293.
- Vale C. & Sundby B., 1998. The interactions between living organisms and metals in intertidal and subtidal sediments. *In*: W.L. Langston & M.J. Bebianno [eds], *Metal Metabolism in Aquatic Environment*, Chapman & Hall, London, 20-29.
- Válega M., 2002. Efeitos das plantas na acumulação de mercúrio em sedimentos de sapais. Tese de Mestrado, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 155 pp.
- Watmough S.A., 1997. An evaluation of the use of dendrochemical analyses in environmental monitoring. *Environ. Rev./Dossiers environ*, 5(3-4): 181-201.

- Watras C.J., Back R.C., Halvorsen S., Hudson R.J.M., Morrison K.A. & Wente S.P., 1998. Bioaccumulation of mercury in pelagic freshwater food webs. *The Science of the Total Environment*, 219: 183-208.
- Watras C.J. & Bloom N.S., 1992. Mercury and methylmercury in individual zooplankton: Implications for bioaccumulation. *Limnol. Oceanog.*, 37 (6): 1313-1318.
- Watras C.J., Morrison K.A. & Back R.C., 1996. Mass balance studies of mercury and methylmercury in small temperate/boreal lakes of the Northern Hemisphere. In: W. Baeyens, R. Ebinghaus & O. Vasiliev [eds], Global and regional mercury cycles: sources, fluxes and mass balances, Kluwer Academic Publishers, 329-358.
- Wiener J.G. & Spry J.S., 1996. Toxicological significance of mercury in fresh water fish. In: W.N. Beyer, G.H. Heinz & A.W. Redmon-Norwood [eds], Environmental Contaminants in Wildlife - interpreting tissue concentrations, CRC Press.
- Wiener J.G. & Stokes P. M., 1990. Enhanced bioaccumulation of mercury, cadmium and lead in low-alkalinity waters: an emerging regional environmental problem. *Environ. Toxicol. Chem.* 9: 821-823.
- Wiener J.G., Krabbenhoft D.P, Heinz G.H. & Scheuhammer A.M., 2003. Ecotoxicology of mercury. In: D.J. Hoffman, B.A. Rattner, G.A. Burton Jr. & J. Cairns Jr. [eds], Handbook of Ecotoxicology, Lewis publishers, London, 409-463.
- Wihlborg P. & Danielson A., 2006. Half a century of mercury contamination in lake Vänern (Sweden). *Water Air Soil Pollut.*, 170: 285-300.
- William H.C., 1991. Community Responses of stream organisms to heavy metals: a review of observational and experimental Approaches. In: M.C. Newman & A.W. McIntosh [eds], Metal Ecotoxicology. Concepts & Applications, Lewis Publishers, Michigan, 363-391.
- Williams D.D. & Williams N.E., 1998. Seasonal variation, export dynamics and consumption of freshwater invertebrates in an estuarine environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 46: 393-410.
- Witte k.M., Wanty R.B., Ridley W.I., 2004. Engelmann Spruce (*Picea engelmannii*) as a biological monitor of changes in soil metal loading related to past mining activity. *App. Geoch.*, 19: 1367-1376.
- World Health Organization (WHO), 1990. Methylmercury Environment health criteria 101. IPCS, International Programme on Chemical Safety. Geneva, 144 pp.
- World Health Organization (WHO), 1996. Trace elements in human nutrition and health. Geneva, 343 pp.

Yarime M., 2003. From end-of-pipe technology to clean technology: effects of environmental regulation on technological change in the chlor-alkali industry in Japan and Western Europe. PhD thesis, University of Maastricht.

